

République Algérienne Démocratique et Populaire

*Ministère de l'Enseignement supérieur
et de la Recherche Scientifique*

Université BLIDA I -

Faculté Des Sciences De La Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire de fin d'étude

en vue l'obtention du diplôme de *Master II*

Option : Génie biologique

Thème :

**INTERET DE L'EVALUATION DE LA
PEROXYDATION LIPIDIQUE CHEZ LE
DIABETIQUE DE TYPE 1**

Soutenu le 03/07/2014 à : 10h

Présenté par :

➤ AMIROUCHE Ilyes

Devant le jury composé de :

Mme SAADI L.	MCA	UBI	Présidente
Mme SOUR S.	MAA	UBI	Examinatrice
Mme BIREM Z.	MAA	UBI	Examinatrice
Mme EDDAIKRA A.	MAA	UBI	Promotrice

Promotion : 2012/2013

REMERCIEMENTS
Au terme de ce travail

Je remercie en premier lieu, **Dieu** le Tout Puissant, de m'avoir illuminé et ouvert les portes du savoir et de nous avoir donné le courage et la volonté pour bien mener ce travail.

En second lieu, je tiens à remercier vivement notre promotrice **M^{me} EDDAIKRA**, qui a bien voulu par son aimable bienveillance diriger ce travail. Nous voudrions également lui témoigner notre profonde gratitude pour sa patience et son soutien.

Je remercie **M^{me} SAADI** d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance.

Je remercie **M^{me} BEREM** et **M^{me} SOUR** d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je tiens à adresser mes vifs remerciements à **M^{me} ABD ELLEH EL- HADJ** et à tout le personnel de l'Etablissement Public Hospitalier **EPH Blida**

Je remercie également **Mr MAACH**, chef du service de laboratoire de la polyclinique de **BOUGARA**, le groupe de laboratoire et tous les patients pour leur confiance.

Je remercie tous les enseignants ainsi que tout le personnel du Département de biologie.



Dédicaces

*Je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui me sont
Chères et particulièrement :*

*À mes merveilleux parents que j'adore à qui je dois tout et qui je suis et serai fière,
très chère maman **OMARI MLIKA.** , qui m'a donné la vie et m'a aidée grâce à son
soutien total et très cher papa **BACHIR.** , qui m'a aidé et qui a déployé tous les
moyens possibles pour ma réussite.*

*À ma chère sœur **Faiza.Rosa.** et mes belles sœurs
Khadidja et Karima.*

*A mes frères **Fouad, Salim, Amin,** et **Omar** pour leurs soutiens moraux et
matériels.*

*A mes chères nièces **Doua, Oumaima, Hiba** et mes chères novons **Mohamed**
et **Anis***

*A mes chères amies **Salima, Fatima, Hamida, Mounira**
et **Soumaya***

A mes tantes, à mes oncles, à mes cousines, et mes cousins.

A tous mes amis.

A. /Lyes

LISTE DES TABLEAUX

N° de tableau	Titre de tableau	N° de page
Tableau I	Risque de survenue de diabète de type 1 en fonction des prédispositions	04
Tableau II	principales espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (NOS) produite par le métabolisme tissulaire et cellulaire	11
Tableau III	Le nombre de patients diabétiques et de témoins recrutés.....	21
Tableau IV	Caractéristiques cliniques et épidémiologique de la population de l'étude	37
Tableau V	Evaluation de la concentration du MDA	40
Tableau VI	Evaluation du statut glycémique chez les DT1 et les témoins	42
Tableau VII	Evaluation du statut lipidique chez les DT1 et les témoins	44
Tableau VIII	Evaluation du statut de la fonction rénal chez les DT1 et les témoins.....	46
Tableau IX	Evaluation du statut de la fonction hépatique chez les DT1 et les témoins	48

LISTE DES FIGURES

N° de figure	Titre de figure	N° Page
Figure 1 :	La prévalence mondiale du diabète en 2012.....	01
Figure 2:	Phase effectrice de la réponse immune au cours du DT1	05
Figure 3:	Phases successives du déroulement du diabète de type 1	06
Figure 4:	Principales complications à long terme du diabète	07
Figure 5:	Schéma de la molécule d'insuline	08
Figure 6:	Synthèse d'insuline et transport intracellulaire.	09
Figure 7:	Représentation simplifiée de la structure secondaire du récepteur de l'insuline	10
Figure 8:	Les voies de signalisation de l'insuline	10
Figure 9:	Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule	12
Figure 10:	la peroxydation non enzymatique	14
Figure 11:	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	15
Figure 12:	Voie des polyols en conditions d'hyperglycémie	17
Figure 13:	Première étape de la glycation d'une protéine par le D-glucose	18
Figure 14:	Réarrangement d'Amadori	18
Figure 15:	Réaction de Maillard conduisant à la formation des produits de glycation avancés.	19
Figure 16:	Formation d'adduit-TBA	35

Figure 17: Evaluation évaluation de la peroxydation lipidique chez les diabétiques detype1 et les témoins	40
Figure 18: Evaluation évaluation statut glycémique chez les diabétiques detype1 et les témoins	42
Figure 19: Evaluation évaluation du statut lipidique chez les diabétiques detype1 et les témoins	44
Figure 20: Evaluation évaluation de la fonction rénale chez les diabétiques de type1 et les témoins.	46
Figure 21: Evaluation évaluation de la fonction hépatique chez les diabétiques detype1 et les témoins	48

LISTE DES ABREVIATIONS

- ADA** : American Diabetes Association
- ADN** : Acide DésoxyriboNucléique
- AGE** : Advanced Glycation End-products
- AGL** : Acide Gras Libre
- ALAT (GPT)**: Alanine Amino Transférase
- ASAT (GOT)**: Aspartate Amino Transférase
- ATP** : Adénosine Triphosphate
- CE** : Cholestérol Estérase
- CHOD** : Cholestérol Oxydase
- CPA** : Cellule Présentatrice d'Antigène
- CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
- CML** : CarboxyMéthylLysine
- CT** : Cholestérol Totale
- Da** : Dalton
- DAG** : DiAcyl Glycérol
- DT1** : Diabète type 1
- EDTA** : Ethylène Diamine Tétra Acétique
- ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ERO	:	Espèces Réactif d'Oxygène
ET-1	:	Endothéline-1
GAD	:	Glutamate Acide Décarboxylase
GADA	:	Autoanticorps anti Décarboxylase d'Acide Glutamique
GK	:	Glycérol kinase
GOD	:	Glucose Oxydase
GPO	:	Glycérol-Phosphate-Oxydase
HbA1c	:	Hémoglobine glyquée ou glycosylé
HDLc	:	High density lipoprotein cholesterol
HGPO	:	Hyperglycémie Provoquée par voie Orale
HLA	:	Human Leukocyte Antigen
HTA	:	Hypertension Artérielle
IAA	:	Autoanticorps antiinsuline et proinsuline
IA2A	:	Autoanticorps antityrosine phosphatase
ICA	:	Islet Cell Antibody (Autoanticorps anti-cellules des ilots de langerhans)
IFN	:	Interféron
IMC	:	Indice de Masse Corporelle
INSA	:	Institut National des Sciences Appliquées
INSP	:	Institut National de Santé Publique
IRS	:	Insulin Receptor Substrat
LADA	:	Latent Autoimmune Diabetes in Adults
LDL	:	Low Density Lipoprotein
LDLc	:	Low Density Lipoprotein cholesterol
LPL	:	Lipoprotéine-lipase
MDA	:	Malon Di Aldéhyde

MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NAD: Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NO: Monoxyde d'azote

NOS : Monoxyde d'azote Speces

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONS : Office National des Statistiques

PM : Poids Moléculaire

PAD : Pression Artériel Diastolique

PAS : Pression Artériel Systolique

PI3-K : Phosphatidyl Inositol 3-Kinase

PKB : Protéine kinase B

PUFA : Poly Unsaturated Fati Acide

RAGE: Advanced Glycation End products Receptor

ROS : Réactif Oxygen Speaces (espèces réactif d'oxygène)

RTK : Récepteurs à Tyrosine Kinase

TBARS : Acides Thio Barbiturique Réactif Speces

Résumé

Cette présente étude a été réalisée, afin d'estimer la peroxydation lipidique chez le diabétique de type 1 et d'étudier sa relation avec les troubles du métabolisme glycémique et lipidique. La peroxydation lipidique est évaluée par l'un des marqueurs du stress oxydant : le Malondialdéhyde.

Notre étude a été menée sur 89 patients dont 44 cas de patients atteints du diabète de type 1 (70% femmes, 30% hommes) recrutés à l'établissement public hospitalier de BLIDA et 45 témoins sains recrutés au laboratoire de l'établissement public de santé de proximité de BOUGARA.

Nos résultats montrent que le diabète de type 1 survient chez l'individu jeune ($36,54 \pm 1,97$) ans avec une prédominance féminine. La concentration du malondialdéhyde est hautement significative par rapport aux témoins $2,8 \pm 0,27$ ($\mu\text{mol/l}$) vs $0,63 \pm 0,02$ ($\mu\text{mol/l}$) [$p < 0,0001$]. L'hyperglycémie élevée et le taux remarquable de hémoglobine glyquée (>6%) reflète le déséquilibre du métabolisme glycémique ce qui augmente l'état de stress cellulaire et tissulaire. En revanche, Le caractère insulino-prive du diabète est confirmé par les valeurs moyennes du peptide C et l'insuline

L'analyse de régression du malondialdéhyde a montré une corrélation faiblement positive avec la glycémie à jeun ($r = +0,135$, $\alpha < 0,05$) chez les diabétiques alors que chez témoins elle se trouve fortement négative ($r = -0,005$, $\alpha < 0,05$), une corrélation négative avec l'hémoglobine glyquée ($r = -0,312$, $\alpha < 0,05$), et une corrélation négative avec le Cholestérol est ($r = -0,368$, $\alpha < 0,05$).

L'équilibre glycémique semble influencer le malondialdéhyde dans le plasma en augmentant la production des radicaux libres. Ce phénomène s'est produit probablement en raison de la glycosylation accrue et l'agrégation des plaquettes ou en raison de la détérioration des systèmes protectifs cellulaires antioxydants.

Mots clés : diabète type 1, malondialdéhyde, hyperglycémie, peroxydation lipidique, peptide C, radicaux libres, hémoglobine glyquée.

ABSTRACT

The present study was conducted to estimate the lipid peroxidation in type 1 diabetic and study its relationship with disorders of glucose and lipid metabolism. Lipid peroxidation was evaluated by one of the markers of oxidative stress: malondialdehyde.

Our study was conducted on 89 patients with 44 cases of patients with type 1 diabetes (70% women, 30% men) recruited from public hospital of BLIDA and 45 healthy controls recruited in the laboratory of the public institution of health proximity BOUGARA.

Our results show that type 1 diabetes occurs in young individuals (36.54 ± 1.97) years with a female predominance. Concentration of malondialdehyde is highly significant compared to controls 2.8 ± 0.27 (mmol / l) vs 0.63 ± 0.02 (mmol / l) [$p < 0.0001$]. The remarkable high hyperglycemia and glycated hemoglobin levels ($> 6\%$) reflects the imbalance of glucose metabolism which increases the state of tissue and cellular stress. In contrast, the character insulinoprive diabetes is confirmed by the mean values of C-peptide and insulin.

Regression analysis of malondialdehyde showed a weak positive correlation with fasting glucose ($r = 0.135$, $\alpha < 0.05$) in diabetic patients, whereas in controls it is strongly negative ($r = -0.005$, $\alpha < 0.05$), negatively correlated with glycated hemoglobin ($r = -0.312$, $\alpha < 0.05$). And a negative correlation with cholesterol is ($r = -0.368$, $\alpha < 0.05$).

The glycaemic seem to influence the malondialdehyde in plasma increase the production of free radicals. This phenomenon occurred probably due to increased glycosylation and aggregation of platelets or due to deterioration of cellular antioxidants Protective systems.

Keywords: type 1 diabete, malondialdehyde, hyperglycemia, lipid peroxidation, C-peptide, free radicals, glycated hemoglobin.

ملخص

أجريت هذه الدراسة لتقدير نسبة بيروكسيد الدهون عند مرضى السكري النوع 1 ودراسة علاقتها مع اضطرابات تركيز نسبة الجلوكوز في الدم واستقلاب الشحوم. تم تقييم بيروكسيد الدهون من خلال قياس نسبة واحدة من علامات الاكسدة:المالون ثنائي الالدهيد.

وقد أجريت الدراسة على 89 شخص لدينا مع 44 حالة من المرضى الذين يعانون من داء السكري من النوع 1 (70% من النساء، و 30% للرجال) الذين تم استقبالهم لإجراء الفحص على مستوى المستشفى العام البليدة و 45 حالة لا تعاني من أي مرض التي تم استقبالها على مستوى مختبر المؤسسة العمومية للصحة الجوارية لبوقرة.

نتائجنا تظهر أن مرض السكري نوع 1 منتشر عند فئة الشباب (1.97 ± 36.54) سنة مع ارتفاع نسبته عند الإناث. التركيز مهم للغاية مقارنة مع مجموعة الشهود 0.27 ± 2.8 (ملي مول / لتر) مقابل 0.02 ± 0.63 (ملي مول / لتر) [p < 0.0001]. ارتفاع نسبة السكر في الدم وارتفاع ملحوظ في مستويات الهيموجلوبين السكري (< 6%) يعكس خلل في أيض الجلوكوز مما يزيد من حالة توتر الأنسجة الخلوية. في المقابل، الطابع السكري insulinoprive أكد من متوسط قيم البيبتيد-C والأنسولين.

وأظهر تحليل الانحدار من المالون ثنائي الالدهيد علاقة إيجابية ضعيفة مع نسبة سكر الصائم ($r = 0.135$ ، $\alpha < 0.05$) في مرضى السكري، في حين أنه من الضوابط السلبية بقوة ($r = -0.005$ ، $\alpha < 0.05$)، يرتبط سلبا مع الهيموجلوبين السكري ($r = -0.312$ ، $\alpha < 0.05$). وجود علاقة سلبية مع الكوليسترول هو ($r = -0.368$ ، $\alpha < 0.05$).

توازن نسبة السكر في الدم له تأثير على نسبة المالون ثنائي الالدهيد في البلازما بزيادة إنتاج الجذور الحرة. هذه الظاهرة حدثت على الأرجح نتيجة للزيادة في الغليكوزيل وتراكم الصفائح الدموية أو بسبب تدهور المواد نظم الحماية المضادة للاكسدة الخلوية.

كلمات المفتاح: مرض السكري من النوع 1، المالون ثنائي الالدهيد، ارتفاع السكر في الدم، بيروكسيد الدهون، البيبتيد-C، والجذور الحرة، الهيموجلوبين السكري

Sommaire

INTRODUCTION.....	01
--------------------------	-----------

Chapitre I: Rappels bibliographiques

I.1- Diabète.....	02
I.1.1- Epidémiologie	02
I.1.2- Différents types de diabètes	03
I.1.3- Le diabète de type 1.....	04
I.1.4- Ethiopathologie du diabète de type 1.....	04
I.1.4.1- Terrain génétique de susceptibilité	04
I.1.4.2- Facteurs déclenchants	05
I.1.4.3- Déroulement de la réaction auto-immune	05
I.1.4.4- Histoire naturelle du diabète de type 1	07
I.1.5-Complication du diabète de type 1	07
I.1.5.1- Les complications aiguës	07
I.1.5.2- Les complications à long terme	08
I.1.6- Hémostase de la glycémie et diabète	08
I.1.6.1- Insuline.....	08
I.1.6.2- Le récepteur de l'insuline	10
I.1.6.3- Les voies de signalisation intracellulaire.....	10
I.2- le stress oxydant	12
I.2.1-Qu'est-ce que le stress oxydatif ?	12

I.2.2-Qu'est-ce qu'un radical libre ?	12
I.2.3 – D'où est- ce que les radicaux libres viennent ?	13
I.2.4- Quels sont les moyens de défense de l'organisme pour lutter contre ces radicaux libres ?	13
I.2.5- Les conséquences du stress oxydant	14
I.2.5.1.1- La peroxydation lipidique	14
I.3- Diabète et stress oxydatif	18
I.3.1- La production de radicaux libres au cours du diabète	18
I.3.1.1- Auto-oxydation du glucose	18
I.3.1.2- Voie des polyols	19
I.3.1.3- Glycation et produits avancés de glycation	19
Chapitre II : matériel et méthodes	
II.1-Matériel.....	22
II.1.1- matériel biologique	22
II.1.2- Matériel non biologique	22
II.2- Méthodes.....	22
II.2.1- Mesures des paramètres hémodynamiques	24
II.2.2- Paramètre anthropométriques	24
II.2.3- paramètres étudiés	24
II.2.3.1- Paramètre biochimique	24
II.2.3.2-Dosage du MDA	34
II.2.4- Analyse statistique	37
Chapitre III- Résultats et discussion.....	38
CONCLUSION.....	51

Introduction

INTRODUCTION

Le diabète de type 1 est la conséquence de la destruction progressive des cellules bêta des îlots de Langerhans par un processus auto-immune, caractérisé par une hyperglycémie. Cette dernière induit la surproduction des espèces réactives d'oxygène. Cet état physiologique, conduit à une augmentation des marqueurs du stress oxydant, comme les marqueurs de la peroxydation lipidique (**MARITIM et al., 2003**).

La peroxydation lipidique consiste en la modification oxydative des lipides. Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy (**FAVIER, 2003**).

Les principaux marqueurs de la peroxydation lipidique sont les substances réagissantes aux acide thiobarbiturique, les diènes conjugués, les hydroperoxydes lipidiques et les isoprostanes (**COLAS, 2010**). Il a été montré que la peroxydation lipidique induit une perturbation des structures, une altération de l'intégrité, de la fluidité et de la perméabilité et une perte fonctionnelle des membranes. Elle modifie les LDL pour les rendre proathérogènes et proinflammatoires et enfin, elle génère des produits potentiellement toxiques, mutagènes et carcinogènes (**NIKI, 2009**).

Le cadre de notre travail vise essentiellement à estimer le taux de la peroxydation lipidique par le dosage du malonaldéhyde (MDA) chez le diabétique de type 1 et de chercher des corrélations entre les taux de la peroxydation et de quelques paramètres métaboliques (glycémie, Hémoglobine glyquée, bilan lipidique) possibles chez une population atteinte de diabète de type 1 comparés à des sujets non diabétiques (témoins).

Pour cela, nous allons dans un premier temps étudier le diabète et ses conséquences physiologiques.

Dans un second temps, nous allons étudier la peroxydation lipidique et enfin nous finaliserons en étudiant le lien entre la peroxydation lipidique et le diabète.

Rappels

bibliographiques

I.1- Le diabète

I.1.1- Epidémiologie

Le diabète est une maladie mondialement répandue, dont la prévalence est importante. (CHEVENNE et FONFRREDE, 2001). L'organisation mondiale de la santé (OMS, 2010) a estimé, en 2012, 347 millions le nombre de diabétiques dans le monde dont 90% de diabète type 2 et 10% de diabète de type 1. Le diabète est considéré comme un véritable problème de santé publique (ROBINSON, 2007). Le diabète touche le monde entier mais il est plus fréquent dans les pays développés (ARBOUCHE LEZOUL, 2007) (Figure 1).

En Algérie ; avec une population estimée en 2007 à 33,8 millions d'habitants, Le nombre des diabétiques est passé d'un million de personnes en 1993, à plus de 3 millions en 2007, soit 10% de la population en 2010 dont 300 000 insulino-dépendants. (OMS, 2007).

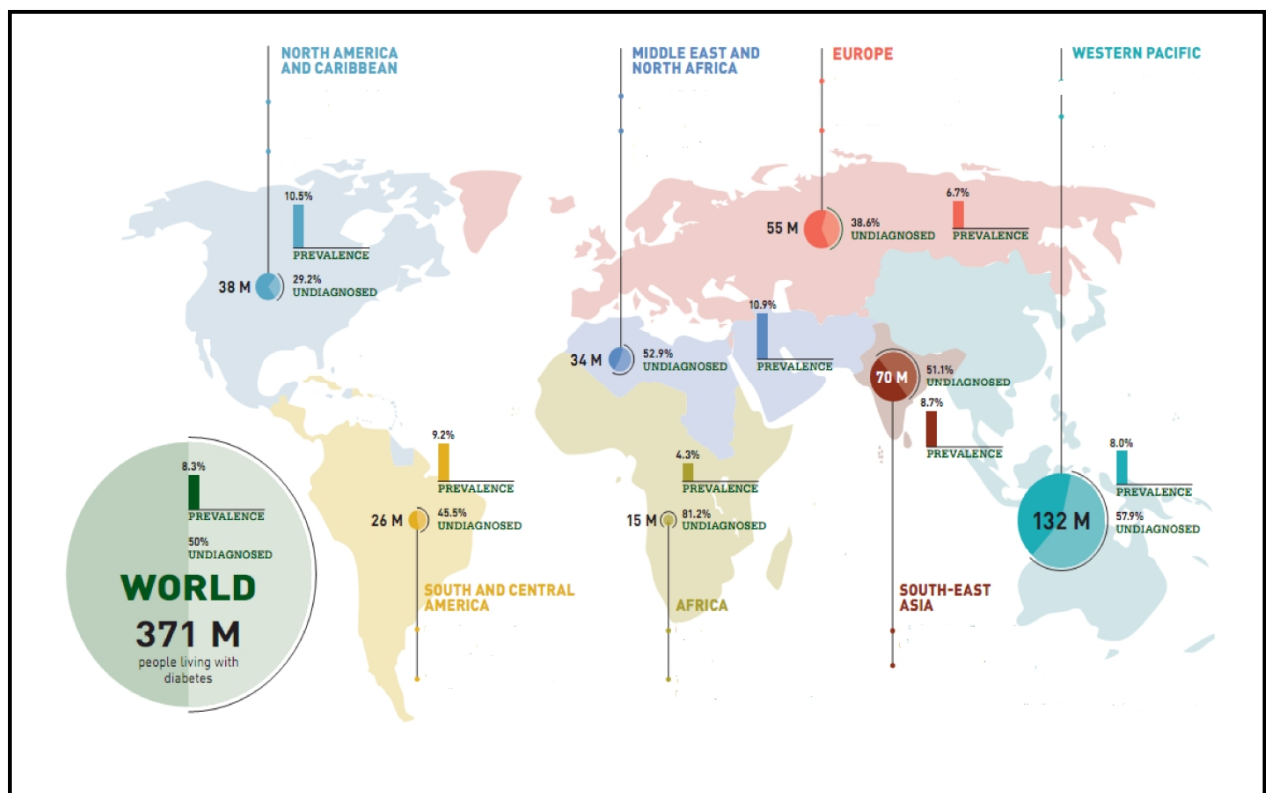


Figure 1: La prévalence mondiale du diabète en 2012 (BAALBAKI, 2013) modifiée

I.1.1.2- Prévalence du diabète de type 1

L'OMS a estimé la prévalence mondiale du diabète 18,1 millions en 2000 et 23,7 millions en 2010 pour le diabète de type 1. Le DT1 constitue environ 10 % des cas de diabète. Il peut survenir à n'importe quel âge, avec une incidence maximale entre 10 et 14 ans. (GEENEN *et al*, 2005). On ne trouve pas de différence significative sur la prévalence du diabète de type 1 entre les 2 sexes (BAALBAKI, 2013). Des registres mondiaux (DIAMOND) et européens (EURODIAB) ont été mis en place afin d'étudier l'incidence du diabète en Europe et dans le monde (GREEN, 1992). Il résulte de ces registres que la prévalence du diabète de type 1 (DT1) varie d'un pays à un autre. (BAALBAKI, 2013).

I.1.2- Différents types de diabètes

Le diabète est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par la présence d'une hyperglycémie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline, ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit, ou l'association des deux (LEMOIL *et al*, 2011; FRERE, 2011; FALL, 2012). L'hyperglycémie, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins (DROUIN *et al*, 1990). Selon l'OMS, un patient est diagnostiqué diabétique dès lors qu'il présente deux glycémies à jeun supérieures à 1,26 g/l, qu'une glycémie sur plasma veineux deux heures après ingestion de 75g de glucose (test d'hyperglycémie provoquée par voie orale : HGPO) est supérieur ou égale à 2,00 g/l, ou encore qu'une mesure de l'hémoglobine glyquée est supérieure à 6,5 % (VICHOVA *et al*, 2009).

Le terme de diabète regroupe plusieurs maladies, ayant en commun l'hyperglycémie (GRIMALDI, 2012). La dernière classification des diabètes proposée par l'OMS en 1997 distingue quatre types de diabète : le diabète de type 1 (anciennement diabète insulino-dépendant), le diabète de type 2 (diabètes non insulino-dépendants), les « autres diabètes spécifiques » (ou diabètes secondaires) et le diabète gestationnel (GUILLAUSSAU, 1997).

