



Université de Tlemcen

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre
et de l'Univers*

Département de biologie

Spécialité : Biologie Moléculaire et Génétique

Thèse

Présentée et soutenue publiquement le 19/07/2020 par

Monsieur Youssouf KACHEKOUCHE

Né le 01/09/1991 à Tlemcen, Algérie

En vue de l'obtention du

Diplôme de doctorat

Thème

***Profil des paramètres sanguins, génétiques et
métaboliques chez des patients diabétiques avec ou
sans pathologie cardiovasculaire***

Jury

Présidente : Mme MEDJATI-DENNOUNI Nouria. MCA, Université de Tlemcen

Examinatrice : Mme BOUKORTT Farida. Professeur, Université d'Oran 1

Examinatrice : Mme ZAHZAH Touria. Professeur, Université de Sidi Bel Abbès

Examinatrice : Mme GUERMOUCHE-BOUAYAD AGHA Baya. MCA, Université de Tlemcen

Directrice de thèse : Mme DALI YUCEF-SAHI Majda. Professeur, Université de Tlemcen

Dédicaces

A mes très chers parents·

A mon cher frère...

A mes chères sœurs...

A mes chère (es) amis (es)...

Aux personnes que j'aime...

A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail·

Remerciements

Je remercie ALLAH, de m'avoir donné la force, le courage et la patience durant ces années d'études, et pendant la réalisation de cette thèse.

Mes remerciements s'adressent

*Spécialement et très chaleureusement à ma directrice de thèse madame **DALI-SAHI Majda** professeur à l'université de Tlemcen pour la confiance qu'elle m'a accordée au cours de la réalisation de ce travail de thèse. Je lui suis très reconnaissant pour sa sympathie, sa disponibilité, ses orientations et ses conseils, ses encouragements, ses corrections et surtout pour sa patience avec nous. Enfin, j'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail doctoral. Je garderai dans mon cœur sa générosité, sa gentillesse et son efficacité et j'espère qu'elle gardera un agréable souvenir de cet encadrement.*

*Plus particulièrement à madame **DENNOUNI-MEDJATI Nouria** maître de conférence à l'université de Tlemcen, D'abord elle ma fait l'honneur d'accepter d'être la présidente de jury de cette thèse. Ainsi pour sa sympathie sa gentillesse son aide, ses orientations et de tous ce qu'elle a apporté durant la réalisation de cette thèse, qu'elle trouve ici le témoignage de mon respect le plus profond et ma sincère gratitude.*

*A madame **BOUKORTT Farida** professeur à l'université d'Oran 1, d'avoir accepté d'être examinatrice dans ce jury. Je suis reconnaissant pour votre investissement dans l'évaluation de ce travail. Veuillez trouver ici, l'assurance de ma profonde admiration.*

*A madame **ZAHZAH Touria** Professeur à l'université de Sidi Bel Abbès. Je vous remercie d'avoir accepté de juger notre travail de thèse en tant qu'examinatrice. Merci pour votre implication très positive. Soyez assurée, de ma profonde reconnaissance.*

*A madame **GUERMOUCHE-BOUAYAD AGHA Baya** maître de conférences à l'université de Tlemcen. D'avoir accepter avec une grande amabilité de faire partie de ce jury pour examiner cette thèse, merci également pour son aide très précieuse. Veuillez y trouver l'expression de mes remerciements les plus sincères.*

*A la mémoire de celui qui m'a toujours encouragé et m'a orienté vers la recherche, notre grand maître **BENMANSOUR DJAMEL** professeur à l'université de Tlemcen. Ses tests statistiques et ses interprétations ne meurent jamais. Paix à son âme.*

*A monsieur **HAREK Yahia** professeur à l'université de Tlemcen, directeur du laboratoire de Chimie Analytique et d'Electrochimie, de l'université de Tlemcen, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, et son aide pour la réalisation des travaux de recherche.*

*A monsieur **Abderahim MEZIANE** professeur chef de service de cardiologie de CHU de Tlemcen, et à toute l'équipe du service Cardiologie.*

*Une partie de ce travail a été réalisée en collaboration avec l'Unité Fonctionnelle de Toxicologie au CHU de Lille. Je remercie chaleureusement le professeur **Delphine ALLORGE** responsable de l'unité, je tiens à vous remercier pour votre collaboration. Recevez madame mon profond respect.*

*Au Docteur **Benjamin HENNART** chercheur au sein de l'Unité Fonctionnelle de Toxicologie au CHU de Lille pour sa participation très efficace dans cette collaboration. Je vous adresse mes sincères remerciements.*