I.1.3- Le diabète de type 1

Le diabète de type 1 résulte d'une insuffisance totale en insuline liée à la destruction des cellules sécrétrices d'insuline du pancréas (cellules endocrines β des îlots de Langerhans) par un processus auto-immun à médiation cellulaire (**TOURNANT et al, 1998; KAWASAKI et al, 2004**). Il se caractérise par un syndrome cardinal de début brutal associant polyuro-polydipsie (l'augmentation de la quantité d'eau bue par jour et l'augmentation de la quantité d'urines émise par jour), polyphagie (sensation excessive et insatiable de faim), amaigrissement et asthénie (**VALDIGUIE, 2000; GRIMALDI, 2009; GALTIER, 2010**). Il est associé à la présence d'auto-anticorps dirigés contre le pancréas, marqueurs du processus auto-immun (**BACH, 2003**). En l'absence de ces marqueurs, le diabète est dit de type 1 « idiopathique » (**DUBOIS-LAFORGUE, 2007**). Le diabète de type 1 s'inscrit dans la catégorie des maladies dites auto-immune. (**OLIVIER et CHRISTOPHE, 2007**)

I.1.4- Ethio-pathologie du diabète de type 1

La réaction auto-immune survient sur un terrain de susceptibilité génétique à la suite des facteurs déclenchants et peut être dépistée avant l'apparition de l'hyperglycémie par des dosages sanguins d'auto-anticorps (**GRIMALDI, 2000; RODIER, 2001**).

I.4.1.1- Terrain génétique de susceptibilité

Le diabète de type 1 représente une maladie hétérogène, se développe sur un terrain génétique particulier : il s'agit d'une susceptibilité plurigénique avec au moins 10 gènes en cause. Ce caractère héréditaire se traduit par un risque accru de la maladie chez les apparentés d'un sujet diabétique de type 1 (**EISENBARTH, 1994**). Le risque pour une mère diabétique insulino-dépendante d'avoir un enfant diabétique est environ 2 % alors que le risque est de 4 à 5 % lorsque c'est le père qui est diabétique insulino-dépendant. Les différents risques sont résumés dans le tableau I. (**GRIMALDI A., 2000; BAALBAKI, 2013**).

Le principal gène concerné se situe sur le chromosome 6 au niveau des gènes du système HLA de classe II avec un risque relatif de 3 à 5, lorsqu'il existe un antigène HLA DR3 ou DR4. Le risque relatif atteint 20 à 40 lorsque les deux antigènes DR3 et DR4 sont associés, ce qui veut dire que l'association DR3-DR4 est fréquente dans la population diabétique alors qu'elle est exceptionnelle dans la population non-diabétique.

Le second repère se situe dans la région du gène de l'insuline. Les autres régions demeurent inconnues (**DUBOIS-LAFORGE et TIMIS, 2000; TOM et al, 2011**).

Tableau I : Risque de survenue de diabète de type 1 en fonction des prédispositions

Risque de survenue d'un diabète de type 1	
Population générale	0.2 %
Personnes DR3 DR4 (1 % de la population générale)	7 %
Enfant de mère DT1	2-3 %
Enfant de père DT1	4-5 %
Frère ou sœur d'un DT1	5 %
Frère ou sœur d'un DT1, HLA différent	< 1 %
Frère ou sœur d'un DT1, HLA identique	15 %
Frère ou sœur d'un DT1, HLA semi-identique	7 %
Jumeau homozygote d'un DT1	30-40 %

(**GRIMALDI, 2000**)

I.1.4.2- Facteurs déclenchants

Des facteurs environnementaux tels que les infections virales sont probablement à l'origine du déclenchement du processus auto-immunitaire. Ces infections virales (cytomégalovirus, virus de la rubéole, virus Coxsackie) pourraient favoriser l'expression des auto-antigènes pancréatiques ou une activation lymphocytaire non spécifique au niveau pancréatique (**BOITARD et MALLONE, 2010**).

I.1.4.3- Déroulement de la réaction auto-immune

La destruction de la cellule β est essentiellement due à une infiltration des îlots par des lymphocytes T helper CD4 et des lymphocytes T cytotoxiques CD8 (**GRIMALDI, 2000**). La cellule présentatrice (APC) présente des peptides antigéniques au lymphocyte T CD4 (**Figure 2**). L'activation de ce dernier nécessite l'interaction spécifique entre son récepteur (TcR) et le complexe CMH II/peptide d'une part et entre des molécules coactivatrices (B7, CD28) d'autre part. Deux types d'activation sont ensuite possibles, selon les cytokines produites : la voie Th2 induit l'activation de lymphocytes B qui se différencient en cellules plasmocytaires qui produisent des anticorps (**BAALBAKI, 2013**).

La voie Th1, majoritaire dans le DT1, induit l'activation de lymphocytes CD8 cytotoxiques (DUBOIS-LAFORGUE, 2007). La libération dans l'environnement péri-cellulaire des protéines cytotoxiques (perforines) et des sérines estérases (granzymes). La perforine s'insère dans la membrane cellulaire cible et se polymérise, créant un pore. Cela facilite l'entrée de granzymes dans le cytosol dont la pénétration dans les cellules active des voies d'apoptose à l'action de cytokines cytotoxiques tumor necrosis factor (TNF α), interleukine (IL1) produites par les lymphocytes T CD8 et les macrophages, à la production d'oxyde nitrique (NO) par les macrophages et les cellules B elles-mêmes (DUBOIS-LAFORGUE, 2007; WONG *et al*, 2008).

Au cours de cette réaction sont produits 4 types d'auto-anticorps dirigés contre certains antigènes pancréatiques. Ces auto-anticorps sont des marqueurs fiables du déroulement du processus auto-immun pathologique (KNIP *et* SILJANDER, 2008).

Ces anticorps sont:

- Les anticorps anti-îlots (islet cell antibody: ICA)
- Les anticorps anti-GAD (glutamate acide décarboxylase). Ces anticorps sont dirigés contre une enzyme ubiquitaire mais qui est exprimée uniquement au niveau pancréatique.
- Les auto-anticorps anti-insuline, retrouvés surtout chez l'enfant
- L'anticorps anti-IA2 : c'est un anticorps dirigé contre une phosphatase membranaire des cellules β (KNIP *et* SILJANDER, 2008; HAMADI, 2010).

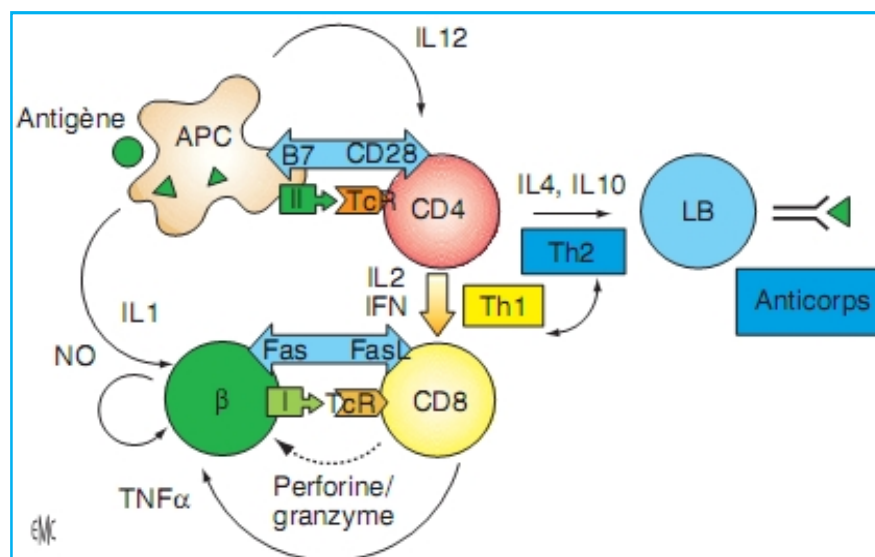
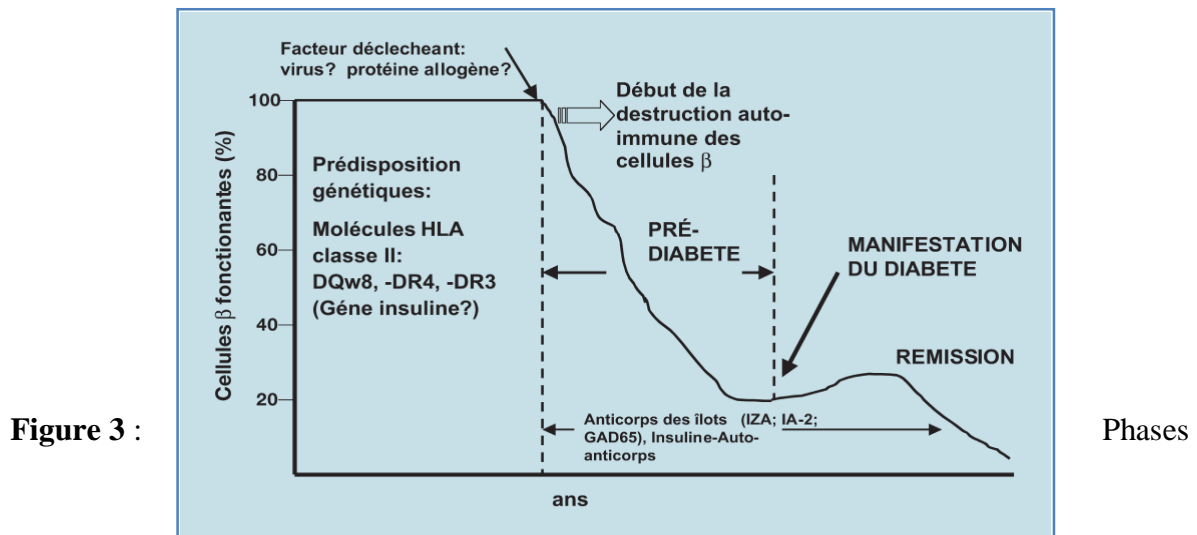


Figure 2: Phase effectrice de la réponse immunitaire au cours du diabète type 1 (DUBOIS-LAFORGUE, 2007)

I.1.4.4- Histoire naturelle du diabète de type 1

Débute avec la présence d'un terrain génétique favorisant (ATCD familiaux, groupage HLA). A ce stade, le processus conduisant à la maladie n'a pas encore débuté mais le risque de survenue du diabète est déjà présent. La seconde étape est caractérisée par le démarrage de la réaction auto-immune et la dégradation progressive de la capacité d'insulino-sécrétion. Cette phase est infra-clinique car la masse insulaire restante est capable de maintenir une glycémie normale. La troisième étape est marquée par l'hyperglycémie chronique et ses conséquences cliniques (**Figure 3**) (**EISENBARTH, 2002 ; BOUHOURS- NOUET et COUTANT, 2005**).



successives du déroulement du diabète de type 1

(**SPINAS et LEHMANN, 2001**)

I.1.5-Complication du diabète de type 1

I.1.5.1 Les complications aiguës

I.1.5.1.1- L'acidocétose diabétique

Malgré l'abondance du glucose dans le secteur sanguin, celui-ci ne peut quasiment plus rentrer dans les cellules qui sont privées de leur principale source d'énergie, et doivent donc trouver un substrat énergétique alternatif. Elles vont alors se tourner vers les acides gras libres et les acides aminés (**DEKKAR OTMANE, 2012**).

I.1.5.2. Les complications à long terme

Les épisodes hyperglycémiques engendrés par le diabète de type 1 s'accompagnent à long terme, de complications neurologiques, macrovasculaires et microvasculaires (Figure 4) (PERLEMUTER *et al*, 2003 ; FRERE, 2011).

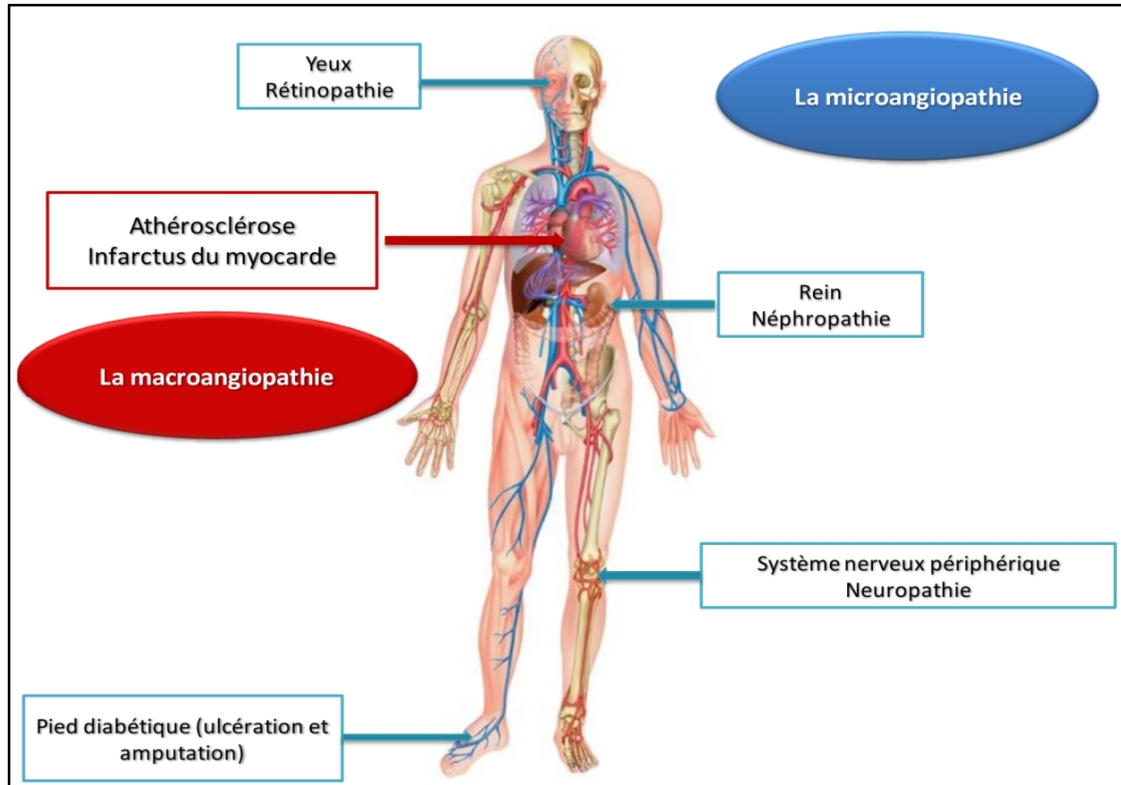


Figure 4: Principales complications à long terme du diabète (FID, 2011)

I.1.6- Hémostase de la glycémie et diabète

Un contrôle très étroit de l'homéostasie glucidique est assuré par les hormones, au 1^{er} rang desquelles figurent l'insuline et le glucagon exerçant des effets antagonistes sur les métabolismes étroitement inter-régulés des lipides et du glucose de façon à les adapter aux situations physiologiques : périodes post-absorptive et postprandiale, exercice musculaire, vieillissement (CAPEAU. et HERMELI, 1994; COLAS, 2010; FRERE., 2011).

I.1.6.1- Insuline

L'insuline est une hormone pancréatique, seule hormone hypoglycémiante de l'organisme, sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (RIANT, 2009). C'est un hétérodimère de PM 5800 Da, constitué de deux chaînes polypeptidiques, la chaîne A et la chaîne B, reliées entre elles par deux ponts disulfures. Un pont disulfure supplémentaire est présent à l'intérieur de la chaîne A (ANDREELI *et al*, 2006) (figure 5).

Elle stimule l'absorption du glucose sanguin par les tissus dits insulinodépendants (le foie, les muscles squelettiques et le tissu adipeux) et son stockage sous forme de glycogène (glycogénèse). Dans le foie, elle inhibe la production de glucose en agissant sur la néoglucogénèse et la glycogénolyse. Elle agit positivement sur la lipogénèse(KEBIECHE, 2009).

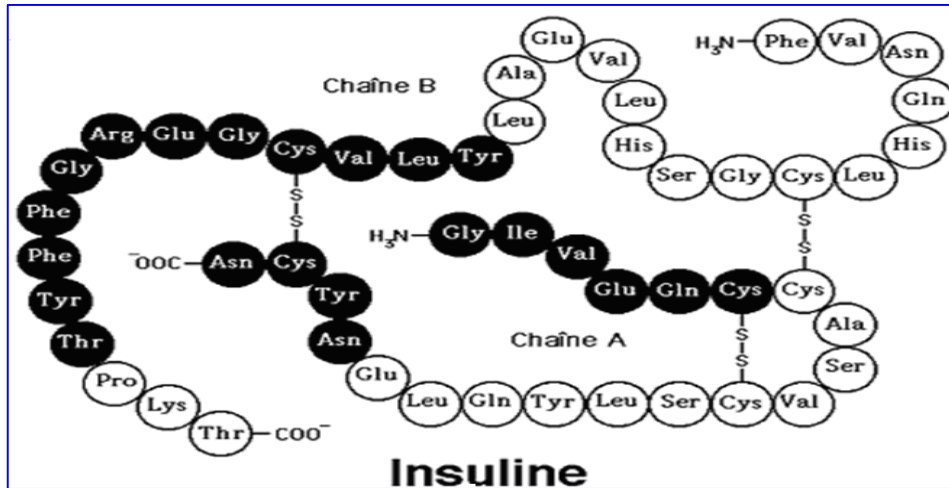


Figure 5 : Schéma de la molécule d'insuline (MALARDE, 2012)

I.1.6.1.1- Synthèse, stockage et Sécrétion de l'insuline

La cellule β des îlots de Langerhans du pancréas fabrique en premier la pré-proinsuline, qui est constituée de pro-insuline, allongée à l'extrémité aminée de la chaîne B par une séquence « signal » de PM 2500 qui dirige la chaîne peptidique vers le réticulum endoplasmique (**Figure 6**). La pro-insuline est formée dans le réticulum endoplasmique des cellules B par clivage du peptide signal et formation des ponts disulfures. Avec la participation de l'appareil de Golgi, il se forme des granules contenant l'insuline. Dans ces granules, l'insuline mature est formée par élimination du peptide C et conservée jusqu'à son excréation sous forme d'hexamère contenant du zinc (VALDIGUIE, 2000; BOUGLE. et ANNANE. 2009).

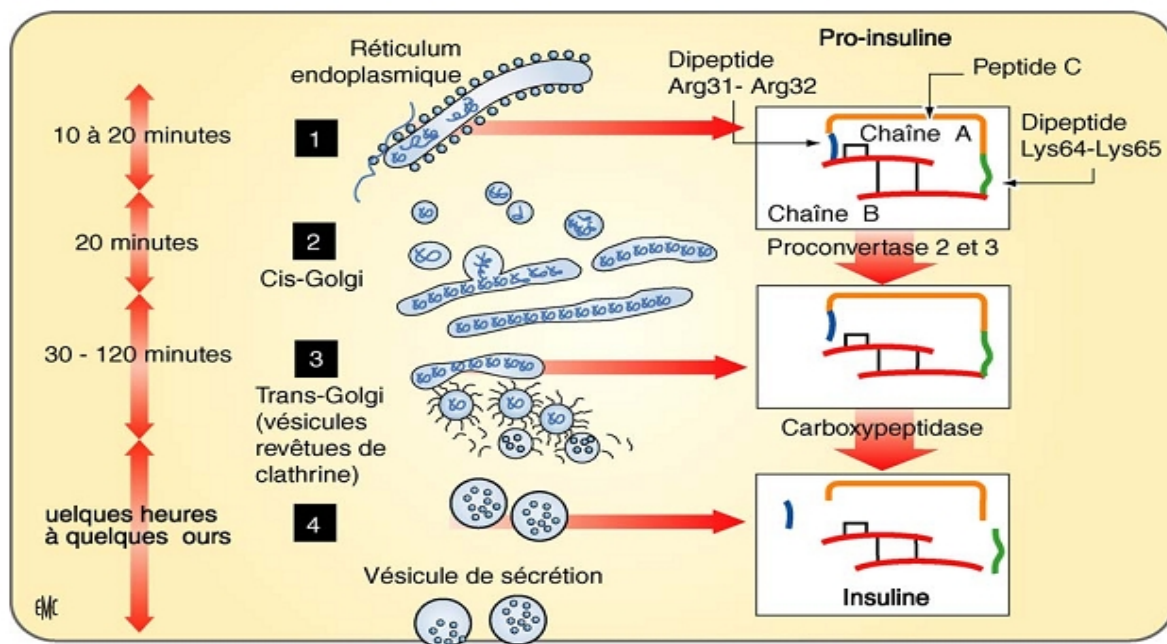


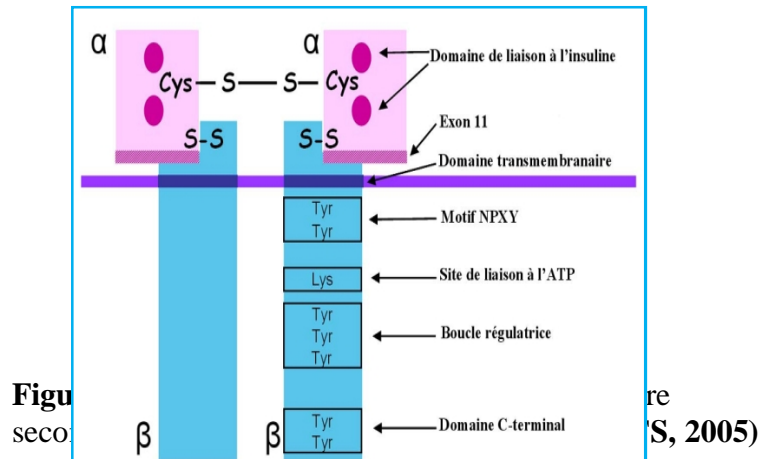
Figure 6 : Synthèse d'insuline et transport intracellulaire (MAGNAN et KTORZA, 2005)

I.1.6.1.2- Circulation, distribution et dégradation de l'insuline

Une fois sécrétée et libérée, l'insuline circule de façon libre, non liée de façon significative aux protéines plasmatiques. Sa demi-vie biologique est d'environ 10 minutes. L'essentiel de la dégradation de l'insuline (90 %) se fait au niveau du foie, le reste étant dégradé au niveau du rein (VALDIGUIE, 2000).

I.1.6.2- Le récepteur de l'insuline

Le récepteur de l'insuline appartient à la superfamille des récepteurs à tyrosine kinase (RTKs) (Figure 7). Dans sa configuration naturelle à l'état non activé, le récepteur de l'insuline se présente sous la forme d'un hétérodimère constitué de deux sous-unités β et de deux sous-unités α , liées de façon covalente par des ponts disulfures. La sous-unité α est entièrement extracellulaire et contient le site de liaison à l'hormone. La sous-unité β est transmembranaire et porte l'activité tyrosine-kinase (DE MEYTS, 2005). L'insuline agit sur ces tissus cibles en se liant sur la sous-unité (s/u) α de son récepteur « à activité tyrosine Kinase » ce qui permet l'autophosphorylation de la s/u β sur les résidus tyrosine (Tyr-P) (ANDREELI et al, 2006).



I.1.6.3- Les voies de signalisation intracellulaire

L'insuline active de nombreuses voies de signalisation intracellulaire **Figure 8**. La première cascade de signalisation, impliquant la voie de la PI-3 kinase, concerne essentiellement les effets métaboliques de l'hormone. La voie qui régule le métabolisme du glucose dans le muscle squelettique, le tissu adipeux blanc et le foie ; elle contrôle la production de NO et la vasodilatation au niveau des vaisseaux. L'autre voie, associée aux effets de l'insuline sur la croissance. La voie qui contrôle la croissance et la prolifération cellulaire (**RIANT, 2009**).

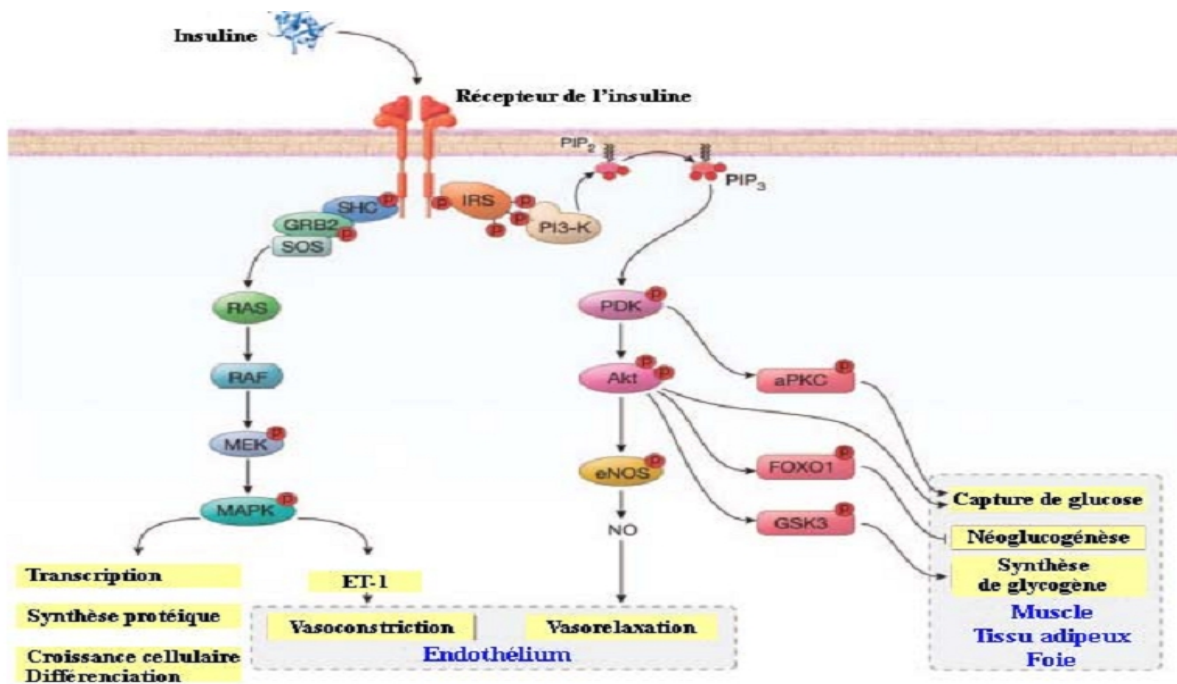


Figure 8 : Les voies de signalisation de l'insuline (**MUNIYAPPA et al. 2007**).

I.2- le stress oxydant

I.2.1. Qu'est-ce que le stress oxydatif ?

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants, ou espèce réactive d'oxygène (ROS: réactif oxygen species), et les molécules antioxydantes en faveur des oxydants (BAE et al,1997; WASSMANN et al, 2004). Le terme ROS fait référence à plusieurs types de métabolites réactifs à l'oxygène tels que les radicaux libres et d'autres non-radicalaires tel que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (EVE LAVOIE, 2012).

Dans le diabète, il a été observé à la fois une augmentation de la production des radicaux libres et une diminution des défenses antioxydantes, conduisant à une augmentation des marqueurs du stress oxydant, comme les marqueurs de la peroxydation lipidique (MARITIM et al, 2003).

I.1.2. Qu'est-ce qu'un radical libre ?

Un radical libre (RL) peut être défini comme toute espèce chimique capable d'une existence indépendante et contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataire (HAMADI, 2010). De ce fait, ils sont très instables et réagissent avec des molécules voisines en leur arrachant un électron et les transformant à leur tour en espèces radicalaires plus réactives (CARRERAS, 2004). Les radicaux libres sont ubiquitaires, et ont un temps de demi-vie très court (GOUDABLE et FAVIER, 1997). Les principales espèces radicalaires et non radicalaires connues sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau II : principales espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (NOS) produites par le métabolisme tissulaire et cellulaire

Espèces réactives de l'oxygène (ROS)	Espèces réactives de l'azote(NOS)
$^{\circ}\text{O}_2^-$: Anion superoxyde	$^{\circ}\text{NO}$: Oxyde nitrique
OH° : Radical hydroxyle	$^{\circ}\text{NO}_2$: Dioxyde d'azote
ROO° : Peroxyde	HNO_2 : Acide nitreux
RO° : Alcoxyle	ONOO^- : Peroxynitrite
H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène	ONOOH : Acide peroxynitrique
HOCl : Acide hypochloreux	ROONO : Alkyle peroxynitrite
$^1\text{O}_2$: Oxygène singulet	

(HUET, 2006)

I.1.3 – D'où est- ce que les radicaux libres viennent ?

Les ROS sont principalement formés lors de l'oxydation des lipides par le cycle de Krebs et lors de la chaîne de transport mitochondriale d'électrons qui a pour but de produire de l'énergie. Les radicaux libres sont formés suite à l'oxydation des glucides, la glycation non enzymatique des protéines et leur subséquente dégradation (**FAVIER .2003 ; EVE LAVOIE, 2012**). Alors que les espèces réactives du NO sont essentiellement produites par la NO synthase. Enfin une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition du stress oxydant (**PINCEMAIL et al, 2002**). Une production excessive de ROS endommage les lipides (peroxydation des lipides), les protéines et l'ADN compromettant les fonctions cellulaires (**YU, 1994**).

I.1.4- Quels sont les moyens de défense de l'organisme pour lutter contre ces radicaux libres ?

Compte tenu du caractère toxique de ces radicaux libres, l'organisme a mis en place des systèmes de défense (cellulaires, membranaires et extracellulaires) pour se protéger de leur attaque : ce sont les antioxydants (**Figure 9**) (**HALENG et al, 2007**). **Gutteridge (1993)** définit l'antioxydant comme toute substance capable à faible dose de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats. Les antioxydants cellulaires comprennent plusieurs enzymes dont les plus importantes sont les enzymes superoxyde dismutases (SOD), la glutathion peroxydase, la catalase et les peroxiredoxines. D'autres antioxydants comme la vitamine E a-tocophérol, le b-carotène et la coenzyme Q10 sont présents dans les membranes cellulaires et capables de piéger les radicaux libres (**WEI, 1998**). Parmi les antioxydants extracellulaires, les plus importants sont les protéines liant les ions métalliques. En effet, les ions libres fer et cuivre peuvent induire la production de radicaux libres toxiques en accélérant le processus de peroxydation des lipides et en catalysant la formation de radicaux hydroxyles (**RACCAH, 2004**).

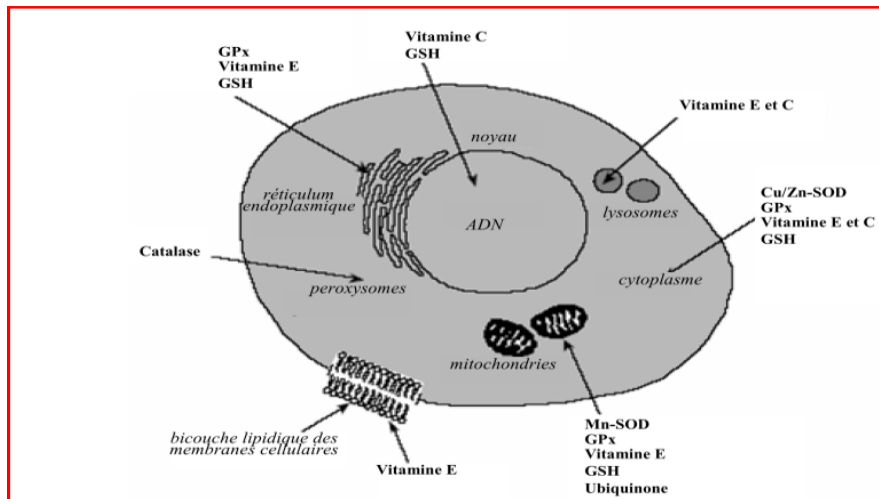


Figure 9 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule.

(GARAIT, 2006)

I.2.5- Les conséquences du stress oxydant

Le stress oxydatif, dû aux radicaux libres, entraîne des dégâts tissulaires essentiellement par l'oxydation des protéines, de l'ADN ou des lipides. Nous nous intéressons à cette dernière (LAIGHT *et al*, 2000).

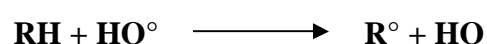
I.2.5.1.1- La peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique consiste en la modification oxydative des lipides. Elle peut être enzymatique (contrôlée) ou non enzymatique (COLAS., 2010). Nous détaillerons ci dessous cette dernière. Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde (ESTERBAUER *et al* 1992; JANEUL, 2003).

I.2.5.1.1.1- La peroxydation non enzymatique

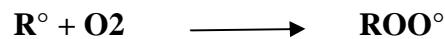
Il s'agit d'un enchainement de réaction radicalaires organisées en trois phase successives : initiation, propagation et terminaison (PRE, 1991).

Initiation : induit par des radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (HO°) et hydroperoxyde (HOO°) ainsi que les radicaux lipidiques tels que les alcoxydes (LO°) et peroxyde (LOO°). La réaction consiste à arracher un atome d'hydrogène sur un carbone situé Entre deux doubles liaisons, laissant un électron non apparié.

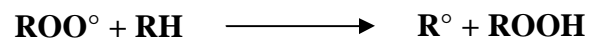


L'acide gras subit alors en suite de réarrangement des doubles liaisons lui permettant de se stabiliser. Il se produit alors un radical alkyle (diène conjugué) (BOUZIDI-BEKADA, 2012).

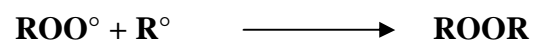
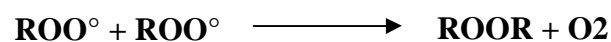
Propagation : Une molécule de dioxygène (O₂) s'ajoute rapidement sur le R° pour former un radical peroxyde (ROO°) (BOUZIDI-BEKADA, 2012).



Le ROO° va propager la réaction en chaîne avec une molécule RH voisine pour former un nouveau R° et un hydroperoxyde lipidique (ROOH). De cette manière, de nombreuses molécules d'hydroperoxydes lipidiques peuvent être formées pour chaque RL initial (BOUZIDI-BEKADA, 2012).



Terminaison : Cette étape consiste en la formation de composés stables issus de l'association de 2 composés radicalaires. Leurs électrons non appariés s'associent rapidement pour former une liaison covalente stable (BOUZIDI-BEKADA, 2012). La réaction peut également être stoppée à l'aide d'antioxydants ou continuer (FAVIER, 2003).



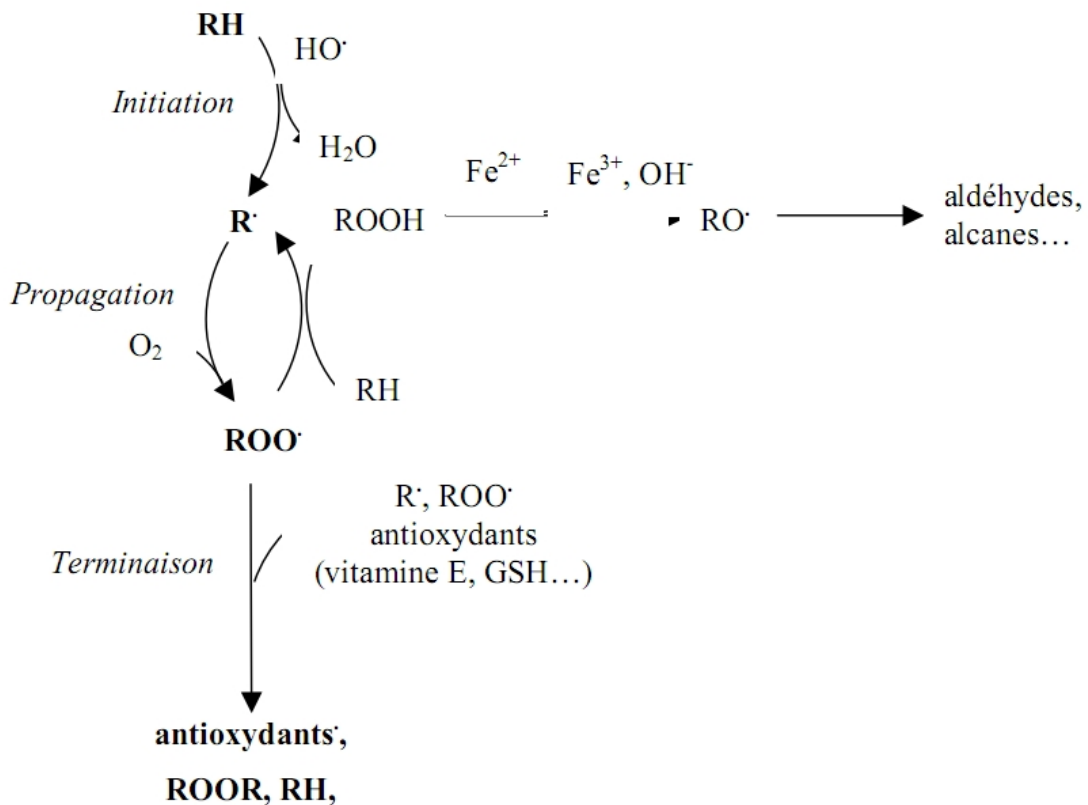


Figure 10 : la peroxydation non enzymatique (JANEUL, 2003)

I.2.5.1.1.2- Les produits de la peroxydation lipidique

Les produits primaires de la lipoperoxydation tels que les radicaux alkyles, hydroperoxyde et les hydroperoxydes d'acides gras sont labiles peuvent continuer à s'oxyder et à se fragmenter en des produits secondaires plus stables (**Figure 11**). Parmi les produits secondaires formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), le acides thiobarbiturique (TBARS) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) sont étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (**SPITELLER, 2003**).

I.2.5.1.1.2.1- Le dialdéhyde malonique (MDA)

Le dialdéhyde malonique (MDA) dérive de l'oxydation des acides gras présentant au moins 3 doubles liaisons conjuguées. Est le marqueur le plus utilisé de la peroxydation par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. De plus, il sert d'index global car il est à la fois produit par les deux types de peroxydation, enzymatique (PGH synthase) et non enzymatique au niveau plaquettaire (CARRERAS, 2004).

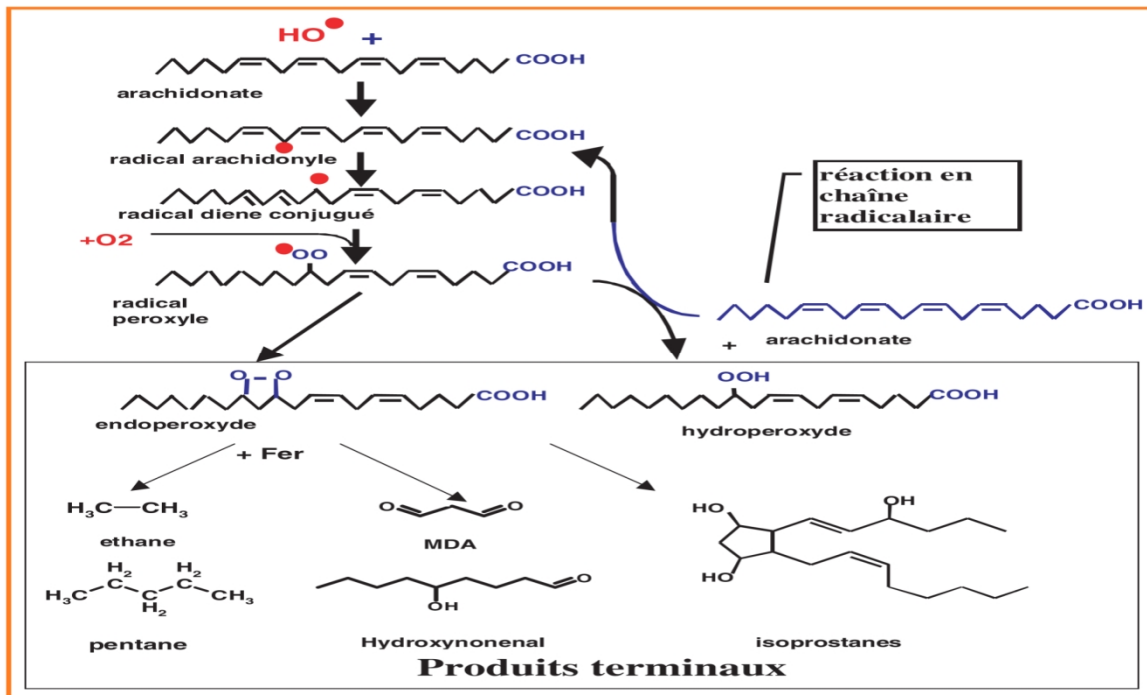


Figure 11 - Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (FAVIER, 2003)

I.2.5.1.1.3 - Les conséquences de la peroxydation

La peroxydation des lipides peut concerner les phospholipides membranaires ou les lipoprotéines circulantes. Les conséquences seront différentes (FAVIER, 2003).

I.2.5.1.1.3.1- Les lipides membranaires

Il a été montré qu'elle induit une perturbation des structures, une altération de l'intégrité, de la fluidité membranaire, de la perméabilité, une altération des systèmes de transfert d'ions, ainsi que le fonctionnement de nombreux transporteurs, récepteurs et affecte les voies de transduction des signaux (FAVIER .2003; NIKI, 2009; HAMADI, 2010).

I.2.5.1.1.3.2- Les lipoprotéines

L'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires (**PEYNET et al 2005; NAKAJIMA, 2006; SAAD, 2006**). Elle modifie les LDL pour les rendre proathérogènes et proinflammatoires et enfin, elle génère des produits potentiellement toxiques, mutagènes et carcinogènes (**NIKI, 2009**).

I.3- Diabète et stress oxydatif

Le stress oxydant est augmenté dans les différents tissus à la fois dans le cas de diabète expérimentale ou pour les patients diabétiques (**KORSHUNOV et al, 1997**). L'hyperglycémie chronique induit un stress oxydant (**DANDONA et al, 1996**) favorisant une augmentation de la production d'ERO chez les patients diabétiques de type-1 et 2 et une chute des défenses antioxydantes cellulaires (**MAXWELL et al, 1997**).

I.3.1- La production de radicaux libres au cours du diabète

Plusieurs mécanismes semblent impliqués dans le développement d'un stress oxydant en présence de concentrations élevées en glucose par la production des oxydants comme le cas de : l'auto-oxydation du glucose et la voie de la glycation des protéines la voie des polyols. Ainsi cette dernière est t'impliquée aussi dans la diminution des systèmes anti oxydantes. (**DELLATTRE et al, 1999; INDRAN et al, 2004; MARJANI, 2005**).

I.3.1.1- Auto-oxydation du glucose

En présence de fer, le glucose s'oxyde entraînant la génération des ROS, mais aussi la production de la forme aldéhyde du glucose, le glyoxal. Cette molécule se fixe rapidement sur les protéines dans lesquelles apparaît un résidu carboxyméthyllysine (CML). Ce groupe menceptre facilement le cuivre, ce qui provoque le déclenchement de réactions de type Fenton avec production de radicaux libres : il s'ensuit une augmentation de la peroxydation lipidique (**DEVARAJ, 2001**). Ce mécanisme pourrait expliquer pourquoi le diabète est souvent associé à des complications cardio-vasculaires (**HALENG et al, 2007**).

I.3.1.2- Voie des polyols

Dans le diabète, le glucose est pris en charge par la voie des polyols qui le transforme en sorbitol par l'aldose réductase puis en fructose par le sorbitol déshydrogénase (**Figure 13**). Durant cette réaction il ya :

- ❖ une augmentation de NADH cofacteur d'enzymes catalysant des réactions génératrices de radicaux libres telle que la PGH synthase (**KUKREJA et al, 1986 in CARRERAS, 2004**).
- ❖ Et une consommation du NADPH, H⁺ nécessaire à la régénération du glutathion, puissante molécule antioxydante. Il en découle une diminution de sa régénération et donc une diminution des défenses antioxydantes. En outre, entraînant une inhibition de la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase et une accentuation de la formation de produits terminaux de glycation (AGE) (**LEE et CHUNG, 1999**).

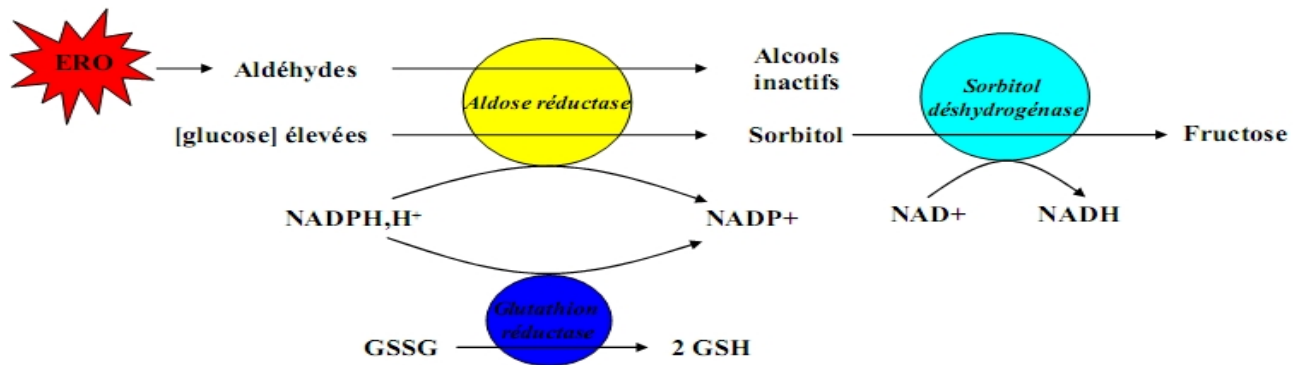
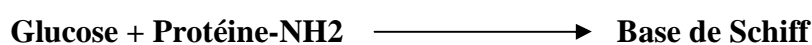


Figure 12 : Voie des polyols en conditions d'hyperglycémie(**BROWNLEE, 2005**)

I.3.1.3- Glycation et produits avancés de glycation

La réaction de glycation a été décrite pour la première fois par Maillard en 1912. (**BONNEFONT- ROUSSELOT et al, 2004**). La glycation non enzymatique est l'une des modifications post-traductionnelles tardives des protéines. Il s'agit d'une réaction chimique spontanée entre le groupement aldéhyde ou cétonique d'un ose, ou d'un dérivé d'ose, et un groupement α- ou ε-aminé d'une protéine (**BUNN et HIGGINS, 1981**).

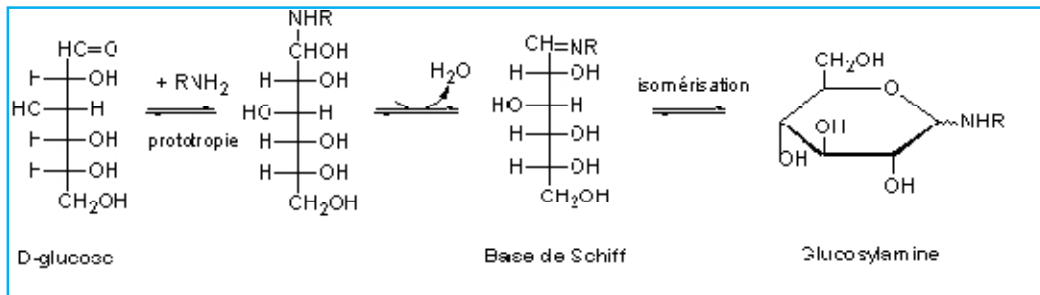
Le processus de glycation comporte plusieurs étapes. Dans un premier temps, une condensation réversible donne une base de Schiff instable (**Figure14**).



Celle-ci subit ensuite un réarrangement moléculaire, appelé réarrangement d'Amadori.

Figure15 (GUILLET., 2010).

Base de Schiff \longrightarrow Produit d'Amadori



(Figure 13) :

Première étape de la glycation d'une protéine par le D-glucose.