*A madame **Hayet SOUALMIA** professeur à l'institut Supérieur des Technologies Médicales de Tunis, de m'avoir offert la chance de réaliser mon travail de génétique. Cette collaboration scientifique Malgré moi, me fait d'un futur de la biologie moléculaire et génétique au sein de l'espace Maghrébin, je vous remercie pour votre aide ainsi que votre soutien.*

*A monsieur **Maher KHARRAT** professeur à l'université de médecine de Tunis, directeur du laboratoire de Génétique Humaine, pour son accueil chaleureux ses encouragements de poursuivre le travail et plus particulièrement pour sa gentillesse, qu'il trouve ici ma sincère gratitude.*

*A toute l'équipe du laboratoire de Génétique Humaine de la faculté de médecine de Tunis, et plus particulièrement au Docteur **Asma TAJOURI**, au Docteur **Imen FERCHICHI**, à **Hayet ZEGGAR**, à **Nesrine KERKENI** et à **Ons Azaiez**.*

Mes Remerciements les plus sincères vont aussi à l'ensemble du personnel du laboratoire de Chimie Analytique et d'Electrochimie, université de

Tlemcen· A mes ami(e)s pour les moments inoubliables et la bonne ambiance de travail·

Enfinement je voudrais remercier tous mes professeurs depuis l'école primaire jusqu'à l'université·

Résumé

L'étude entreprise a permis de mettre à jour les paramètres sanguins, génétiques et métaboliques significativement liés au diabète de type 2 dans l'extrême ouest Algérien associant ou non des pathologies cardiovasculaires.

Cette étude a montré un profil de l'hémogramme quasiment changeant chez les patients diabétiques de type 2 de l'extrême ouest Algérien.

Les paramètres hématologiques significativement associés au diabète de type 2 sont le taux des basophiles, le VGM, la CCMH, le taux des plaquettes et la vitesse de sédimentation à une heure ($p < 0,05$).

Le bilan lipidique montre que le non HDL-C est facteur de risque important du diabète de type 2, de plus, il contribue à l'association entre le diabète de type 2 et le risque de survenue des maladies cardiovasculaires ($p < 0,05$).

Le dosage de l'insuline a montré que les patients diabétiques de type 2 avec une sensibilité réduite à l'insuline sont plus exposés à l'hypertension artérielle ($p < 0,05$).

Une relation entre diabète et cancer a été démontrée. Nos résultats suggèrent que les patients diabétiques traités par metformine ont un risque plus élevé de développer des cancers ($p < 0,05$).

A propos du métabolisme du tryptophane, l'activité d'IDO1 évaluée par le rapport kynurénine sur tryptophane augmente significativement ($p = 0,008$) chez les individus diabétiques avec un épisode cardiovasculaire.

Nos résultats montrent une association entre une augmentation de l'activité de l'IDO1 et l'hyperglycémie ainsi qu'à l'augmentation du cholestérol total circulant chez les diabétiques de type 2 atteints de l'infarctus de myocarde (IDM) ($p < 0,05$).

Nous avons entrepris de vérifier les variabilités génétiques à l'origine des variations d'activité de l'IDO1. L'analyse de polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1 nous a permis de conclure à une absence totale de l'allèle muté T est une dominance totale de l'allèle sauvage C chez la population génotypée pour le SNP C4325T aussi bien chez les patients diabétiques avec IDM (0%) et sans IDM (0%), et donc une dominance totale de l'allèle sauvage C dans notre population.

Mots clés : diabète de type 2, extrême ouest Algérien, maladies cardiovasculaires, paramètres hématologique, non HDL-C, insuline, hypertension artérielle, metformine, cancer, métabolisme de tryptophane, IDO1, polymorphisme rs35099072.

Abstract

The study undertaken made it possible to update the blood, genetic and metabolic parameters significantly linked to type 2 diabetes in the extreme western of Algeria, whether or not it is associated with cardiovascular pathology.

This study showed an almost changing of the hemogram profile in type 2 diabetic patients from the extreme western of Algeria.

Hematological parameters significantly associated with type 2 diabetes are basophilic levels, MCV, MCHC, platelet levels and sedimentation rate at 1 hour ($p<0.05$).

The lipid test shows that non HDL-C is an important risk factor for type 2 diabetes, in addition it contributes to the association between type 2 diabetes and the risk of cardiovascular disease ($p<0.05$).

Insulin measurement has shown that type 2 diabetic patients with reduced insulin sensitivity are at increased risk of arterial hypertension ($p<0.05$).

A relationship between diabetes and cancer has been demonstrated. Our results suggest that diabetic patients treated with metformin have a higher risk for developing cancers ($p<0.05$).