(TRIVIN et al 1999)

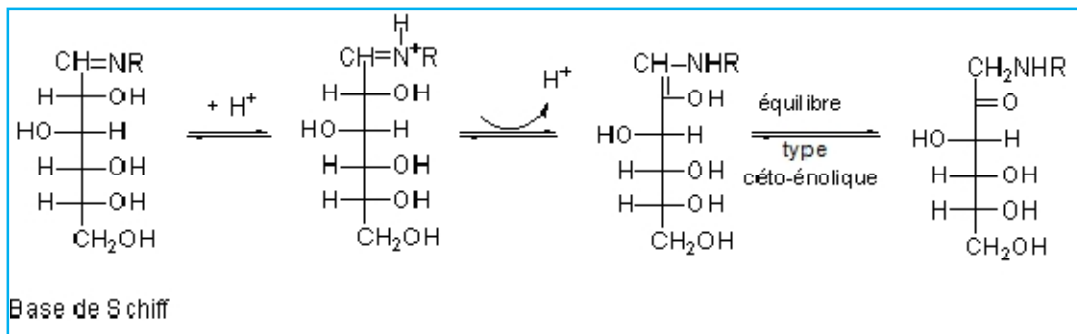
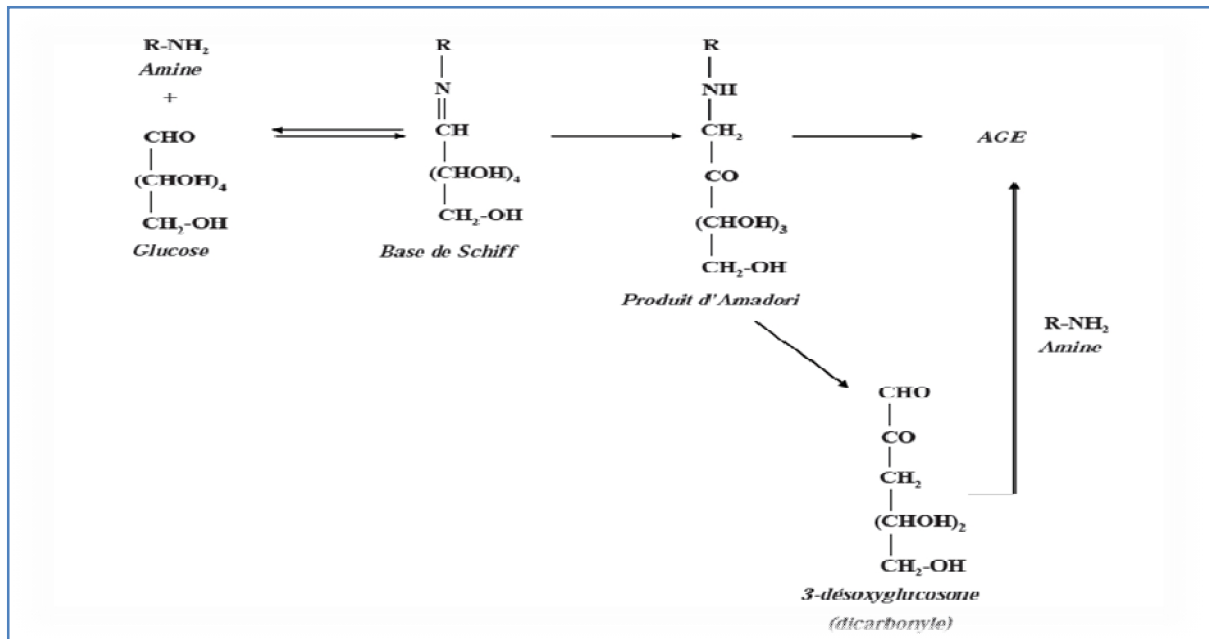


Figure14 : Réarrangement d'Amadori (TRIVIN et al 1999)

Si la protéine modifiée a une demi-vie inférieure à 6 ou 8 semaines, ces adduits d'Amadori seront dégradés et disparaissent de l'organisme, en revanche, si leur demi-vie est supérieure à 8 ou 10 semaines, ils subiront de nouvelles modifications irréversibles en formant par condensation entre plusieurs produits d'Amadori les produits de Maillard, **figure** ou advanced glycation end products (AGE's) ou produit de glycation avancée (PGA) ou produit terminaux de glycation (PTG) (TRIVIN et CHEVENNE, 1999).

Les AGE plasmatiques peuvent se lier à des récepteurs (RAGE) présents sur les cellules endothéliales, glomérulaires et les macrophages. L'activation de ces récepteurs déclenche une production des ROS (HALENG et al, 2007).

L'hémoglobine glyquée (HbA1c) est le produit d'Amadori le plus connu car son taux est utilisé comme indice de contrôle métabolique du glucose chez le diabétique (**DUPAS et al,**



2012).Au cours du diabète, cette formation est largement accélérée en raison de l'hyperglycémie (**COLAS, 2010**).

Figure 15 : Réaction de Maillard conduisant à la formation des produits de glycation avancés (**HERNEBRING et al, 2006**)

***Matériel et
méthodes***

Afin d'estimer la peroxydation lipidique chez le diabétique de type 1 et d'étudier sa relation avec les troubles du métabolisme lipidique et glycémique. Nous nous sommes intéressés à évaluer l'un des marqueurs du stress oxydant : le MDA. Aussi, d'explorer les troubles métaboliques par les différents statuts anthropométriques, hémodynamiques et biochimiques chez le diabétique de type 1

Pour ce faire, nous avons sollicité quatre lieux de stages : L'établissement public hospitalier de BLIDA « TRICHINE IBRAHIME (FABORE) » pour le recrutement des diabétiques, Le laboratoire de l'établissement de santé publique de BOUGARA pour le recrutement de la population témoins et les dosages biochimiques, Le laboratoire de PFE pour le dosage du MDA, et L'institut Pasteur d'Algérie pour le dosage du peptide C et l'insuline durant une période de 4 mois (du mois de Février 2014 –au mois de Juin 2014) .

II.1-Matériel

II.1.1- Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué par le sang prélevé des patients après 12heurs de jeûne. Ce sang est recueilli dans des tubes Héparinés, tubes EDTA et tubes sec puis centrifugé à 4000 tours/min pendant 15 minutes. Le sang total prélevé sur EDTA est utilisé pour le dosage d'hémoglobine glyquée ainsi le plasma est récupéré pour le dosage des paramètres biochimiques.

II.1.2-Matériel non biologique

- Matériel utilisés (**annexe I**)
- Réactifs (**annexe III**)

II.2- Méthode de l'étude

❖ Critère d'inclusion

Dans cette étude prospective, nous avons inclus une population constituée:

- Un groupe de sujets témoins.
- et un groupe de diabétiques (DT1).

Les critères d'inclusion pour la population témoins et diabétique sont :

- Etre volontaire

- Homme ou femme
- Agé de 15 à 55 ans

❖ Recrutement

Les sujets diabétiques, ont été recrutés en consultations au niveau établissement publique hospitalière TRICHINE IBRAHIME (FABORE). La population témoins été recruté au niveau de polyclinique de BOUGARA. Ainsi, nous avons inclus 45 sujets non diabétiques, d'apparence saine (aucune pathologie connue) et 44 sujets diabétiques (DT1). Le nombre de sujets recrutés est répertorié dans le tableau suivant :

Tableau III : Le nombre de patients diabétiques et de témoins recrutés.

	Total	Femmes	Hommes
DT1	44	31	13
Témoins	45	22	23

❖ Questionnaire (annexe II)

Une fiche de renseignement à été utilisée pour répertorier les renseignements consternant:

- Age et le sexe ;
- Les paramètres cliniques et anthropométriques (antécédents familiaux, le tour de taille, tour de hanches, le poids corporel, taille) ;
- Paramètres hémodynamiques (pression artérielle systolique et diastolique) ;
- Les paramètres biologiques (glycémie, hémoglobine glyquée A1c (HbA1c), cholestérolémie totale (CT), cholestérolémie HDL, triglycéridémie (TG), cholestérolémie LDL, malondialdéhyde MDA, peptide C et insuline).

❖ Prélèvements

Tous les sujets ont été prélevés dans les mêmes conditions, au niveau du laboratoire de l'établissement de santé publique de BOUGARA. Les prélèvements sanguins ont été réalisés après 12 heures de jeûne entre 8 et 9 heures du matin.

Après avoir placé le garrot et désinfecté la surface cutanée à l'alcool, le sang est prélevé par une ponction veineuse franche au pli du coude avec une aiguille.

Il est ensuite recueilli dans des tubes étiquetés, et sont acheminés dans le laboratoire où ils sont analysés soit ; directement comme le dosage de hémoglobine glyquée A1c(HbA1c), ou après une centrifugation à 4000 tour/minute pendant 15 minutes, afin de récupérer :

- le plasma sur tube d'héparinate de lithium pour le dosage de quelques paramètres biochimiques à savoir : glycémie, cholestérol total, triglycéride, HDL-C, l'urée, créatinine, ASAT(GOT), ALAT (GPT),
- le plasma sur tube Ethylène Diamine Tétra Acétique (EDTA) pour le dosage de Malondialdéhyde (MDA)
- et le sérum sur tube sec pour le dosage de peptide C et insuline.

II.2.1- Mesures des paramètres hémodynamiques

La mesure de la pression artérielle a été effectuée à l'aide d'un tensiomètre électronique, placé sur le bras gauche du patient en position assise après un repos d'au moins 10 minutes. Les valeurs de la pression artérielle sont exprimées en millimètre de mercure (mm Hg).

II.2.2- Paramètre anthropométriques

Le poids a été mesuré avec une balance électronique et la taille a été mesurée à l'aide d'une toise fixé.

L'indice de masse corporelle (IMC) a été calculé selon la formule de Quételet : $IMC = \text{poids (kg)}/\text{taille (m}^2\text{)}$.

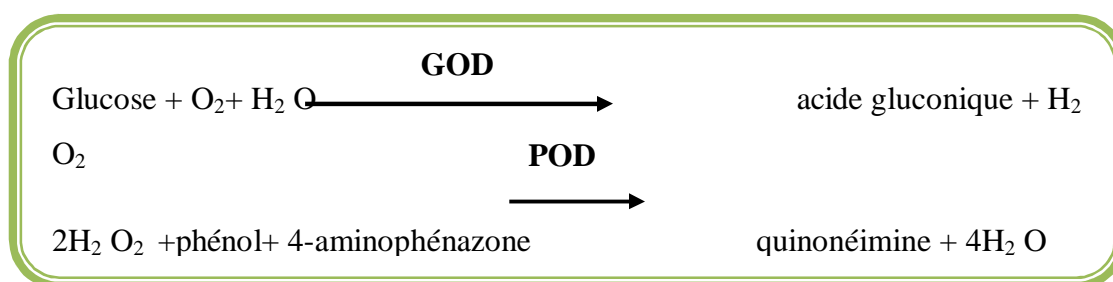
II.2.3- Paramètres étudiés

II.2.3.1- Paramètre biochimique

II.2.3.1.1- Dosage du glucose

Principe : La glycémie est dosée par la méthode enzymatique colorimétrique selon **TRINDER, (1969)**. Le principe de la réaction est basé sur l'action de glucose oxydase(GOD) sur le glucose, le transformant en acide gluconique en donnant du peroxyde d'Hydrogène (H_2O_2). Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ainsi formé, en présence du phénol et de l' amino-4-antipyrine et sous l'action de la peroxydase (POD) se transforme en quinonéimine, de coloration rougeâtre. Cette coloration est d'autant plus intense que la quantité de glucose présente dans l'échantillon est élevée.

Le schéma réactionnel du dosage du glucose se résume comme suit :



Composition des réactifs : (annexe III)

Mode opératoire :

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml
standard	-	10ul	-
Echantillon	-	-	10ul

On agite bien les tubes et on les incube pendant 10 min, dans un bain marie à 37°C, la coloration finale est stable 30 minutes, on ajuste le zéro de la spectrophotométrie sur le blanc, lire directement la concentration à 505 nm.

On parle donc de méthode « glucose oxydase-POD-chromogène ». L'intensité de coloration du chromogène est proportionnelle à la concentration de glucose.

Le calcul de la concentration du glucose dans les échantillons est réalisé selon la formule suivante :

$$[\text{Glucose}] \text{ g/l} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Etalon}} \times n \quad (n : \text{concentration de l'étalon, } n = 1 \text{ g/l})$$

II.2.3.1.2- Dosage de l'hémoglobine glyquée

Principe : l'hémoglobine glyquée est dosée par chromatographie sur microcolonne échangeuse de cation. L'hémoglobine A1c est le produit de la condensation irréversible du glucose avec le résidu N-terminal de la chaîne β de l'hémoglobine A.

La concentration de HbA1c dans le sang est directement proportionnelle à la concentration moyenne de glucose pendant une période de temps de 6-8 semaines, ce qui équivaut à la vie moyenne des érythrocytes.

Après la préparation de l'hémolysât, dont la fraction labile est éliminée, les hémoglobines sont retenues sur une résine cationique, puis l'hémoglobine A1c (Hb1c) est éluée de manière spécifique après avoir éliminé par lavage l'hémoglobine A1a+ b (HbA1a+b).

L'estimation du pourcentage de l'HbA1c est obtenue par la lecture de l'absorbance à 415nm.

Mode opératoire

Préparation de l'hémolysat

- l'hémolysat est préparé et éliminé de la fraction labile dans les conditions de température ambiante (21-26°C).
- 50 μ l de sang sont ajoutés à 200 μ l de réactif (1) dans un tube à essai, puis agités et laissés à température ambiante pendant 10-15 mn.

• Préparation des colonnes

- la partie supérieure de la colonne est débouchée et la languette inférieure est ensuite cassée. Ainsi l'éluât est éliminé.

• Séparation et lecture de HbA1c

- 50 μ l d'hémolysat sont appliqués avec précaution sur le disque supérieur et l'éluât est éliminé.
- Quand l'hémolysat a entièrement pénétré, 200 μ l du réactif (2) sont ajoutés et l'éluât est éliminé. Après l'éluât, on ajoute 2000 μ l du même réactif.
- la colonne est placée sur un tube à essai et 4ml du réactif (3) sont ajoutés. La fraction HbA1c de l'éluât est ensuite récupérée.

- Le mélange obtenu est bien agité et l'absorbance de la fraction HbA1c est lu à 415 nm par rapport à l'eau distillée (AHb1c).

Pour la lecture d'Hémoglobine totale, on prend 50 µl de l'hémolysat précédemment préparé de chaque sujet et on le met dans des tubes en verres, puis on lui ajoute 12 ml de réactif 3, on mélange puis on lit son absorbance à 415 nm contre l'eau distillé.

Le calcul de la concentration du HbA1c dans les échantillons est réalisé selon la formule suivante :

$$\text{HbA1 c \%} = \frac{\text{A HbA1c}}{\text{A Hb Totale} \times 3} \times 100$$

N.B : l'absorbance est stable pendant au moins une heure

Composition des réactifs : (annexe III)

II.2.3.1.3- Dosage du peptide c et de l'insuline

Les dosages de l'insuline et du peptide C sont réalisés par la technique de chimiluminescence en phase solide (ELISA) utilisant des billes de polystyrène sur IMMULITE 2000.

- Principe

a) Dosage du peptide C

Le dosage du peptide C se fait par technique ELISA compétition réalisée en 2 temps:

- *1^{ère} étape* : le peptide C marqué à la phosphatase alcaline entre en compétition avec le peptide C présent dans le sérum à tester vis-à-vis d'un nombre limité de sites d'anticorps (anticorps polyclonal de lapin anti peptide C humain contenu dans l'unité test).
- *2^{ème} étape* : le substrat chimiluminescent (ester d'adamantyl dioxetane phosphate ou PPD) est hydrolysé par la phosphatase alcaline en un anion instable, ce qui permet une émission de lumière dont l'intensité est inversement proportionnelle à la concentration du peptide C contenu dans le sérum.

b) Dosage de l'insuline

Le dosage de l'insuline se fait par technique ELISA sandwich réalisée en 2 temps :

- *1^{ère} étape* : l'anticorps monoclonal murin anti-insuline humaine contenu dans l'unité test se lie à l'antigène contenu dans le sérum.
- *2^{ème} étape* : le complexe antigène-anticorps est mis en évidence par un anticorps polyclonal de poulet anti-insuline humaine marqué à la phosphatase alcaline.
- Le PPD est hydrolysé par l'enzyme (la phosphatase alcaline) en un anion intermédiaire instable, ce qui permet une émission de lumière dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration de l'insuline contenue dans le sérum.

- Mode opératoire

Le système **IMMULITE** réalise automatiquement le prélèvement successif d'une solution à base de matrice sérique non humaine pour la saturation des sites non spécifiques et les sérums (100 µl pour le dosage de l'insuline et 50 µl pour le peptide C). Le mélange est injecté dans les unités test contenant des billes de polystyrène revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-insuline humaine ou d'un anticorps polyclonal de lapin anti-peptide C humain ; après une incubation de 30 min à 37°C, sous agitation continue, suivie d'un lavage avec une solution de lavage diluée au 1/10 par centrifugation axiale, les anticorps polyclonaux respectifs de poulet anti-insuline humaine ou de l'intestin de veau anti-peptide C marqués à la phosphatase alcaline sont ajoutés. Après incubation de 30 min à 37°C suivie d'un lavage par centrifugation axiale, 200 µl du substrat chimiluminescent l'ester d'adamantyl dioxétane phosphate (PPD) est ajouté dans l'unité test, suivie d'une incubation de 10 mn à température ambiante.

- Lecture

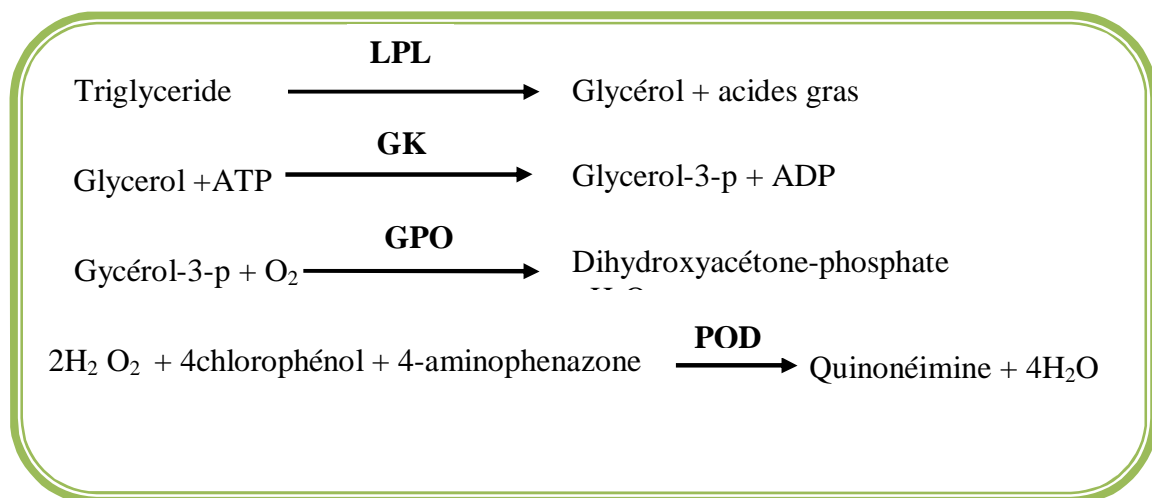
Le substrat chimiluminescent, un ester d'adomentyl dioxétane phosphate (PPD) est hydrolysé par la phosphatase alcaline en un anion intermédiaire instable. La concentration de complexe Ag-Ac formée est proportionnelle à la concentration de l'insuline est inversement proportionnelle à la concentration du peptide C, contenus dans le sérum.

Les résultats des deux paramètres sont exprimés en coups par seconde (CPS) et sont convertis en µunités internationales pour l'insuline (µUI/ml) et en (ng/ml) pour le peptide C grâce à une courbe étalon qui est intégrée dans le logiciel de l'appareil.

II.2.3.1.4- Dosage des triglycérides

Principe : Le dosage des triglycérides se fait par une méthode enzymatique colorimétrique. La technique est décrite par **YOUNG et PESTANTER, en 1975**. Les triglycérides sont hydrolysés par une lipoprotéine-lipase (LPL) en glycérol et en acides gras. Le glycérol est ensuite phosphorylé en glycérol-3-phosphate par l'ATP lors d'une réaction catalysée par la glycérol kinase (GK). L'oxydation du glycérol-3-phosphate est catalysée par la glycérol-phosphate-oxydase (GPO) pour former du dihydroxyacétone-phosphate et du peroxyde d'hydrogène (H₂ O₂).

En présence de peroxydase (POD), le peroxyde d'hydrogène formé entraîne le couplage oxydatif du 4-chlorophénol et de 4-aminophénazone pour former un colorant la quinonéimine, selon la réaction de **TRINDER, 1969**, qui est mesuré à 512 nm. Le schéma réactionnel du dosage des triglycérides se résume comme suit :



Composition des réactifs : (annexe III)

Mode opératoire :

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml
standard	-	10ul	-
Echantillon	-	-	10ul

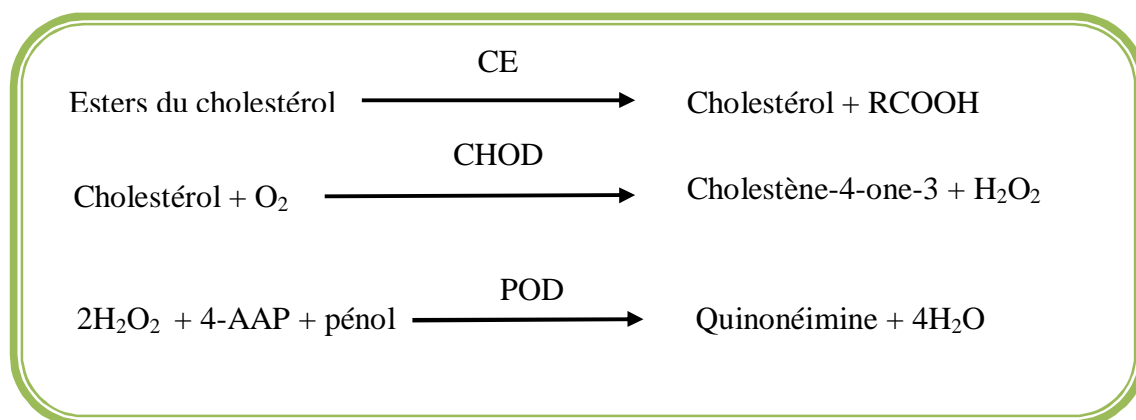
La densité optique (DO) des essais et des standards est lue contre un blanc à 505 nm. La lecture de l'étalon et l'échantillon, est faite par un spectrophotomètre. La coloration est stable 30 min. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en triglycérides dans le sérum. Le calcul de la concentration des triglycérides dans les échantillons est réalisé selon la formule suivante :

$$[\text{Triglycéride}] \text{ g/l} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Etalon}} \times n \quad (n: \text{concentration de l'étalon, } n = 2 \text{ g/l})$$

II.2.3.1.5- Dosage du cholestérol

Principe : Le dosage du cholestérol total se fait par une méthode enzymatique colorimétrique. La cholestérol-estérase (CE) hydrolyse les esters du cholestérol pour former du cholestérol libre et des acides gras. La cholestérol oxydase(CHOD) catalyse ensuite l'oxydation du cholestérol en cholestène-4 one-3 et en peroxyde d'hydrogène.

En présence de peroxydase (POD), le peroxyde d'hydrogène formé entraîne le couplage oxydatif du phénol et de 4-amino-antipyrine (4-AAP) pour former un colorant quinonéimine rouge. L'intensité de la couleur de ce dernier est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol. Les réactions sont les suivantes:



Composition des réactifs : (annexe III).

Mode opératoire :

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml
standard	-	10ul	-
Echantillon	-	-	10ul

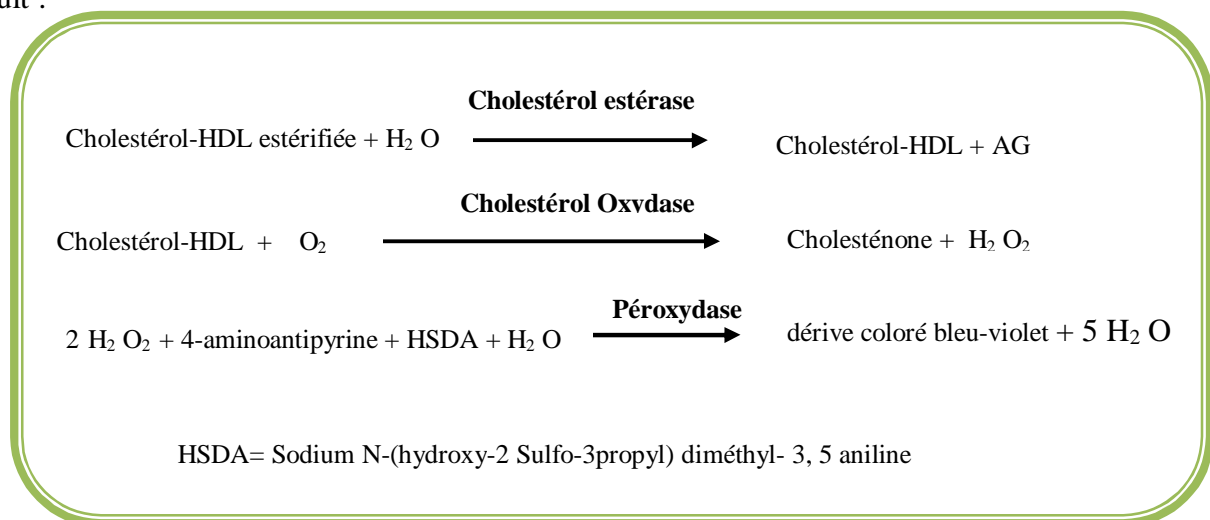
On agite bien les tubes et on les incube pendant 5 min, dans un bain marie à 37°C, la coloration finale est stable 30 minutes, on ajuste le zéro de la spectrophotométrie sur le blanc, lire directement la concentration à 505 nm.

L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol. Le calcul de la concentration du cholestérol dans les échantillons est réalisé selon la formule suivante :

$$[\text{Cholestérol}] \text{ g/l} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Etalon}} \times n \quad (n : \text{concentration de l'étalon, } n = 2 \text{ g/l})$$

II.2.3.1.6- Dosage du HDL cholestérol (HDLc)

-Principe : Le dosage du HDLc se fait par une méthode enzymatique colorimétrique. Les LDL, les VLDL et les chylomicrons contenus dans l'échantillon sont précipités par addition d'acide phosphotungstique en présence d'ion magnésium. Le surnageant après centrifugation contient les HDL cholestérol. La concentration en cholestérol HDL est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol-estérase et de cholestérol-oxydase modifiées par du PEG (polyéthylène glycol). Sous l'action de la cholestérol-estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction ultérieure catalysée par le cholestérol-oxydase modifiée par le PEG, le cholestérol est transformé en présence d'oxygène en Δ^4 -cholesténone avec formation de l'eau oxygénée, en présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec l' amino-4-phénazone et l'HSDA avec formation d'un dérivé coloré. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol HDL. Le schéma réactionnel du dosage du HDL cholestérol se résume comme suit :



Composition des réactifs : (annexe III)

Mode opératoire

500 µl de sérum sont ajoutés à 50 µl du réactif précipitant. L'ensemble est bien mélangé pendant 10 minutes à 20 -25°C ou 5 minutes à 37°C, ensuite centrifugé à 4000 tours/ minute pendant 10 minutes.

La concentration en cholestérol-HDL est mesurée dans le surnageant résultant de la centrifugation du précipité par la même technique enzymatique que le cholestérol total. La longueur d'onde 505 nm est utilisée pour la lecture des différentes concentrations des échantillons.

	Blanc µl	Etalon	Echantillon
Echantillon	-	-	10 µl
Etalon	-	10 µl	-
Réactif de travail	1000µl	1000 µl	1000µl

E-Calcul de LDL-C

La concentration en cholestérol LDL dans l'échantillon est calculée par la formule de « FRIEDWALD », à condition que la concentration en TG soit inférieure à 4 g/l .

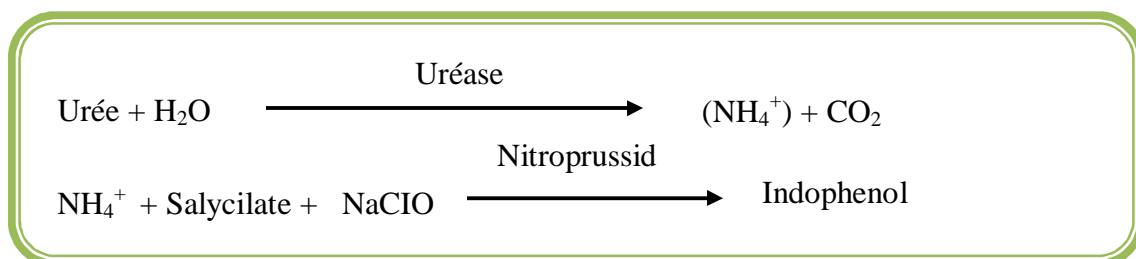
$$\text{LDL-C (g/l)} = \text{cholestérol total} - (\text{HDL-C} + \text{TG}/5)$$

NB : Le LDL-C doit être mesuré par un dosage direct si les triglycérides sont ≥ 4 g/l.

II.2.3.1.7- Dosage de L'urée

Principe : Le dosage de l'urée plasmatique se fait selon une méthode enzymatique colorimétrique. L'urée est hydrolysée par l'uréase en produisant de l'ammoniaque et du dioxyde de carbone. Au cours d'une réaction de Berthelot modifiée les ions d'ammonium se transforment à l'aide de salicylate et d'hypochlorite en formant un colorant vert dont l'absorbance à 546 ou 578 nm est directement proportionnelle à la concentration de l'urée.

Le schéma réactionnel du dosage de l'Urée se résume comme suit :



Composition des réactifs : (annexe III)

Mode opératoire : Il comprend deux étapes :

1^{ère} étape : nous avons préparé 3 tubes (blanc, étalon et échantillon). Qui contiennent :

	Blanc µl	Etalon µl	Echantillon µl
Echantillon	-	-	10
Etalon	-	10	-
Réactif de travail	1000	1000	1000

Le contenu des tubes est mélangé et incubé pendant 5 minutes à 37°C (ou 10 minutes à température 15-25 °C) le 2^{ème} réactif est ajouté et incubé pendant 5 minutes à 37 °C.

	Blanc µl	Etalon µl	Echantillon µl
Echantillon	1000	1000	1000

La lecture des différentes concentrations est réalisée à la Longueur d'onde de 580nm

Le calcul de la concentration de l'urée dans les échantillons est réalisé selon la formule suivante :

$$[\text{Urée}] \text{ g/l} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times n \quad (n = \text{concentration de l'étalon} = 50 \text{ mg/dl})$$

- II.2.3.1.8- Dosage de la créatinine

Principe : Le dosage de créatinine plasmatique est effectué selon une méthode cinétique colorimétrique. La créatinine forme un complexe coloré dans une solution alcaline en présence de l'acide picrique, la vitesse de la formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de la créatinine présente dans le sérum.

Composition des réactifs : (annexe III)

Mode opératoire

Tubes	Blanc µl	Étalon µl	Echantillon µl (sérum)
Étalon	-	100	-
Echantillon (plasma)	-	-	100
Solution de travail R1	500	500	500
Solution de travail R2	500	500	500

La lecture des différentes concentrations est réalisée avec une Longueur d'onde de 490 à 510 nm

Le calcul de la concentration de la créatinine dans l'échantillon est réalisé selon la formule suivante :

$$[\text{Créatinine}] \text{ mg/l} = \frac{(\text{DO2}-\text{DO1}) \text{ échantillon}}{(\text{DO2}-\text{DO1}) \text{ à étalon}} \times n$$

n = Concentration de l'étalon (n : 2 g/l)

DO 1 = Densité optique 10 seconde après l'addition de l'échantillon.

DO 2 = Densité optique 02 minutes après DO 1.

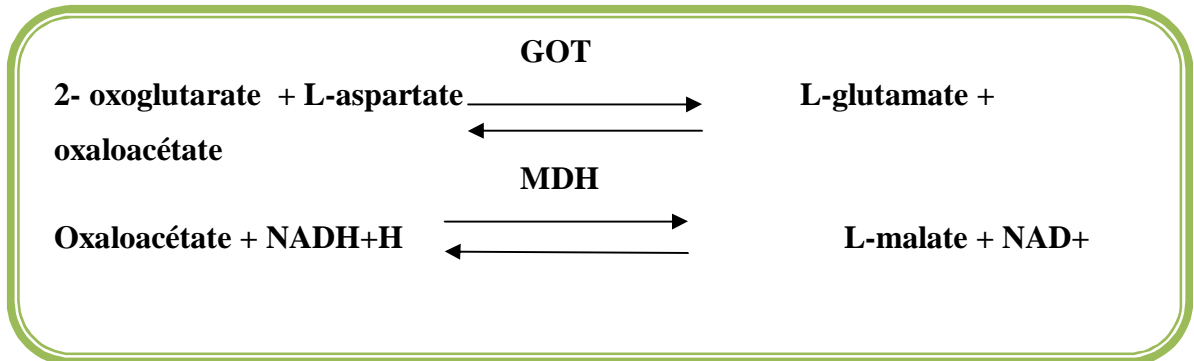
II.2.3.1.9- Dosage des enzymes hépatiques : Transaminases (ASAT, ALAT)

Les transaminases sont des enzymes de nature glycoprotéique ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules. Leur dosage a essentiellement pour but d'explorer la fonction hépatique, c'est à dire le foie. Leur augmentation pouvant signifier la présence de lésions cellulaires à son niveau, ce que l'on appelle une cytolysse hépatique.

➤ ASAT (Aspartate-Amino-Transférase) ou GOT (Glutamate-Oxaloacétate-Transaminase)

Nous avons utilisé pour le dosage des ASAT une méthode cinétique pour la détermination de l'activité de la GOT. Le principe de la réaction est basé sur l'action de Glutamate-Oxaloacétate-Transaminase (GOT) sur le mélange « L-aspartate et le 2- oxoglutarate » et les transformant en L-glutamate + oxaloacétate. L'oxaloacétate ainsi formé, en présence du pouvoir réducteur le NADH+H, et sous l'action de malate déshydrogénase se transforme en

L-malate. Le schéma réactionnel de la détermination colorimétrique de l'activité TGO se résume comme suit :



Composition des réactifs (annexeIII)

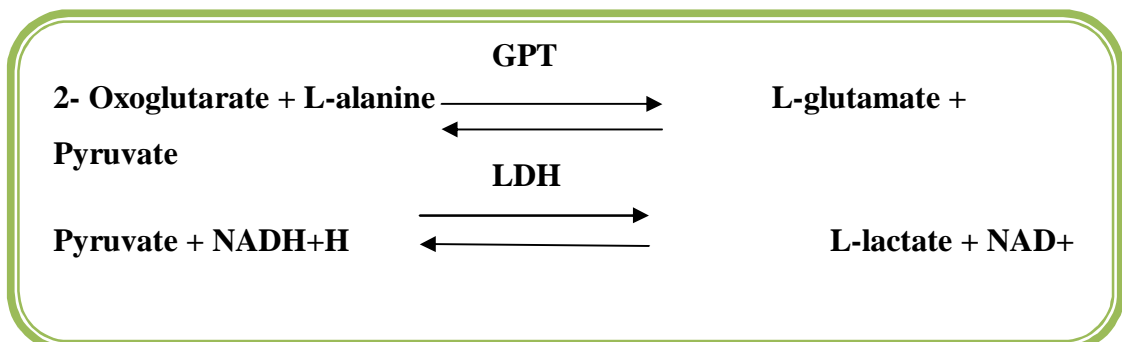
Mode opératoire

	Echantillon	
Réactif de travail	1 ml	Incuber 5 min à 37°C avant l'utilisation
standard	-	
Echantillon	100ul	

On agite bien les tubes et on les incubes pendant 1 min, dans un bain marie à 37°C, la coloration finale est stable 1 heure, on ajuste le zéro de la spectrophotométrie sur l' eau distillé , lire directement la concentration à 505 nm. résultat après trois (3) min

➤ ALAT (Alanine-Amino-Transférase) ou GPT (Glutamate-Pyruvate-Transaminase)

Nous avons utilisé pour le dosage des ALAT une méthode cinétique pour la détermination de l'activité de la GPT. Le principe de la réaction est basé sur l'action de Glutamate-Oxaloacétate-Transaminase (GPT) sur le mélange « L-alanine et le 2- oxoglutarate » et les transformant en L-glutamate + Pyruvate. Le Pyruvate ainsi formé, en présence du pouvoir réducteur le NADH+H, et sous l'action de malate déshydrogénase se transforme en L-malate. Le schéma réactionnel de la détermination colorimétrique de l'activité GPT se résume comme suit :



Composition des réactifs (annexeIII)

Mode opératoire

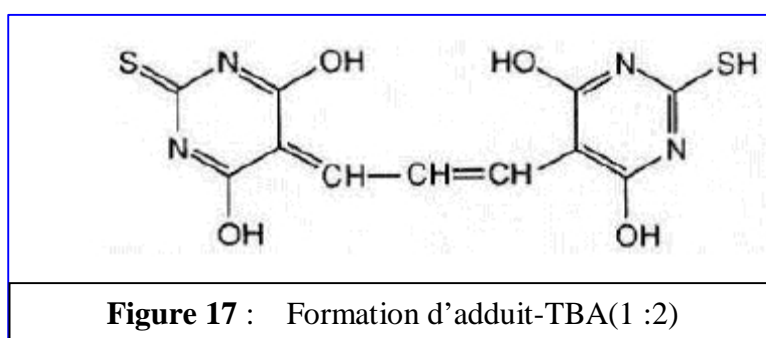
	Echantillon	
Réactif de travail	1 ml	Incuber 5 min à 37°C avant l'utilisation
standard	-	
Echantillon	100ul	

On agite bien les tubes et on les incube pendant 1 min, dans un bain marie à 37°C, la coloration finale est stable 1 heure, on ajuste le zéro de la spectrophotométrie sur l'eau distillé, lire directement la concentration à 505 nm. résultat après trois (3) min.

II.2.3.2- Dosage du MDA

La quantité des TBARS est exprimée en terme d'un équivalent biochimique qui est le « Malonyl di aldéhyde « MDA», un des produits terminaux formés lors de la peroxydation des acides gras polyinsaturés (PUFA) méditée par les radicaux libres. La mesure du MDA à l'aide du TBA selon la méthode de (Okhawa et al., 1979) permet la quantification de la peroxydation lipidique qui constitue le marqueur majeur du stress oxydant.

Principe: Le dosage du MDA repose sur la formation, en milieu acide et à chaud (100°C), entre une molécule du MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique d'un pigment coloré « rose » absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le butanol.



-Procédure

100µl de plasma sont mélangé à une solution constitué de 200 µl acide thiobarbiturique à 20% et 600 µl acide-ortho-phosphorique à 1%. Le mélange est incubé pendant 1h dans un bain

marie à 95°C suivit d'un refroidissement dans de la glace pour arrêter la réaction. Ensuite 900 µl de butanol sont ajoutés pour l'extraction du complexe MDA-TBA. L'ensemble est centrifugé à 5000xg pendant 10min. L'absorbance est déterminé sur le surnageant à 532nm. La concentration de TBARS est calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Elle est exprimée en µmol/l.

II.4- Analyse statistique

A la fin de notre stage pratique, nous avons enregistré et groupé les données des résultats sur une base de données Excel puis nous les avons traités par le logiciel *STATISTICA version 8.0*. L'analyse statistique des moyennes des différents groupes pour tous les paramètres ont été comparés aux témoins en utilisant le test t appariés de Student. Nos résultats sont exprimés par la moyenne \bar{X} , affectée de l'erreur standard à la moyenne (SEM), dont les formules sont les suivantes :

La moyenne arithmétique (\bar{X}) des valeurs individuelles :

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

$\left\{ \begin{array}{l} X_i = \text{somme des valeurs} \\ \text{individuelles} \\ n = \text{nombre de valeurs} \end{array} \right.$

Erreur standard de la moyenne (ESM) :

$$ESM = \frac{\delta}{\sqrt{n}}$$

$$\delta(\text{écart type}) = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Le degré de signification « p » lu sur la table de Student permet de fixer le degré de signification.

La différence entre deux moyennes \bar{X}_a et \bar{X}_b est significative si :

0,01 < P < 0,001..... *** hautement significatif

0,05 < P < 0,01..... ** très significatif

P < 0,05..... * significatif

P > 0,05..... non significatif

Résultats

ET

Discussion

III.1- Description de la population

Rappelons que notre étude est portée sur 89 sujets dont 44 patients diabétiques atteints le diabète de type 1 et 45 sujets témoins indemnes de toute pathologie.

Rappelons que dans ce travail, nous nous sommes intéressés à rechercher l'intérêt de l'estimation de la peroxydation lipidique par le dosage du Malondialdéhyde chez le diabétique de type 1. De plus, nous avons exploré les troubles métaboliques glucidiques, lipidiques, hépatiques et rénales qui sont et qui peuvent être associés au diabète type 1 lors d'un stress.

Pour ce faire, nous allons explorer nos résultats par :

- Une étude descriptive des caractéristiques cliniques et épidémiologiques de la population.
- Les paramètres biochimiques des différents statuts : Glycémique, lipidique, rénale.
- La corrélation du MDA au statut glycémique et lipidique

L'évaluation clinique et épidémiologique des sujets de l'étude est regroupée dans le tableau suivant :

Tableau IV: Caractéristiques cliniques et épidémiologique de la population de l'étude

	DT1	Témoins
Total n(%)	44(49%)	45(51%)
Hommes n(%)	13(30%)	23(51%)
Femmes n(%)	31(70%)	22(49%)
Sexe- ratio	0,41	1,04
âge (ans)	36,54±1,97	30,6±4,56
Durée du diabète (ans)	8,72±1,23	/
HbA1c(%)	11,05±1,96	/
IMC (kg/m ²)	27,16±1,24	24,93±0,67
PAS (mmHg)	128,13±2,59	111,53±4,45
PAD (mmHg)	73,40±3,01	72,86±1,84
FC (bat/min)	85,61±1,98	74,86±11,41

La représentation graphique des paramètres de ce tableau IV est en annexe IV

Le tableau IV, nous a permis de constater une prédominance féminine avec 31 femmes (70%) vs 13 hommes (30%) pour le groupe des DT1. Alors que pour les témoins, on constate une légère prédominance masculine de 51% hommes vs 49% femmes avec un sexe-ratio de 1,04.

Nous constatons que la moyenne d'âge des diabétiques de type1 est de (36,54±1,97) ans vs (30,6±4,56) ans pour les témoins. La durée du diabète étant de (8,72±1,23) ans chez nos diabétiques de type1 avec un taux moyen d'hémoglobine glyquée « HbA1c » de (11,05±1,96)%. Le statut anthropométrique à fait l'objet d'un seul paramètre qui est l'indice de masse corporelle (IMC). Ainsi, nous constatons un léger surpoids chez nos diabétiques avec un taux moyen d'IMC (27,16±1,24) kg/m² vs (24,93±0,67) kg/m² pour les témoins.

Alors que le statut hémodynamique est représenté par la PAS et la PAD. Une valeur de PAD > 85 mm Hg et de PAS > 135 mm Hg est un facteur de risque cardiovasculaire pour le diabétique. Dans notre étude, l'exploration de ce statut montre que la PAS est équilibrée (<130,5) chez les diabétiques de type1 avec un taux de PAS moyen de (128,13±2,59) mmHg vs (111,53±4,45) mmHg chez les témoins.

Les résultats de la PAD semblent être aussi équilibrés (<85) pour les diabétiques de type 1 avec un taux moyen de (73,40±3,01) mmHg vs (72,86±1,84) mmHg pour les témoins.

Aussi, on constate que la fréquence cardiaque (FC) estimée en battement par minute semble être dans les normes mais légèrement élevée chez les diabétiques de type1 (85,61±1,98) bat/min vs (74,86±11,41) bat/min pour les témoins.

Dans notre étude, nous avons constaté que la moyenne d'âge des diabétiques de type 1 est 36,54±1,97 ans et la durée de diabète est de 8,72±1,23ans, nous concluons que le diabète de type survient chez l'individu jeune.

FALFOUL et collaborateurs en 2010 ont montré par une étude rétrospective ayant concerné 50 patients diabétiques de type 1 sont répartis en 23 hommes et 27 femmes que l'âge moyen était de 31,82 ± 11,06 ans. Ce qui confirme effectivement la jeunesse de la population diabétique.

D'après **CHEVENNE et TRIVEN (1998)**, le DT1 est plus fréquent chez l'enfant et l'adolescent, mais il peut apparaître à tout âge, même après 80 ans.

Le DT1 est décrit, dans la majorité des populations étudiées dans le monde, comme étant le plus fréquent chez les hommes que les femmes (**ALDDAFARI MOUDJAHED, 2011**).

En effet, **DUBOIS –LAFORGUE (2007)**, montre que chez l'adulte le risque semble être deux fois plus grand chez l'homme que chez la femme.

Selon les résultats de l'étude Eurodiab, réalisée entre 1989 et 2003 dans 17 pays européens L'apparition du diabète de type 1 semble se décaler vers un âge de plus en plus précoce, (**PATTERSON et al., 2009**)

Selon l'OMS, le nombre de patients diabétiques de type 1 est estimé entre 15 et 22 millions de patients dans le monde avec une différence non significative sur la prévalence du diabète de type 1 entre les 2 sexes.

Durant notre étude, nous avons constaté que les sujets diabétiques de type 1 sont caractérisés par une valeur d'IMC de $27,16 \pm 1,24 \text{ kg/m}^2$ cela signifie leur état surpoids. Ce résultat est supérieur à celui de l'étude de **FALFOUL et al., (2010)** avec un IMC de $22,55 \pm 3,62 \text{ kg/m}^2$. Ce surpoids peut être du au mode de vie de ces diabétiques, qui est caractérisé par une alimentation riche en graisses animales, un appétit anormalement augmenté et une diminution notable de l'activité physique. En revanche, **ALDDAFARI MOUDJAHID (2011)** constate par son étude qu'il n'y a pas de relation significative entre l'indice de masse corporelle et le DT1.

L'association diabète à l'hypertension artérielle est fréquente. Elle augmente le risque cardiovasculaire accélère la survenue des complications dégénératives du diabète dans le DT1, l'hypertension est plutôt la conséquence d'une atteinte rénale (**BROWNLEE, 2005**).

II. Evaluation des paramètres métaboliques

Nous avons estimé la peroxydation lipidique par le dosage du Malondialdéhyde. Ce dernier, a été corrélée aux autres paramètres métaboliques des statuts glycémique, lipidique, hépatique et de la fonction rénale chez notre population diabétique et chez les témoins

II.1. Estimation de la peroxydation lipidique par le dosage du MDA

La peroxydation lipidique est estimée chez les diabétiques de type, ainsi que chez les témoins par le dosage de malondialdéhyde plasmatique.

Tableau V : Evaluation de la concentration du MDA

	<i>Diabète type1</i> <i>N=44</i>	<i>Témoins</i> <i>N=45</i>	<i>P value</i>	<i>significativité</i>
MDA ($\mu\text{mol/ml}$)	2,8 \pm 0,27	0,63 \pm 0,02	0,00001	Très significative

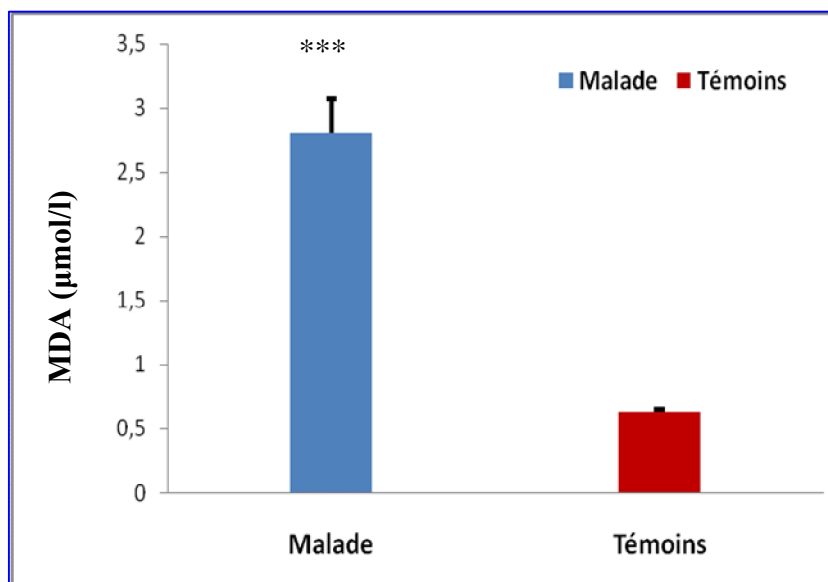


Figure 17 : Evaluation de la peroxydation lipidique chez les diabétiques de type 1 et les témoins. La différence est significativement marquée à ($*p < 0.05$); très significative à ($**p < 0,01$); hautement significative à ($***p < 0,001$) et la différence n'est pas significative à ($p > 0.05$) vs témoin.

La figure 17 et le tableau V représentent le taux moyen de MDA plasmatique chez les DT1 et les témoins. Ainsi, nous constatons que la concentration moyenne de MDA chez les DT1 est élevée par rapport aux témoins avec des valeurs respectives de 2,8 \pm 0,27 ($\mu\text{mol/l}$) vs 0,63 \pm 0,02 ($\mu\text{mol/l}$). Nous remarquons qu'il existe une différence hautement significative ($p < 0.0001$) vs les témoins.

A ce jour, le marqueur le plus utilisé pour déterminer un stress oxydant reste le Malonalaldéhyde

(LEFEVRE *et al* ; 1998). C'est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés médiée par les radicaux libres et donc permet une première approche d'une lipoperoxydation lipidique. Les radicaux libres favorisent la propagation de la peroxydation par processus d'auto-oxydation. Une concentration inférieure à 0,48 μM confirme que le MDA est absent (BIRD et DARAPER; 1984).