Regarding to tryptophan metabolism, IDO1 activity evaluated by the kynurenin/tryptophan ratio increases significantly ($p=0.008$) in diabetic individuals with a cardiovascular episode.

Our results show an association between an increase in IDO1 activity and hyperglycemia and the increase in total cholesterol circulating in type 2 diabetics with myocardial infarction (MI) ($p<0.05$).

We have undertaken to verify the genetic variability behind the variations in IDO1 activity. The rs35099072 polymorphism of the IDO1 gene analysis allowed us to conclude that there is a total absence of the mutated allele T and a total dominance of the wild allele C in the population genotyped for C4325T SNP both in diabetic patients with MI (0%) and without MI (0%) and therefore is a total dominance of wild allele C in our population.

Keywords: type 2 diabetes, extreme western of Algeria, cardiovascular diseases, hematological parameters, non HDL-C, insulin, arterial hypertension, metformin, cancer, tryptophan metabolism, IDO1, rs35099072 polymorphism.

المخلص

أتاحت الدراسة التي تم إجراؤها تحديث الخصائص الدموية، الوراثة و الأيضية المرتبطة بمرض السكري من النوع 2 في أقصى غرب الجزائر، سواء ربط بأمراض القلب والأوعية الدموية أم لا.

بينت هذه الدراسة تغيرات متباينة في الخصائص الدموية عند مرضى السكري من النوع 2 في أقصى غرب الجزائر.

المميزات الدموية المرتبطة بشكل كبير بمرض السكري من النوع 2 هي عدد الكريات البيضاء القاعدية، ومتوسط حجم الكريات الحمراء، و متوسط التراكيز الجسيمية الهيموغلوبينية، وعدد الصفائح الدموية وسرعة الترسيب خلال ساعة واحدة ($p < 0,05$).

يظهر تقييم الدهون أن الكوليسترول الغير HDL يشكل عامل خطر مهم لظهور مرض السكري من النوع 2، بالإضافة إلى ذلك، فإنه يساهم في الارتباط بين مرض السكري من النوع 2 وأمراض القلب والأوعية الدموية ($p < 0,05$).

أظهر قياس الأنسولين أن مرضى السكري من النوع 2 الذين يعانون من انخفاض حساسية الأنسولين هم أكثر عرضة لارتفاع ضغط الدم ($p < 0,05$).

تم إثبات وجود علاقة بين مرض السكري و السرطان. تشير نتائجنا إلى أن مرضى السكري الذين عولجوا بالميتفورمين هم أكثر تعرضا للإصابة بالسرطان ($p < 0,05$).

فيما يتعلق باستقلاب التريبتوفان، يزداد نشاط أنزيم IDO1 الذي يعبر عنه بنسبة الكينيرين على التريبتوفان بشكل ملحوظ ($p = 0,008$) لدى مرضى السكري الذين يعانون من نوبة قلبية وعائية (احتشاء عضلة القلب).

تظهر نتائجنا وجود ارتباط بين زيادة نشاط أنزيم IDO1 وفرط سكر الدم بالإضافة إلى ارتفاع الكوليسترول لدى مرضى السكري من النوع 2 الذين يعانون من احتشاء عضلة القلب ($p < 0,05$).

تحققنا من التنوع الجيني المسبب لتغيرات نشاط أنزيم IDO1. أتاح لنا تحليل المتغير rs35099072 لمورثة الأنزيم IDO1 استنتاج الغياب التام للأليل الطافر T و الهيمنة الكاملة للأليل السليم C عند السكان الذين أجري لهم التحليل الجيني لتعدد أشكال النيكلوتيدة C4325T، أيضا عند مرضى مرضى السكر من النوع 2 مع احتشاء عضلة القلب (0%) وبدون احتشاء عضلة القلب (0%)، وبالتالي الهيمنة الكلية للأليل السليم C عند هؤلاء السكان.

الكلمات المفتاحية: مرض السكري من النوع 2، أقصى غرب الجزائر، أمراض القلب والأوعية الدموية، الخصائص الدموية، الكوليسترول الغير HDL، الأنسولين، ارتفاع ضغط الدم، السرطان، الميتفورمين، استقلاب التريبتوفان، أنزيم IDO1، المتغير rs35099072.

Production scientifique

Les publications et les communications suivantes sont le résultat du travail de thèse:

1. Publications

1.1. Articles

* **Kachekouche Y**, Dali-Sahi M, Benmansour D, Medjati-Dennouni N. Hematological profile associated with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2018;12:309-312.