Concernant le Malondialaldéhyde, nos résultats concordent avec les travaux de SATO et collaborateur en 1979, qui par une méthode de dosage par fluorescence, ont rapporté des

taux élevé de malonaldéhyde par rapport aux témoins avec une différence hautement significative de ($P < 0,001$). Ce même auteur a rapporté que ces valeurs sont augmentées dans des cas d'angiopathie. Aussi, les travaux de **GALLOU et collaborateurs en 1993**, ont montré chez une population constituée de 117 diabétiques (type 1 et type 2) que le taux de peroxydation lipidique estimé par les TBARS était hautement significative chez les DT1 ($P < 0,0001$) par rapport au groupe de témoins. Cette différence n'a été pas significative entre DT1 et DT2. Cette étude a permis de déduire qu'il existe un désordre chez le patient diabétique par l'existence de la peroxydation lipidique (**GALLOU et al 1993**). Ces résultats ont été aussi obtenus par l'étude de **NOBERSCO et collaborateurs en 1991**, où effectivement le taux de MDA était élevé chez les diabétiques par rapport aux témoins avec une significativité de ($< 0,01$).

Selon, **NOBERSCO et collaborateurs en 1991**, l'équilibre glycémique semble influencer le MDA dans le plasma en augmentant la production des radicaux libres. Ce phénomène s'est produit probablement en raison de la glycosylation accrue et l'agrégation des plaquettes ou en raison de la détérioration des systèmes protectifs cellulaires antioxydants.

En effet, un état de stress a été toujours décrit dans le cas du diabète. Il s'agit d'un déséquilibre entre la production d'espèce réactive de l'oxygène (ERO), en particulier des radicaux libres, et des défenses anti-oxydantes (**BONNEFOND-ROUSSELOT et al., 2002**). Selon **BETTERIDGE** en 2000, ce stress oxydant pourrait être impliqué dans les atteintes tissulaires. L'hyperglycémie conduit à un état de stress. Ce dernier est liée dans la production des produits de glycation avancée (AGE) et à l'oxydation de macromolécules, notamment celles de la matrice extracellulaire (**BONNEFOND-ROUSSELOT et al., 2004**). Ce qui explique le taux élevé du MDA chez les diabétiques associées à des rétinopathies, néphropathie, et rétinopathie.

L'analyse de régression du MDA (**annexe V**) a montré une corrélation faiblement positive avec la glycémie à jeun ($r = +0,135$, $\alpha < 0,05$) alors que chez témoins est fortement négative ($r = -0,005$, $\alpha < 0,05$), pour les LDLc, elle est faiblement positive chez les deux groupes diabétiques ($r = +0,122$, $\alpha < 0,05$) et témoins ($r = +0,25$, $\alpha < 0,05$), peptide C ($r = +0,218$, $\alpha < 0,05$), insuline ($r = +0,048$, $\alpha < 0,05$), et les triglycérides ($r = +0,096$, $\alpha < 0,05$) chez les diabétiques et $r = +0,19$, $< 0,05$) chez les témoins. Nous avons aussi constaté une corrélation négative avec l'hémoglobine glyquée ($r = -0,312$, $\alpha < 0,05$). Pour le HDLc, nous avons relevé une corrélation négative chez les diabétiques ($r = -0,196$, $\alpha < 0,05$) alors que chez les témoins elle est positive ($r = +0,27$, $\alpha < 0,05$). En revanche, le CT est corrélé négativement chez les diabétiques ($r = -0,368$, $\alpha < 0,05$) et positivement chez les témoins ($r = 0,352$, $\alpha < 0,05$).

II.3.1.Statut glycémique

Les troubles du métabolisme glucidique chez les diabétiques sont évalués par le dosage des taux de la glycémie, HbA1c, insuline et le peptide C. Ces données sont répertoriées dans **tableau VI** et représentés par la **figure 18**.

Tableau VI : Evaluation du statut glycémique chez les DT1 et les témoins

	DT1	Témoins	P avlue	Significativité
<i>glycémie (g/l)</i>	3,12±0,20	0,81±0,01	0,0001	***
<i>HBA1C %</i>	11,05±1,96	6,5±00		
<i>c-pep (ng/ml)</i>	1,11±0,20	1,57±00		
<i>Insuline (µIU/ml)</i>	12,34±2,22	7,78±00		

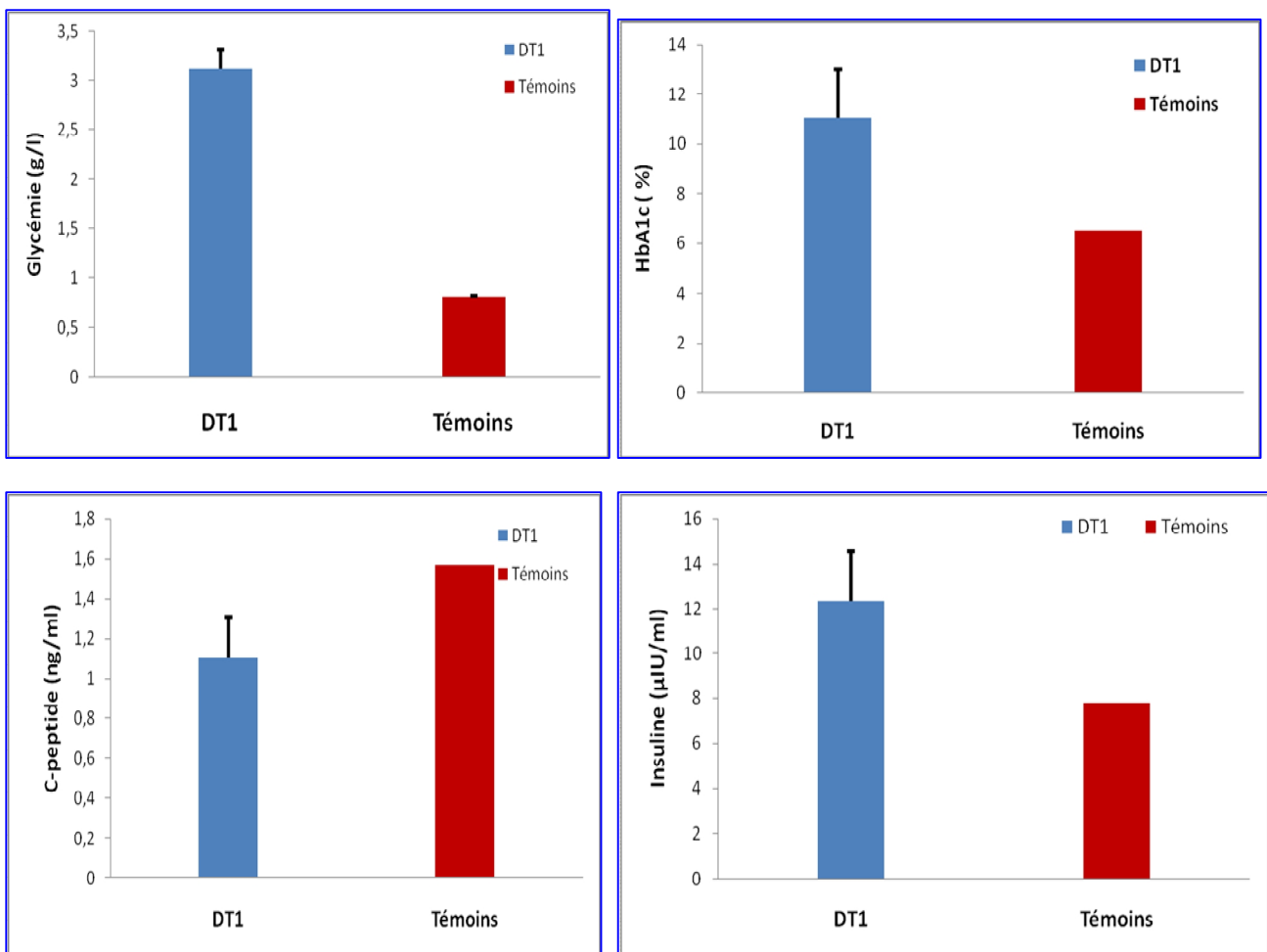


Figure 18: Evaluation évaluation statut glycémique chez les diabétiques detype1 et les témoins. La différence est significativement marquée à ($*p<0.05$); très significative à ($**p<0,01$) ; hautement significative à ($***p<0,001$) et la différence n'est pas significative à ($p>0.05$) vs témoin

La figure 18 et le tableau VI représentent le taux moyen de la glycémie dosée chez les DT1 et les témoins. Ainsi, nous constatons que la glycémie chez les DT1 est élevée par rapport aux témoins avec des valeurs respectives de $3,12 \pm 0,18$ (g/l) et $0,81 \pm 0,01$ (g/l). Nous remarquons qu'il existe une différence hautement significative ($p=0,0001$) vs les témoins.

L'effet chronique de l'hyperglycémie est confirmé par la valeur moyenne de l'HbA1c ($11,05 \pm 1,96$) % qui dépassent les normes 6,5 % chez ces patients.

Le caractère insulino-prive du diabète est confirmé par les valeurs moyennes du peptide C et l'insuline. Ainsi, nous constatons que la concentration moyenne de peptide C chez les DT1 est faible par rapport aux normes avec des valeurs de $1,11 \pm 0,20$ (ng/ml) et $1,57 \pm 0,00$ (ng/ml) respectivement.

Ces résultats de l'exploration glycémique (taux de glycémie et HbA1c) concorde avec une étude faite par les tunisiens (**KASSAB *et al* ; 2003**) qui rapportent aussi ce déséquilibre que chez les diabétiques par rapport aux témoins. Notre population s'avère donc mal équilibrée et serait exposée à l'apparition précoce des complications dégénératives des diabétiques.

En cas de carence en Insuline, situation du DT1, le glucose ne peut plus être utilisé par les tissus, muscles en particulier, ni stocké dans le foie. Son taux sanguin augmente, conduisant à une hyperglycémie considérable. (**FRERE, 2011**). Cette augmentation de la glycémie chez les diabétiques de type 1 est probablement due à une hyperproduction hépatique du glucose suite à une activation des voies de la néoglucogenèse et de la glycogénolyse, ainsi qu'une réduction de l'utilisation périphérique du glucose (**GUIMLLAUSSEAU, 2003**).

Concernant la glycémie, il y'a présence d'une hyperglycémie chez les patients diabétiques de type 1 par une valeur moyenne de $1,88 \pm 0,18$ (figure 7). Le test de student révèle qu'il existe une différence hautement significative entre les diabétiques de type 1 et les témoins ($p < 0,001$) (tableau IV).

D'après **GALE(2002)**, l'hyperglycémie survient lorsque 80-95% des cellules béta d'un individu sont détruites.

Nos résultats concordent avec **GRIMALDI (2009)**, cette augmentation pourrait s'expliquer par une carence de la sécrétion d'insuline dans le cas des diabétiques de type 1.

Il faut noter qu'une faible quantité de glucose continue à entrer dans les cellules par un phénomène de diffusion passive, selon un gradient de concentration renforcé par L'hyperglycémie (**MALARDE, 2012**).

La glycation est la liaison d'une molécule de glucose sur une protéine, sans l'intermédiaire d'une enzyme. Cette liaison est suivie d'une succession de transformations biochimiques complexes.

Aux stades évolués on parle de produits avancés de la glycation (*Advanced Glycosylation End [AGE] products*). Il s'agit d'une vaste famille de molécules, la plus connue étant l'hémoglobine glyquée (HbA1c). Le phénomène de la glycation se produit de manière physiologique lors du vieillissement, mais est très accentué lors du diabète (**DUPAS et al., 2012**).

La glycosylation de l'hémoglobine est l'une des multiples glycosylations pathologiques que subissent les protéines des diabétiques. L'hémoglobine glycosylée HbA1C est corrélée à la moyenne des glycémies des trois mois précédant le prélèvement (**BOUHOURS- NOUET et al.,2005**) ; Nos résultats montrent que l'HbA1c dépasse les normes (6,2 %) avec une valeur moyenne de $11,05 \pm 1,96$ (%).

Notre résultat est inférieur en comparaison avec l'étude rétrospective de **FALFOUL et al.,(2010)** avec une valeur moyenne de $12,78 \pm 1,88$ (%). La mesure de l' HbA1c est inutile pour diagnostiquer le diabète, mais indispensable pour contrôler l'efficacité du traitement (**BOUHOURS- NOUET et al.,2005**).

II.3.2. Statut lipidique

Ce statut a fait l'objet de dosage des paramètres lipido-athérogènes. Parmi ces paramètres, nous avons pu évaluer les triglycérides(TG), le cholestérol total (CT), le cholestérol HDL et LDL (HDLc, LDLc). Les résultats du dosage de ces paramètres sont répertoriés dans le tableau VII et représentés par la Figure 19.

Tableau VII: Evaluation du statut lipidique chez les DT1 et les témoins

	DT1	Témoins	P value	Significativité
<i>TG (g/l)</i>	1,06±0,06	0,73±0,05	0,0001	***
<i>CT (g/l)</i>	1,69±0,06	1,47±0,04	0,028	*
<i>HDLc (g/l)</i>	0,43±0,01	0,39±0,01	0,293	NS
<i>LDLc(g/l)</i>	1,10±0,05	0,94±0,04	0,021	*

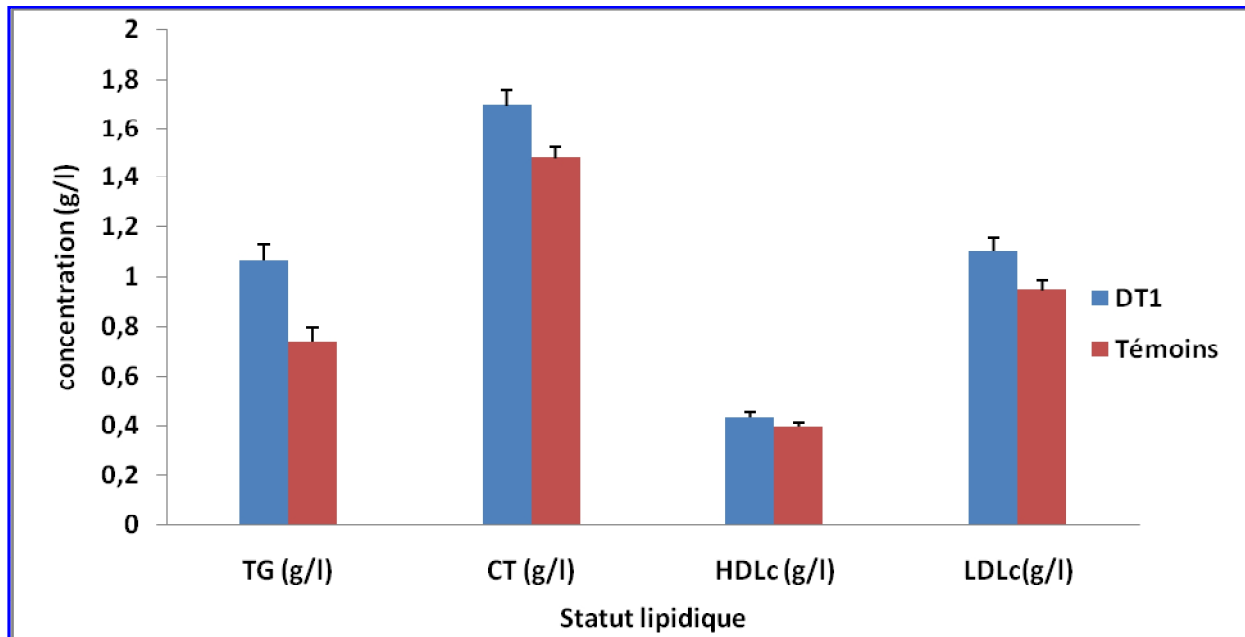


Figure 19 : Evaluation évaluation du statut lipidique chez les diabétiques detype1 et les témoins. La différence est significativement marquée à ($*p<0.05$); très significative à ($**p<0,01$) ; hautement significative à ($***p<0,001$) et la différence n'est pas significative à ($p>0.05$) vs témoin.

Selon la figure 19 et le tableau VII, la comparaison entre les moyennes de triglycérides des DT1 et des témoins, nous observons que les moyennes des taux de triglycérides appartiennent aux normes [0,5-1,5] (g/l) avec des valeurs moyennes de $1,06\pm 0,06$ et $0,73\pm 0,05$ (g/l). Nous constatons aussi qu'il existe une différence hautement significative vs les témoins ($p=0,0001$).

Aussi, nous observons un taux équilibré du cholestérol chez les DT1 avec une valeur moyenne de $1,69\pm 0,06$ (g/l) et $1,47\pm 0,04$ (g/l) chez les témoins. La différence est non significative ($p=0,028$) vs les témoins.

Nous remarquons que le taux du HDL est équilibré chez les DT1 avec des valeurs moyennes de $0,43\pm 0,01$ (g/l) et de $0,39\pm 0,01$ (g/l) chez les témoins. La différence est non significative entre DT1 et les témoins ($p=0,293$).

Nos résultats montrent que le taux du LDL est équilibré chez les DT1 avec des valeurs moyennes de $1,10\pm 0,05$ (g/l) et de $0,94\pm 0,04$ (g/l) chez témoins. La différence est non significative entre DT1 et les témoins ($p=0,021$).

Selon **DUVILLARD (2003)**, les patients diabétiques ou chez ceux présentant un syndrome métabolique, le taux plasmatique des LDL reste normal, bien que leur catabolisme soit en réalité ralenti. De ce fait, leur temps de résidence plasmatique est augmenté, ce qui les rend d'autant plus athérogènes. Ceci pourrait être dû à la baisse du nombre des récepteurs LDL qui semble être secondaire à la carence en insuline, celle-ci induisant l'expression des récepteurs LDL (**CHAIT, 1979**). De plus, on a montré que le traitement par insuline des diabétiques de type 2 permet de retrouver un nombre de récepteurs LDL normal (**DUVILLARD, 2003**)

II.3.2. Statut de la fonction rénale

Sachant que le rein est l'organe le plus atteint dans les complications de la HTA et joue un rôle déterminant dans la physiopathologie de la HTA. Le principal paramètre sérique de la fonction rénale que nous avons évaluée est la créatinine. Les résultats de ce paramètre sont répertoriés dans le tableau VIII et représenté par la figure 20.

Tableau VIII: Evaluation du statut de la fonction rénale chez les DT1 et les témoins

	DT1	Témoins	P value	Significativité
<i>créatinine (mg/l)</i>	8,26±0,28	7,78±1,79	0,079	NS
<i>urée (g/l)</i>	0,25±0,01	0,19±0,06	0,0001	***

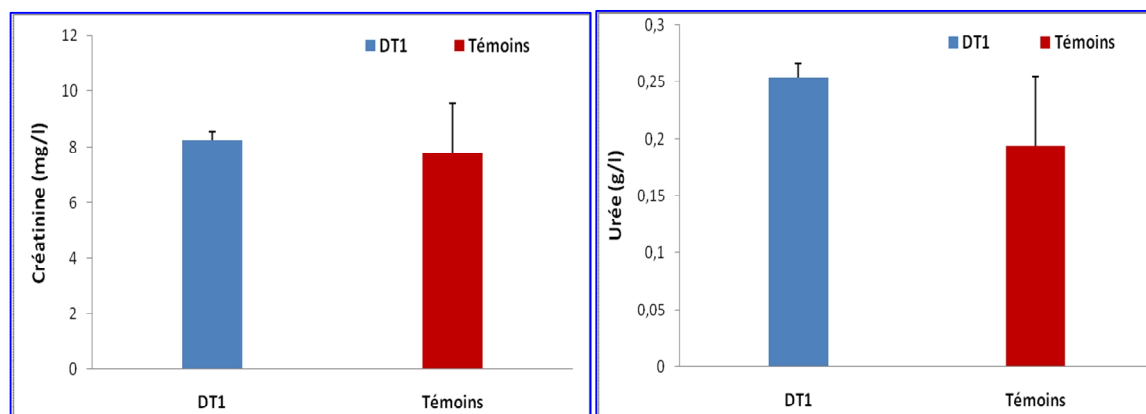


Figure 20 : Evaluation de la fonction rénale chez les diabétiques de type 1 et les témoins. La différence est significativement marquée à ($*p < 0.05$); très significative à ($**p < 0,01$) ; hautement significative à ($***p < 0,001$) et la différence n'est pas significative à ($p > 0.05$) vs témoin.

La figure 20 et le tableau VIII illustrent que les sujets DT1 présentent un taux moyen d'urée de $0,25 \pm 0,01$ (g/l) alors que les sujets témoins ont une valeur moyenne de $0,19 \pm 0,06$ (g/l). Pour la créatinine, les sujets DT1 présentent une valeur moyenne de $8,26 \pm 0,6$ (mg/l) alors que les sujets témoins sont caractérisés par une valeur moyenne de $7,78 \pm 0,24$ (mg/l). Les résultats de l'urémie présentent une différence significativement marquée ($p=0,0001$) vs témoin. Cependant la créatinémie obtenue ne présente aucune différence significative vs les témoins ($p>0,05$).

Les reins exécutent des fonctions cruciales qui touchent toutes les parties de l'organisme. Ils ont vraiment la fonction d'agir comme un filtre, lorsque les petits vaisseaux des reins sont endommagés, à cause de l'hyperglycémie chronique, le filtre n'est plus capable d'assurer ses fonctions, les déchets s'accumulent donc dans le sang cela conduit à la diminution de la fonction rénale (**DUTILLAC, 2002**).

D'après les résultats obtenus au cours de notre travail, la majorité des diabétiques de type 1 ne présentent pas des complications rénales. Nous avons constaté la présence d'une urémie chez les patients diabétiques de type 1 vs témoins avec une valeur $<0,55$ mg/l. La différence observée entre la population des diabétiques de type 1 et la population témoin n'est pas significative.

Selon **LEVEY (1990)**, les diabétiques de type 1 ne présentent pas de risque d'atteinte rénale quand les reins éliminent l'essentiel de l'urée, qui est donc évacuée dans les urines. Cependant, plusieurs études ont montrés qu'un meilleur équilibre glycémique a diminué le nombre de patients en insuffisance rénale terminale.

La concentration plasmatique de la créatinine est le marqueur biochimique de la fonction glomérulaire le plus simple et le plus fiable (**MARCHALL et BANGERT, 2005**).

Concernant le taux de la créatinémie, l'observation d'un taux équilibré de la créatinine chez les diabétiques de type 1 vs témoins, n'implique pas nécessairement une fonction rénale normale bien qu'une augmentation créatinine plasmatique traduise généralement une altération de la fonction rénale (**MARCHALL et BANGERT, 2005**).

II.3.3. Statut de la fonction hépatique

Les transaminases ALAT (alanine aminotransférase) ou GPT (glutamate pyruvate transférase), Les transaminases ASAT (aspartate aminotransférase), ou GOT (glutamate oxaloacétate transférase), constituent l'essentiel du bilan hépatique dans cette étude. Les résultats du dosage des paramètres représentant la fonction hépatique sont répertoriés dans le tableau IX et représentés par la Figure 21.

Tableau IX : Evaluation du statut de la fonction hépatique chez les DT1 et les témoins

	DT1	Témoins	P value	Significativité
ASAT(UI/l)	18,19±0,67	20,86±0,97	0,010	*
ALAT(UI/l)	28,04±1,09	18,53±1,29	0,0001	***

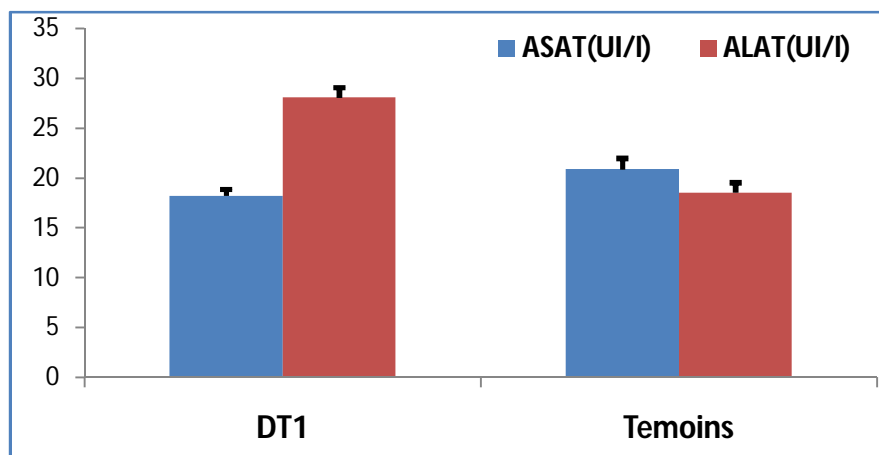


Figure 21: Evaluation de la fonction hépatique chez les diabétiques de type 1 et les témoins. La différence est significativement marquée à ($*p < 0,05$); très significative à ($**p < 0,01$); hautement significative à ($***p < 0,001$) et la différence n'est pas significative à ($p > 0,05$) vs témoin.