Dali-Sahi M, Medjati-Dennouni N, **Kachekouche Y**, Merad Boudia H, Benslama Y, Meziane FZ, Abderahim M. Effet du furosémide et de l'indapamide sur l'équilibre ionique et métabolique des hypertendus diabétiques de type 2. *Médecine Thérapeutique* 2018;24:441-448.

* Dali-Sahi M, **Kachekouche Y**, Medjati-Dennouni N, Nafuye G. Non-HDL Cholesterol predictive factor of type 2 diabetes in the city of Tlemcen. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2019;13:518-521.

* **Kachekouche Y**, Dali-Sahi M, Bendaoud R, Medjati-Dennouni N, Abderahim M. Predictive value of non-HDL cholesterol for cardiovascular disease in a population in far western Algeria with type 2 diabetes. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2019;13:826-829.

Merad Boudia H, Dali-Sahi M, **Kachekouche Y**, Medjati-Dennouni N. Hematologic disorders during essential hypertension. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2019;13:1575-1579.

* Dali-Sahi M, Medjati-Dennouni N, **Kachekouche Y**, Merad Boudia H, Boulenouar H. Association of insulin secretion level on lipid fractions and risk of arterial hypertension. *The Open Hypertension Journal* 2019;11:6-10.

1.2. Communications (proceeding)

Merad Boudia H, **Kachekouche Y**, Dali-Sahi M, Medjati-Dennouni N, Abderahim M. Influence de la polymédication sur l'état nutritionnel des hypertendus. *Nutrition clinique et métabolisme* 2019;33:45.

Dali-Sahi M, Medjati-Dennouni N, **Kachekouche Y**, Merad Boudia H. Évaluation du risque de survenue de la dénutrition chez des sujets diabétiques hypertendus. *Nutrition clinique et métabolisme* 2019;33:54.

2. Communications internationales

Dali-Sahi M, Benmansour D, Salmi T, **Kachekouche Y**, Medjati-Dennouni N. "New molecular tumor markers, hormonal and anthropometric risk factors in breast cancer in Algerian population". 4th International conference on computational and experimental science and engineering, 4-8 October 2017, Antalya, Turkey.

Kachekouche Y, Dali-Sahi M, Belhadj M, Salmi T, Medjati-Dennouni N. "Apport alimentaire et statut en magnésium chez des cardiopathes diabétiques de l'ouest Algérien".

Workshop international sur les sciences de l'agriculture, l'agro-alimentaire et la nutrition, 13-14 Novembre 2018, Tlemcen, Algérie.

Kachekouche Y, Dali-Sahi M, Medjati-Dennouni N, Merad Boudia H, Abderahim M. "La dyslipidémie et risque de dénutrition chez les patients âgés hypertendus". Journées francophones de la nutrition, 28-30 novembre 2018, Nice, France.

Medjati-Dennouni N, Dali-Sahi M, Merad Boudia H, **Kachekouche Y**. "Implication de la vie des kynurénines dans le développement de l'HTA essentielle chez le sujet diabétique". Société francophone du diabète, 26-29 Mars 2019, Marseille, France.

3. Communications nationales

Kachekouche Y, Dali-Sahi M, Salmi T. "Facteurs de risque associés à l'hyperglycémie chez les diabétiques de type 2". Séminaire national de biochimie. 19-20 Juin 2018, Blida, Algérie.

Kachekouche Y, Dali-Sahi M, Salmi T, Dennouni-Medjati N. "Evaluation de l'association de la glycémie et les paramètres hématologiques chez une population diabétique". 15 Décembre 2018, Tlemcen, Algérie.

* Publications présentées dans la thèse

Liste des figures

Figure 1: Situation géographique des zones d'études.....	14
Figure 2: Répartition de la population selon les zones d'études.....	31
Figure 3: Les pathologies associées au DT2.	32
Figure 4: Les trois types des MCV associées au DT2.	33
Figure 5: Fréquences des cancers chez une population diabétique de type 2 de l'ouest Algérien.	36
Figure 6: Répartition des cancers chez les diabétiques selon le sexe.....	37
Figure 7: Types des traitements chez des diabétiques cancéreux.	37
Figure 8: Fréquences alléliques de polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1.....	38
Figure 9: Le premier modèle (insuline).	73
Figure 10: Le deuxième modèle (antidiabétiques oraux).....	73
Figure 11: Tracés de courbes: en noir: modèle 1 ; en rouge: modèle 2.	74
Figure 12: Corrélation entre l'activité de l'IDO1 exprimée par K/T ($\times 100$) et l'ancienneté dans le DT2 chez la population étudiée.	81
Figure 13: Profil de migration électrophorétique des produits de PCR.	91
Figure 14: Profil de migration électrophorétique sur gel d'agarose 2% après digestion enzymatique par <i>Hae II</i>	92