L'évaluation du statut de la fonction hépatique montre que toutes les valeurs obtenues dans nos résultats, rentrent dans la fourchette des normes internationales. Cependant, il existe une différence significative de l'ASAT par rapport aux témoins ($p = 0,010$) alors que pour l'ALAT, elle se trouve hautement significative ($p = 0,0001$). Nos résultats montrent aussi que la fonction hépatique n'est pas altérée chez notre population.

Le dosage de ALAT, ASAT, est nécessaire pour le diagnostic et la surveillance de toutes les maladies impliquant directement ou indirectement le foie, d'origine infectieuse (hépatites virales,...etc.), toxique (médicamenteuses, alcool,...etc.), traumatique, auto-immune, cancéreuse,...etc. Il permet de comprendre le mécanisme de l'atteinte du foie en repérant les différents syndromes dont les principaux sont l'insuffisance hépatique, la cytolyse, la cholestase (avec ou sans ictère) et l'inflammation. C'est dans ce cadre que nous nous sommes intéressés à ce statut.

Néanmoins, une augmentation de l'activité sérique des transaminases ne reflète pas toujours une cytolyse hépatique. Le dosage de l'ALAT interroge essentiellement les pathologies du foie et du muscle. En effet son évaluation se retrouve principalement dans l'infarctus du myocarde, l'embolie pulmonaire et les myopathies. Dans la stéatose hépatique non alcoolique le rapport ASAT/ALAT est inférieur à un. Le degré d'évaluation des transaminases est proportionnel à l'IMC où on trouve souvent une hyperglycémie, une dyslipidémie et/ ou une hyperuricémie. (**MELANGE, 2001**). Aussi, il semble que la bilirubine est capable de piéger ROO[•] et l'oxygène singulet. Et de ce fait, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires. De plus, le fer et la ferritine sont considérés comme des marqueurs dans l'évaluation du stress oxydant (**HALLENG *et al.*, 2007**).

Conclusion

CONCLUSION

Un état de stress à été toujours d'écrit dans le cas du diabète. Il s'agit d'un déséquilibre entre la production d'espèce réactive de l'oxygène(ERO). La peroxydation lipidique permet d'estimer cet état de stress.

L'étude réalisée avait pour but d'estimer la peroxydation lipidique chez le diabétique de type1 par le dosage de malondialdéhyde plasmatique (MDA) et d'étudier sa relation avec les troubles du métabolisme lipidique et glycémique. Aussi, d'explorer les troubles métaboliques par les différents statuts anthropométriques, hémodynamiques et biochimiques.

A partir de nos résultats, nous avons conclu que :

- Le moyen d'âge des diabétiques de type 1 est de $36,54 \pm 1,97$ qui survient chez l'individu jeune avec une prédominance féminine.
- L'indice de masse corporelle indique que les patients diabétiques de type 1 présentent un surpoids.
- L'évaluation de la concentration de MDA montre une élévation remarquable chez les DT1 par rapport aux témoins.
- L'étude de paramètres biochimiques montre une hyperglycémie élevée chez les diabétiques de type 1 et un taux remarquable de Hémoglobine glyquée qui sont les facteurs déterminants pour le diabète de type 1. Cependant, nous n'avons enregistré aucune particularité sur le bilan lipidique.
- Des corrélations faiblement positives sont observées entre la concentration du MDA et la glycémie à jeun, peptide C, insuline, LDLc, triglycérides et des corrélations négatives entre le MDA et l'hémoglobine glyquée, HDLc.
- En perspective, nous pouvons proposer :

-D'élargir l'échantillonnage de la population témoin pour avoir une norme de des taux de MDA chez la population algérienne.

-Explorer les valeurs des taux de MDA chez les diabétiques associées à des rétinopathies, néphropathie, et rétinopathie.

-Cette étude pourrait aussi être renforcée par un échantillonnage plus important de la population diabétique, et un dosage des autres paramètres du stress oxydant notamment la catalase.

Références

Bibliographiques

A

- **AKKUS I., KALAK S., VURAL H., CAGLAYAN O., MENEKE E., CAN G. et DURMUS B., 1996-** Leukocyte lipid peroxidation, su-peroxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta.*, 244: 221–227.
- **ALDDAFARI MOUDJAHID S., 2011-** Etude du Polymorphismes Génétique du Diabète de Type 1 dans la Population de l'Ouest Algérien (INS-VNTR & CTLA-4). Mémoire Magister En GENETIQUE MOLECULAIRE HUMAIN ET SANTE UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD-TLEMCEM ., PP : 1-66.
- **ANDREELLI F. JACQUIER D., KEUFER F., 2006-** Propriétés anti-inflammatoires de l'insuline chez les patients en réanimation : Anti-inflammatory effect of insulin in critically ill patients. Société de réanimation de langue française. Elsevier Masson SAS., 15 : 467–473.
- **ARAGNO M., TAMAGNO E., GATO V., BRIGNARDELLO E., PAROLA S., DANNI O. et BOCCUZZI G., 1999-** Dehydroepiandrosterone protège des tissus des rats streptozotocin-streptozotocin-treated contre l'effort oxydant. *Radic libre. Med de Biol.*, 26 (12): 1467-1474.
- **ARBOUCHE LEZOUL Z., 2007-** les effets du traitement substitutif post ménopausique chez les diabétiques type 2, sur le métabolisme des lipoprotéines et les métabolismes glucidiques. Université d'ALGER .thèse doctorat. PP 1-241.
- **Association Américaine de diabète (ADA). , 2005-** diagnostic et classification de diabète sucré. *Soin de diabète.*, 28 (1) : 37-43.

B

- **BAALBAKI L., 2013-** Les traitements innovants du diabète de type 1 : Focus sur la greffe des îlots de Langerhans. Université Joseph Fourier Faculté de Pharmacie de Grenoble. Thèse doctorat. PP 1-132.
- **BACH J.F., 2003-** Prévenir et guérir le diabète insulino-dépendant : Prevent and cure insulin-dependent diabetes. *Pathologie Biologie.*, 51 : 151–155.

- **BAE Y.S., KANG S.W., SEO M.S., BAINES I.C., TEKLE E., CHOCK P.B. et RHEE S.G., 1997-** Epidermal growth factor (EGF)-induced of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem.*, 217-221.
- **BETTERIDGE D.J., 2000-** What is oxidative stress? *Metabolism.*,49 (2): 3–8.
- **BOITARD Ch. et MALLONE R., 2010-** Diabète de type 1 : Vers de nouveaux biomarqueurs .MÉDECINE-SCIENCES FLAMMARION. ACTUALITÉS NÉPHROLOGIQUES., PP 31-41.
- **BONNEFOND-ROUSSELOT D., 2002-**Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, 5:561-568.
- **BONNEFONT-ROUSSELOT D., BEAUDEUX J.-L., THEROND P., PEYNET J., LEGRAND A. et DELATTRE J., 2004-** Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. Edition : Elsevier Masson., *Annales Pharmaceutiques Françaises.*, 62(3): 147-157.
- **BOUHOURS-NOUET N. et COUTANT R., 2005-** Clinique et diagnostic du diabète de l'enfant. EMC (Elsevier SAS, Paris), *Pédiatrie/Maladies infectieuses.*, 4-059-K-10.
- **BOUGLE A. et ANNANE D. 2009-**Les effets de l'insuline : de la cellule β à l'organisme entier. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation Elsevier Masson SAS.*, 28 : 193–199.
- **BOUZIDI-BEKADA N., 2012-** Effet d'une supplémentation en oméga 3 sur la dyslipidémie, le statut redox et quelques marqueurs de l'inflammation chez des patients atteints d'insuffisance rénale chronique. Département de Biologie Faculté des Sciences. Université d'Oran. Algérie., PP 1-133.
- **BROWNLEE M. 2005-** The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes.*, 54: 1615-1625.
- **BUNN H.F. et HIGGINS P.J., 1981-** Reaction of monosaccharide's with proteins: possible evolutionary significance. *Science.*, 213:222-224.

C

- **CAPEAU J. et HERMELI B., 1994-** Métabolisme des glucides et ses méthodes d'exploration chez l'homme. *Endocrinologie-Nutrition.*,10 :361-A-10.
- **CARRERAS M., 2004-** Etat pro/antioxydant en relation avec le métabolisme lipidiques dans les plaquettes sanguines lors du diabète. *Ecole Pratique des Hautes Etudes. France.*, PP : 1-41.
- **CHEVENNE D., et FONFRREDE M.:2001-**Actualité sur les marqueurs biologiques du diabète. *Immunoanal Bio Spéc (ELSEVIER MASSON SAS).*, 16 :215-229.
- **COLAS R., 2010-** Syndrome métabolique et diabète chez l'Homme. Composition lipidique et oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) plasmatiques en relation avec l'activation des plaquettes sanguines. *Université de Lyon- Institut National des Sciences Appliquées de Lyon.*, France., PP 1- 192.

• D

- **DANDONA P., THUSU K., COOK S., SNYDER B., MAKOWSKI J., ARMERSTRONG D. et NICOTERA T., 1996-** Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet.*, 347:444-445.
- **DEKKAR OTMANE M., 2012-**L'EDUCATION THERAPEUTIQUE DU PATIENT DIABETIQUE (PRATIQUES ET MESSAGES EDUCATIFS) (A propos de 100 cas). Thèse doctorat. PP 1-188.
- **DELLATTRE J., BONNEFONT-ROUSSELOT D., BORDAS -FONFREDRE M., JAUDON M.-C ., 1999-** Diabète sucré et stress oxydant. *Annales de Biologie Clinique.*, 57(4) : 437-44.
- **DE MEYTS, P., 2005-** Le récepteur de l'insuline: structure et fonction. *Rev Med Liege.*, 60(6): 286-290.
- **DEVARAJ S., HIRANY Sh., et BURK R., 2001-** Divergence between LDL oxidative susceptibility and urinary F2-isoprostanes as measures of oxidative stress in type 2 diabetes. *Clin Chem.*, 47:1974-1979.

- **DOSSOU Y., ROUDIER C., PENFORNIS A. et FAGOT-CAMPAGNA A., 2013-** Diabète de type 1 en France métropolitaine : caractéristique, risque vasculaire, fréquence des complications et qualité des soins. ENTRED. Journée mondiale du diabète., BEH., PP 37-38
- **DROUIN P., BLICKLE J.F., CHARBONNEL B., ESCHWEGE E., GUILLAUSSEAU P.J., PLOUIN P.F., DANINOS J.M., BALARAC N. et SAUVANET J.P., 1990-** diagnostic et classification du diabète sucre les nouveaux critères, 25(1) : 1- 72.
- **DUBOIS-LAFORGE A. et TIMIS J. 2000-**Diabète de type 1 et environnement. médecine/sciences., 16(10) : 1045-50
- **DUBOIS-LAFORGUE D., 2007-** Étiologie et physiopathologie du diabète de type 1, EMC - Endocrinologie-Nutrition., 10 :366-C-10.
- **DUTILLAC C., 2002-** Physiologie des reins, néphrologie., 20 :13-17.

E

- **EISENBARTH G., POLONSKY K. et BUSE J., 2002-** Type 1 diabetes mellitus. Williams textbook of endocrinology. Philadelphia: WB Saunders.,1485–1505.
- **EISENBARTH G. ZIEGLER A., et COLMAN P., 1994-** Pathogenesis of insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. In: Kahn C, Weir G, editors. Joslin's diabetes mellitus. Philadelphia: Lea and Febiger., PP 216–39.
- **ESTERBAUER H., GEBICKI J., PUHL H. et JURGENS G., 1992-** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Radic Biol Med., 13: 341-390.
- **EVE LAVOIE M., 2012-** Inflammation, stress oxydant, profil métabolique : influence des apports alimentaires et de la dépense énergétique. Thèse présentée à la Faculté de Médecin En vue de l'obtention du grade de Ph.D en nutrition. Université de Montréal., France., PP : 1-326.

F

- **FALL E., 2012-** Apport des modèles de l'autorégulation dans la compréhension de l'adhésion pour les patients diabétiques de type 2 : rôle des représentations, de la motivation et de l'acceptation, thèse de doctorat. Université Blaise Pascal.,PP : 1-11.
- **FAVIER A., 2003-** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique.,108-115.
- **FAVIER A., 2006-** Oxidative stress in human diseases. Ann Pharm Fr. (Elsevier Masson SAS) , 64: 390-396.
- **FEDERATION FOR INTERNET DEVELOPMENT, 2011 -** Atlas du diabète de la FID., url : www.idf.org
- **FRERE M., 2011-** Diabète, physiopathologie et conséquences : diabète, pathophysiologie and implications Kinesither., 118:24-28.

G

- **GALTIER F., 2010-** Diabète gestationnel définition, épidémiologie, facteurs de risque. Edition ELSEVIER MASSON., 39 : S144-s170.
- **GARAIT B., 2006-** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin. Université JOSEPH FOURIER -Grenoble 1 Science-Technologie Santé, France. Thèse doctorat.,PP :1-196.
- **GEENEN V., BRILOT F., LOUIS C., HANSENNE I., RENARD CH., et MARTENS H., 2005-** Nouvelles données sur la pathogénie du diabète du type 1. Rev Med Liège; 60 (6) : 291-296.
- **GREEN A., GALE E.A. et PATTERSON C.C., 1992 -**«Incidence of childhood-onset insulin-dependent diabetes mellitus :the EURODIAB ACE Study.» Lancet., 339(8798):905-9.

- **GRIMALDI A., 2000-** Diabétologie. Questions d'internat- Université Pierre et Marie Curie (Paris VI): 1-142. Disponible à partir de URL : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/diabeto.pdf>
- **GRIMALDI A., 2009 -** Traité de diabétologie. 2^{ème} Edition MEDECINE SCIENCES FLAMMARION.,PP 1-1044.
- **GRIMALDI A., 2012-** Diagnostic du diabète. EMC –Traité de médecine Akos ., 7(3) : 1-5.
- **GOUDABLE J. et FAVIER A., 1997-** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutr Clin Mdtabol ., 11:115-120.
- **GUILLAUSSEAU P.J., 1997-** « Classification and diagnostic criteria of diabetes: propositions of ADA and WHO.» Diabetes Metab., 23(5):454-5.
- **GUTTERIDGE J.M., 1993-** Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. Free Radic Res Commun., 19:141–158.

H

- **HALENG J., PINCEMAIL J., DEFRAIGNE J.O., CHARLIER C. et CHAPELLE J.P. 2007-**Le stress oxydant., 62: (10): 628-638.
- **HALLIWELL B. et WHITEMAN M. 2004-** Whiteman, Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? Br J Pharmacol., 142(2): 231-55.
- **HAMADI N. 2010-** Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de magistère en biologie cellulaire et moléculaire. Université Mentouri Constantine. Algérie., PP : 1-98.
- **HERNEBRING, M., BROLEN, G., AGUILANIU, H., SEMB, H., et NYSTROM, T., 2006-** Elimination of damaged proteins during differentiation of embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A., 103:7700-7705.

I

- **INDRAN M., MED Sc., M. ROKIAH P., CHAN S.P. et KUPPUSAMY U. R., 2004-** Changement de la peroxydation lipidique et des enzyme antioxydant chez des patients Malaysian diabétique insulino-dépendents. *Med J Malisya .*, 59 (2): 166-173.

J

- **JANEUL C., 2003-** Stress oxydant au niveau des plaquettes sanguines humaines dans le contexe du diabète: Etude du glutathion et de glutathion peroxydase 4.Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé, Lyon,France. thèse doctorat., pp : 1-201.

K

- **KAWASAKI E. ABIRU N. et EGUCHI K., 2004-** Prevention of type 1 diabetes: from the view point β of cell damage. *Diabetes Research and Clinical Practice* 66; 27–32.
- **KEBIECHE Med., 2009-** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens L* : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Université Mentouri Constantine, Algérie. Thèse doctorat. PP 1-143.
- **KNIP M. et SILJANDER H., 2008-** Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes. *Autoimmunity Reviews* 7: 550–557.
- **KORSHUNOV S.S., SHULACHEV V.P. et STARKOV A.A.,1997-** High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria *FEBS letters*, 416: 15-18.
- **KUKREJA R. C., KONTOS H. A., HESS M. L. et ELLIS E. F., 1986–** PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH or NADPH. *Circ. Res.*, 59 : 612-619.

L

- **LAIGHT D.W., CARIER M.J. et ANGGARDS E.E., 2000-** Antioxidants, diabetes and endothelial function. *Cardiovasc Res*, 47: 457-464.
- **LEVEY AS., 1990 -** Measurement of renal function in chronic renal disease. *Kidney.*, (38) :167–184.

- **LEMOIL F., MION C. et LEVRAUT J., 2011**-Urgence métabolique de diabète sucré. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris) 25-100-B-10.
- **LYONS T.J., 1991**- lipoprotéines oxydées de faible densité : un rôle dans la pathogénie de l'athérosclérose en diabète ? *Med de Diabet.*, **8**, 411 - 419.

M

- **MAGNAN C., KTORZA A., 2005**-Production et sécrétion de l'insuline par la cellule b pancréatique Production and secretion of insulin by the pancreatic b-cell. EMC-Endocrinologie 2 : 241–264.
- **MALARDE L., 2012**- Activité physique et produits dérivés du soja : intérêts dans la prise en charge du stress oxydant associé au diabète de type 1, Thèse de doctorat. Ecole doctorale Sciences Humaines, Bretagne., PP 1- 211.
- **MARJANI A., 2005**- Plasma Lipid Peroxidation Zinc And Erythrocyte Cu-Zn Superoxide Dismutase Enzyme Activity In Patients With Type 2 Diabetes Mellitus In Gorgan City (South East Of The Caspian Sea). *The Internet Journal of Endocrinology.* 2 (1). DOI: 10.5580/126b.
- **MARSHALL W-J. et BANGERT S-K., 2005**- Biochimie médicale physiopathologie et diagnostic. Paris, 5^{ème} Edition, ELSEVIER SAS., pp 1- 385.
- **MARITIM A.C., SAANDERS R.A. et WATKINS J.B., 2003**- Diabetes, oxidative stress and antioxidants. *J Biochem Mol Toxicol.* 17: 24-38.
- **MAXWELL S. R., THOMASON H., SANDLER D., LEGUEN C., BAXTER M. A., THORPE G. H., JONES A. F. et BARNETT A. H., 1997**- Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest.*, 27: 484-490.
- **MOUSSA S.A., 2008**- oxidative stress in diabetes mellitus., 18(3) : 225–236,

- **MUNIYAPPA R., MONTAGNANI K., KOH. K et QUON M.J. 2007-**
"Cardiovascular actions of insulin." *Endocr Rev.*, 28(5): 463-491.

N

- **NAKAJIMA K., NAKONA T., et TANAKA A., 2006-** The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta.*, 367: 36-47.
- **NIKI E., 2009-** Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med.*, 47: 469-484.

O

- **OHKAWA H., OHISHI N. et YAGI K., 1979-** Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annals of Biochemistry.*, 95: 351- 358.
- **Organisation Mondiale de la Santé.**
- **OLIVIER H., CHRISTOPHE P., 2007-** 10 clés pour comprendre le diabète. Édition PEARSON PRATIQUE. PP: 156.

P

- **PINCEMAIL J., BONJEAN K., CAYEUX K. et DEFRAIGNE J.O., 2002-** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme.*, 16 : 233–239.
- **PERLEMUTER I., SELAM J.L. et COLLIN DE L'HORTET- 2003.** Diabète et maladie métabolique. (4^e)Edition MASSON SAS., PP: 408
- **PEYNET J. BEAUDEUX J.L. LEGRAND A. 2005-** Stress oxydant et athérosclérose. *Immuno-analyse et Biologie spécialisée.*, 21: 312-351.
- **PRE J., 1991–** La lipoperoxydation. *Path. Biol.*, 39 (7): 716-736.

R

- **RACCAH D., 2004-** Épidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré MC-Endocrinologie 1 : 29–42
- **RIANT E. 2009-** effets protecteurs des œstrogènes sur l'insulino-résistance et le diabète de type 2. Université Toulouse III, France. Thèse doctorat. PP : 1-172
- **ROBERTSON R.P., 2004-** effort oxydant chronique comme mécanisme central pour la toxicité de glucose en bêtas cellules d'îlot pancréatique en diabète, *J. Biol. chim.*, , 279 (41), 42351-42354.
- **RODIER M., 2001-** Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique, 25(2): 95-101.
- **ROBINSON L.E., BUCHHOLZ A.C. et MAZURAK V.C., 2007-** «Inflammation, obesity, and fatty acid metabolism: influence of n-3 polyunsaturated fatty acids on factors contributing to metabolic syndrome.» *Appl Physiol Nutr Metab.*, 32(6):1008-24.

S

- **SAAD A., VIRELLA G. et CHASSEREAU Ch., 2006-** OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *J Lipid Res.*, 47 :1975-1983.
- **SPINAS GA. et LEHMANN R., 2001-** Diabète sucré: Diagnostic, classification et pathogénèse. *Forum Med Suisse.*, 20 : 519-525.
- **SPITELLER G., 2003** – Are lipid peroxidation processes induced by changes in the cell wall structure and how are these processes connected with diseases? *Med. Hypotheses.*, 60 (1) : 69-83.

T

- **TOURNANT F., HEURTIER A. et BOSQUET F., 1998-** Classification du diabète sucré. Critères diagnostiques et dépistage. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Endocrinologie-Nutrition*, 10-366-A-10, 13 p.
- **TRIBE R.M. et POSTON L., 1996-** Oxidative stress and lipids in diabetes: a role in endothelium vasodilator dysfunction ? *Vasc Med* ; 1 : 195-206.

- **TRINDER P.N 1969-** Annale clinique biochimique., 6, 24.
- **TRIVIN F. et CHEVENNE D., 1999-** Produits de Maillard et complications chroniques du diabète sucré. Annales de biologie clinique, 57(4):445-454, édition John Libbey.
- **TRIVIN T., CHEVENNE D. et HAUTECOUVERTURE M., 1999-** Produits de Maillard et complications chroniques du diabète sucré. Ann Biol Clin; 57: 445–454.

V

- **VALDIGUIE P., 2000-**Biochimie clinique .2^e édition. PP 1-340.
- **VICHOVA Z., DELANNOY B., ROBERT J-M., LEHOT J-J. et QUADIRI T., 2009-** Sujet à risque diabétique. . EMC (Elsevier Masson SAS, Paris) Médecine buccale. 28-855-B-M-10.

W

- **WASSMANN S., WASSMANN K. et NICKENIG G., 2004-** Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. Hyperten., 44: 381-386.
- **WEI Y.H., 1998-** Oxidative damage and mutation to mitochondrial DNA and age dependent decline of mitochondrial respiratory function. Ann N Y Acad Sci., 854: 155-70.
- **WONG S.F., SIEW L.K. et WEN L., 2008-** CD8+ t-cells and their interaction with other cells in damage to islet β -cells *BIOCHEM. Soc. Trans.*, 36: 316-320. Clinical DIABETES., 20: 183-91.

Y

- **YU B.P., 1994-** Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev., 74(1): 139-62.

Annexes

- **ANNEXE I**

- **🚪 Matériel utilisé**

- Micropipettes de 1000 µl, 500 µl, 100 µl, 50 µl, 10 µl
 - Congélateur à – 80
 - Réfrigérateur à + 4
 - Balance de précision (RADWAG PS 210/C/2)
 - Bain marie (SELECTA)
 - Vortex (VWR VV3)
 - Centrifugeuse de paillasse (Hettich EBA20)
 - Spectrophotométrie (SHIMADZU UV-1601)
 - Spectrophotométrie de biochimie (BA-88A)

- **🚪 Réactifs**

- Kit pour glucose
 - Kit pour l'hémoglobine glyquée A1c
 - Kit cholestérol
 - Kit triglycérides
 - Kit HDL
 - Kit pour l'urée
 - Kit pour la créatinine
 - Kit pour Aspartate Amino-transférase ASAT (GOT)
 - Kit pour Alanine Amino-transférase phosphate de pyridoxal ALAT (GPT)

• ANNEXE II

 Questionnaire

INFORMATIONS PERSONNELS

Nom Prénom :

Sexe : H ou F

Age :

Résidence :

Médecin traitant :

Externe : ou Hospitalisé :

Hôpital :

Service :

INFORMATIONS CLINIQUES :

- Type de diabète suspecté : Type1 LADA
- Etiologie du diabète : connu non connu
- Age de début du diabète:
- Durée du diabète :
- IMC (Kg/m²) : Poids=..... taille=.....
- Tension artériel : PAS=..... PAD=..... FC=.....
- Traitement actuel :

CRITERES D'INCLUSION :

- Début explosif rapide
- Acidocétose inaugurale ; Autres :
- syndrome cardinal (polyurie , polydipsie , amaigrissement)
- HbA1c \uparrow glycémie \uparrow
- Troubles cardiaques Trouble de la vision

Evolution des valeurs de la glycémie :

1^{ère} mesure : 2^{ème} mesure : 3^{ème} mesure :

COMPLICATIONS :

- Néphropathie Neuropathie Rétinopathie Microangiopathie Macroangiopathie

PATHOLOGIE AUTO-IMMUNE ASSOCIEES :

Bilan :

Statut glycémique :

Glycémie à jeun =....., **HbA1c**=..... **PipC**=.....
insuline=.....

Statut lipidique :

TG=..... ; **CT**=..... ; **HDLc**=..... ; **LDLc**=.....

Statut rénal :

Créatinine=..... ; **Urée**=.....

Statut hépatique :

ASAT =..... **ALAT** =.....

ANNEXE III

Composition des réactifs

❖ Glucose

➤ Réactifs 1 (Tampon)

Tampon tris, PH=7.....	100 mmol/l.
Phénol.....	0.3 mmol/l.

➤ Réactif 2 (Enzymes)

Glucose oxydase.....	10 000 U/l.
Péroxydase (POD).....	1000 U/l.
Amino-4-antipyrine.....	2.6 mmol/l.

➤ Réactif 3 (Standard)

Etalon (glucose).....	100 mg/dl.
Etalon (glucose).....	1 g/l.
Etalon (glucose).....	5.56 mmol/l.

❖ Hémoglobine glyqué (HBA1c)

➤ Réactif 1

Phosphate de potassium.....	50 mmol/l.
Détergent pH 5.....	5 g/l.
Azoture de sodium	0,95 g/l.

➤ Réactif 2

Un tampon de phosphate pH6, 5.....	30 mmol/l.
Azoture de sodium	0,95 g/l.

➤ Réactif 3

Un tampon de phosphate pH6, 5.....	72 mmol/l.
Azoture de sodium.....	0.95 g/l.

➤ Microcolonne

Contiennent une quantité pré-poids de résine équilibrée avec

Du tampon du phosphate pH 6, 5	72 mmol/l.
Azoture de sodium.....	0,95 g/l.

❖ Cholestérol total

➤ Réactif 1 (tampon)

PIPES, pH 6,9.....	90 mmol/L.
Phénol	26 mmol/L.

➤ Réactif 2 (enzymes)

Cholestérol estérase (CHE).....	300 U/L.
Cholestérol oxydase (CHOD).....	300 U/L.
Peroxydase (POD).....	1250 U/L.
4-Aminophenazone (4-AP)	0,4 mmol/L.

➤ Réactif 3 (standard)

Etalon(CT).....	200mg/dl.
-----------------	-----------

❖ Triglycérides

➤ Réactif 1(tampon)

GOOD, pH=7,5.....	50 mmol/L.
p-Chlorophénol	2 mmol/L.

➤ Réactif 2 (Enzymes)

Lipoprotéine lipase (LPL).....	150000U/L.
Glycérolkinase (GK).....	500 U/L.
Glycérol-3-oxydase (GPO)	2500 U/L.
Péroxydase (POD).....	440 U/L.
4-Aminophenazone (4-AP).....	0,1 mmol/L.
ATP.....	0,1 mmol/L.

➤ Réactif 3

Standard.....	200 mg/dL.
---------------	------------



❖ **HDL-c**

➤ **Réactif 1**

Phosphotungstan.....	14mmol /l
Chlorure de magnésium.....	2mmol/l

Réactif 2 : réactif de cholestérol

➤ **Réactif 2 (enzymes)**

Phosphate	35 mmol/l.
Cholestérol estérase.....	> 0,2 U/ml.
Cholesterol oxydase.....	1 U/ I.
Peroxydase.....	> 0,8 U/I.
4-Aminoantipyrine.....	0,5 mmol/l.
Diclorophénol sulfate.....	4 mmol/l.

➤ **Etalon de cholestérol (15 mg/dl)**

❖ **Urée plasmatique**

➤ **Le réactif 1(Tompon)**

Phosphate pH 6,7.....	50mmol/L.
EDTA.....	2 mmol/L.
Salicylate de sodium.....	400mmol/L.
Nitroprussiate de sodium.....	10 mmol/L.

➤ **Le réactif 2**

Hypochlorite de sodium (NaClO)	140 mmol/L.
Hydroxyde de sodium.....	150 mmol/L.

➤ **Le réactif 3(Enzyme)**

Uréase	30 000 U/L.
Etalon (Urée)	50mg/dL.



❖ **Créatinine plasmatique**

➤ **Réactif 1**

Acide picrique (PIC)17.5 mmol/l

Réactif2

Hydroxyde de sodium (NaOH).....0.29 mol/ l

Etalon(créatinine).....2 mg/dl.

❖ **Les transaminases**

🚫 **Aspartate Amino-transférase ASAT (GOT)**

➤ **Le réactif 1 (Substrat TGO)**

Tampon phosphate pH 7,5.....85 mmol/l

Aspartate200 mmol/l

α cétooglutarate2 mmol/l

➤ **Le réactif 2**

Réactif de coloration 2,4 dinitrophénylhydrazine1 mmol/l

➤ **Le réactif 3**

Étalon pyruvate

🚫 **Alanine Amino-transférase phosphate de pyridoxal ALAT
(GPT)**

➤ **Le réactif 1 (Substrat TGP)**

Tampon phosphatepH 7, 5 95 mmol/l

Alanine.....200 mmol/l

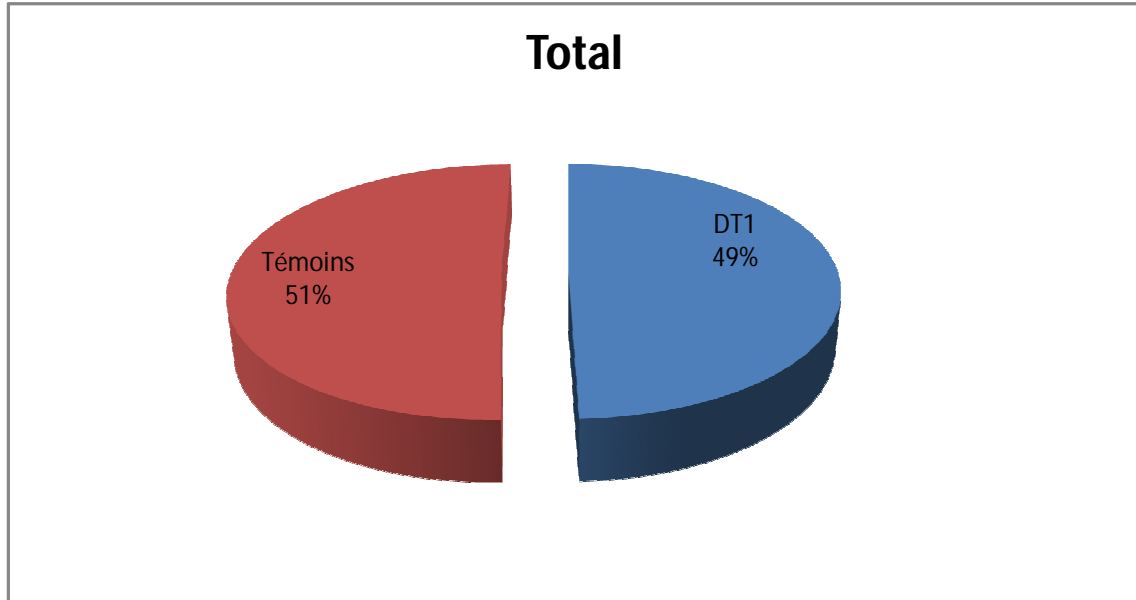
α cétooglutarate2 mmol/l

➤ **Le réactif 2**

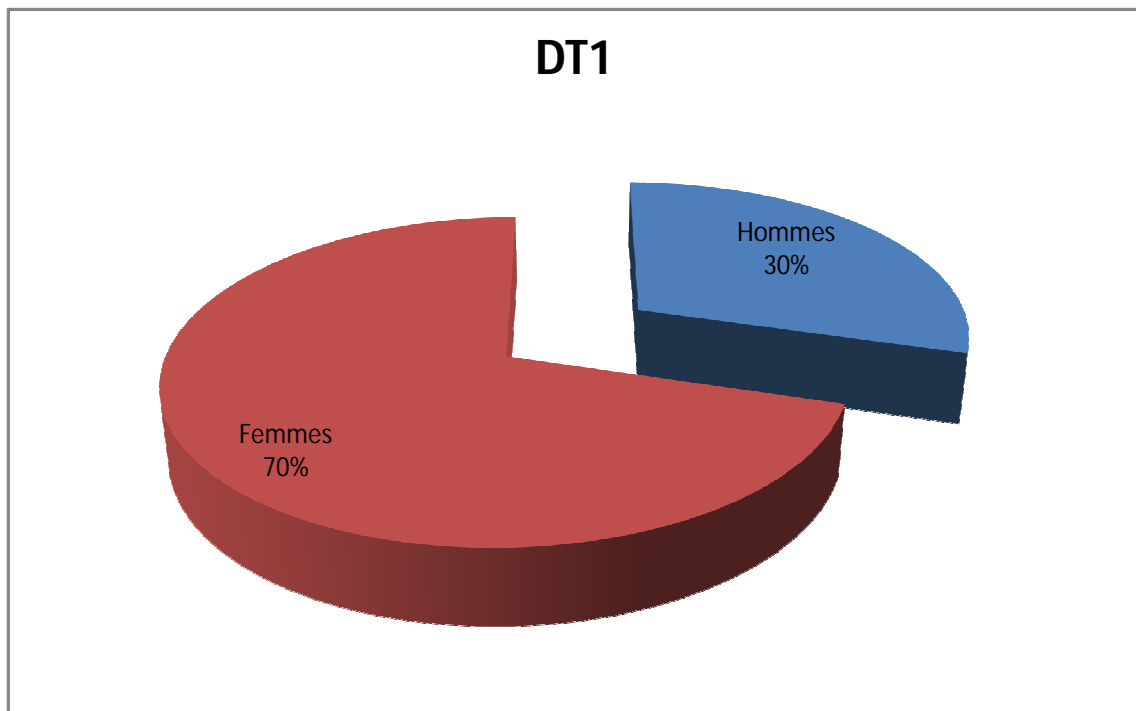
Réactif de coloration 2,4 dinitrophénylhydrazine1 mmol/l

➤ **Le réactif 3**

ANNEXE IV

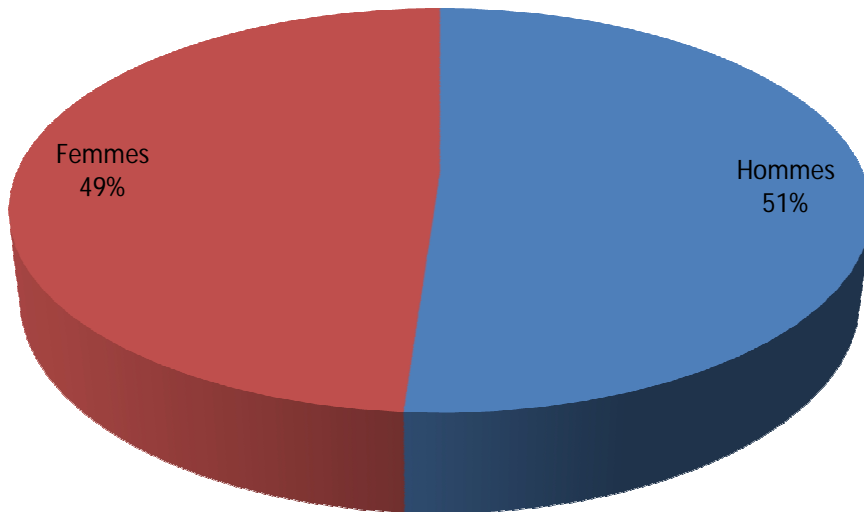


Répartition des sujets étudiés selon l'état de santé et le type de diabète



Répartition des diabétiques de type 1 selon le sexe

Témoins



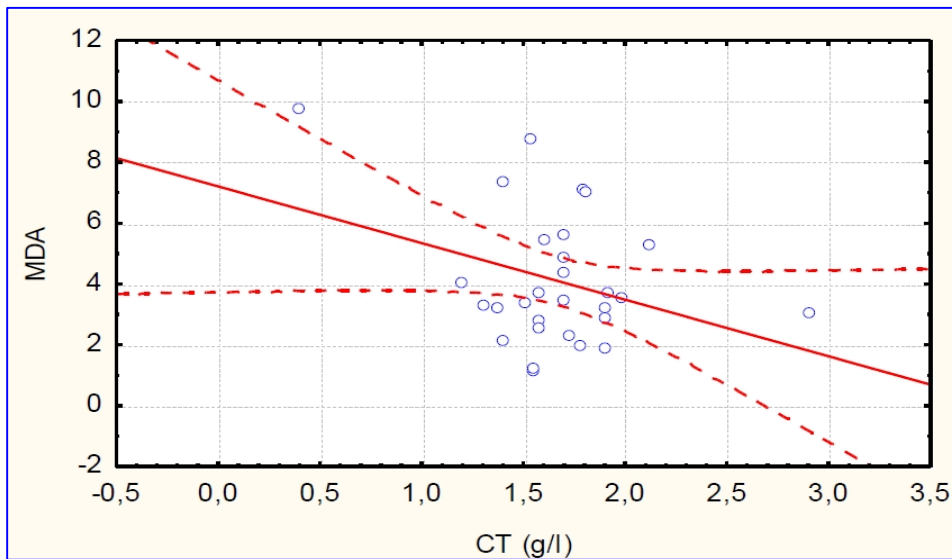
Répartition des témoins selon le sexe

ANEXE V

Corrélation MDA et les statuts glycémique et lipidique chez les diabétique de type1

$$\text{MDA} = 7,2049 - 1,860 * \text{CT (g/l)}$$

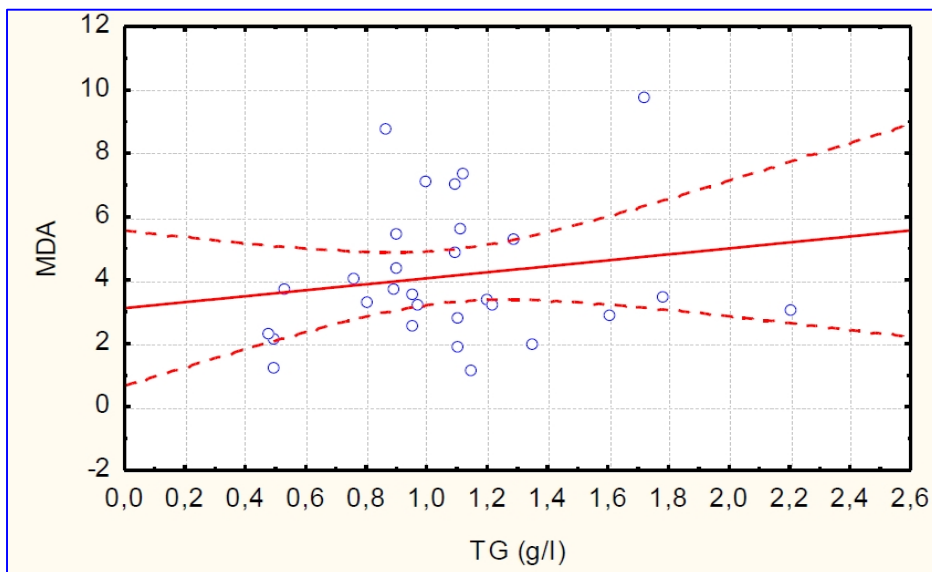
Correlation: $r = -,3387$



Corrélation MDA vs CT chez les diabétiques de type1

$$\text{MDA} = 3,1136 + ,94297 * \text{TG (g/l)}$$

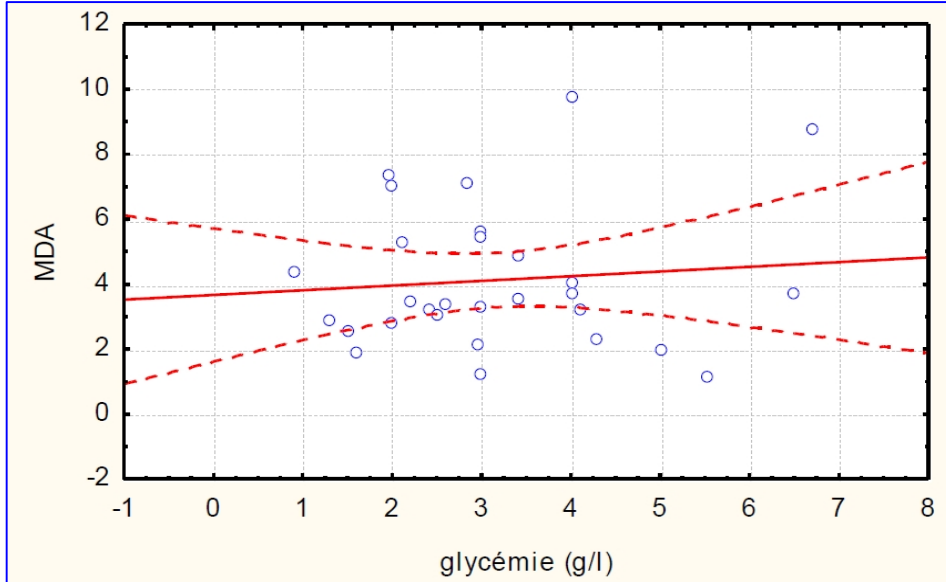
Correlation: $r = ,17061$



Corrélation MDA vs TG chez les diabétiques de type1

$$\text{MDA} = 3,6673 + ,14443 * \text{glycémie (g/l)}$$

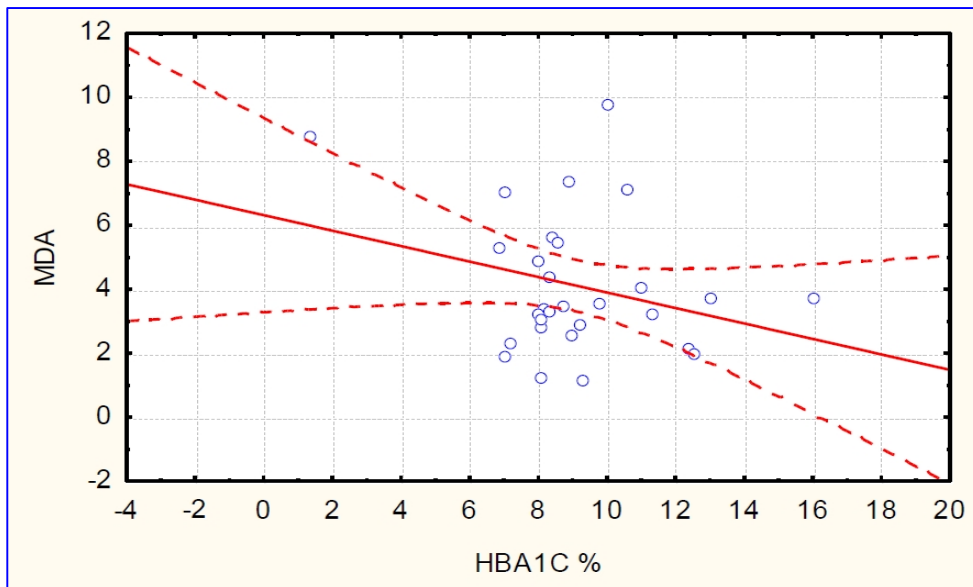
Correlation: $r = ,09622$



Corrélation MDA vs glycémie chez les diabétiques de type1

$$\text{MDA} = 6,3184 - ,2417 * \text{HBA1C \%}$$

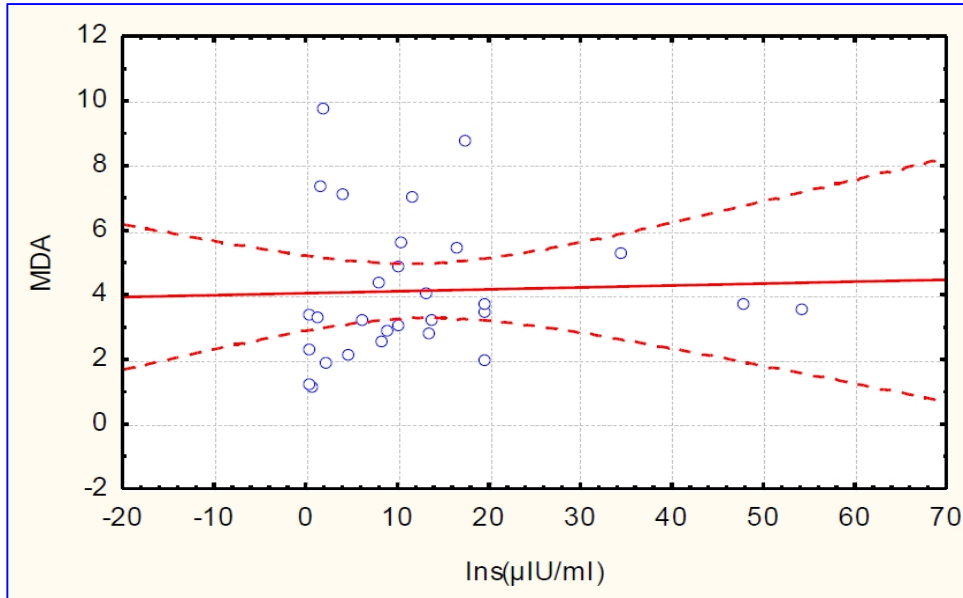
Correlation: $r = -,2846$



Corrélation MDA vs HbA1c chez les diabétiques de type1

$$\text{MDA} = 4,0505 + ,00597 * \text{Ins}(\mu\text{IU/ml})$$

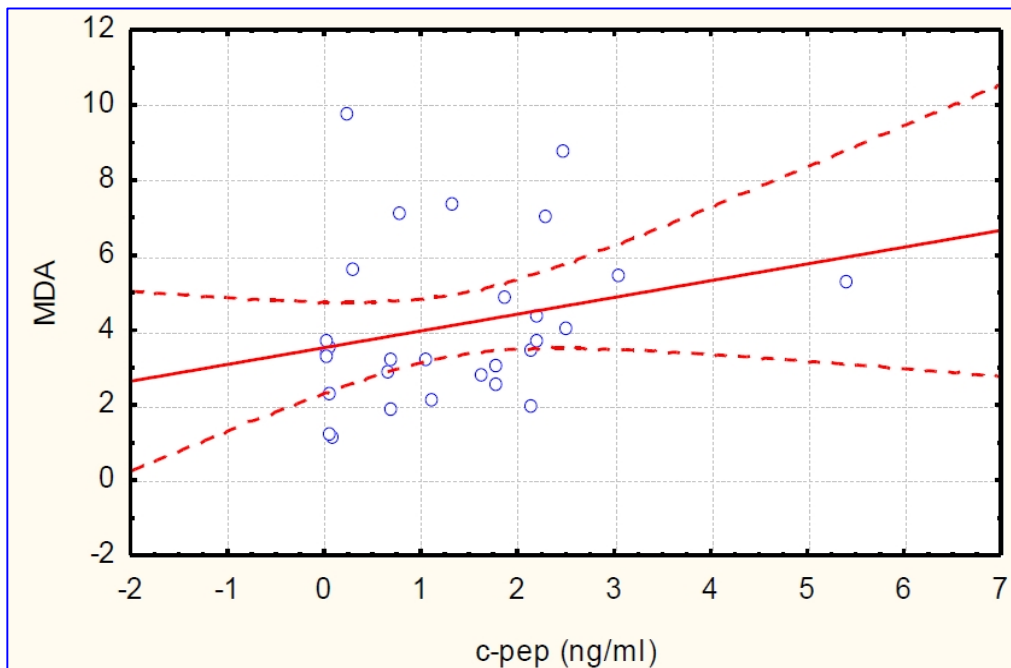
Correlation: $r = ,03652$



Corrélation MDA vs insuline chez les diabétiques de type1

$$\text{MDA} = 3,5307 + ,44654 * \text{c-pep (ng/ml)}$$

Correlation: $r = ,25197$



Corrélation MDA vs peptide C chez les diabétiques de type1

ANNEXE VI

Paramètre sanguins	Normes
Glycémie	[0.70-1.10] g/l
Hémoglobine glyquée	[4.8-6.2]%
Triglycérides	[0.5-1.5] g/l
Cholestérol total	[1.5-2.00] g/l
HDL-c	≥ 0.45g/l
LDL-c	< 1.60 g /l
Urée	[0.10-0.55] g/l
Créatinine	[4-12] mg/l
Peptide C	[0.3 à 1,5] nmol/L
insuline	< 30 mUI/mL
SGPT	Homme : 8 à 35 UI/l Femme : de 6 à 25 UI/l.
SGOT	Homme : de 8 à 30 UI/l. Femme : de 6 à 25 UI/l.