Liste des tableaux

Tableau 1: Conditions optimales choisie pour la PCR.	21
Tableau 2: Site de restriction de l'enzyme <i>Hae II</i>	22
Tableau 3: Mix de la digestion enzymatique par <i>Hae II</i>	23
Tableau 4: Matrice de confusion.	25
Tableau 5: Classe de discrimination en fonction des valeurs de l'AUC.	26
Tableau 6: Données descriptives de la population échantillonnée.	32
Tableau 7: Données sociaux économiques et culturels de la population d'étude.	33
Tableau 8: Caractéristiques glucidiques, lipidiques et rénales de la population étudiée.	34
Tableau 9: Numération globulaire et leucocytaire.	34
Tableau 10: Constantes et indices érythrocytaires.	35
Tableau 11: La vitesse de sédimentation.	35
Tableau 12: Les fractions lipidiques chez des populations diabétiques de type 2 avec et sans cardiopathies.	35
Tableau 13: Indicateurs du métabolisme glucidique chez une population diabétique de type 2.	36
Tableau 14: Données descriptives du catabolisme du Trp chez des sujets diabétiques de type 2 associant une cardiopathie.	38
Tableau 15: Résultats de l'étude de régression logistique.	40
Tableau 16: Résultats de l'étude du modèle de régression logistique.	71
Tableau 17: Résultats de l'étude du modèle de régression logistique.	71
Tableau 18: Tests d'adéquation de l'ajustement.	72
Tableau 19: Mesures d'association: (entre la variable de réponse et les prévisions de probabilité).	72
Tableau 20: Caractéristiques anthropométriques, cliniques et biologiques de la population étudiée.	80
Tableau 21: Distribution des paramètres de catabolisme du Trp selon le sexe.	81
Tableau 22: Résultats de la régression multiple chez la population totale.	82
Tableau 23: Résultats de la régression multiple chez les patients diabétiques de type 2 avec IDM.	82
Tableau 24: Résultats de la régression multiple chez les patients diabétiques de type 2 sans IDM.	83
Tableau 25: Données anthropométriques et cliniques de la population étudiée.	89
Tableau 26: Caractéristiques biochimiques de la population étudiée.	90
Tableau 27: Distribution génotypique et fréquences alléliques du polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1.	93

Liste des abréviations

ADN: acide désoxyribonucléique.

Apo B: L'apolipoprotéine B

AUC: *area under curve*.

AVC: accident vasculaire cérébral.

CCMH: concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

DT2: diabète de type 2.

EDTA: Ethylène Diamine Tétra-Acétique.

HDL-C: lipoprotéine de haute densité.

HOMA-IR: modèle évaluation homéostatique-insulinorésistance.

HTA: hypertension artérielle.

IDL: lipoprotéine de densité intermédiaire.

IDM: infarctus de myocarde.

IDO1: indoleamine 2,3 dioxygénase 1.

IDO2: indoleamine 2,3 dioxygénase 2.

IFCC: la fédération internationale de chimie clinique.

IMC: indice de masse corporelle.

K/T: ratio Kynurénine/Tryptophane.

Kyn: Kynurénine.

LDL-C: lipoprotéine de basse densité.

MCV: maladies cardiovasculaires.

NIH: National institutes of health.

Non HDL-C: cholestérol non HDL.

OMS: organisation mondiale de la santé.

PAD: pression artérielle diastolique.

PAS: pression artérielle systolique.

PCR-RFLP: réaction de polymérisation en chaîne-polymorphisme de longueur des fragments de restriction.

ROC: *receiver operating characteristic*.

SFBC: Société française de biologie clinique.

SNP: *single nucleotide polymorphism*.

TCMH: teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.

TDO2: tryptophane 2,3 dioxygénase 2.

TFP: taux des faux positifs.

Trp: tryptophane.

TVP: taux des vrais positifs.

VGM: volume globulaire moyen.

VLDL-C: lipoprotéine de très basse densité.

Table des matières

PREMIÈRE PARTIE	1
Introduction générale.....	1
1. Introduction générale	2
DEUXIÈME PARTIE.....	13
Matériel et Méthodes	13
1. Population et zone d'étude	14
2. Recrutement des sujets	15
2.1. Les sources de données	15
2.1.1. Le registre du diabète	15
2.1.2. Le dossier médical	15
2.1.3. Le questionnaire	15
2.2. Critères d'évaluation des malades.....	15
2.2.1. Critères d'inclusion	16
2.2.2. Critères de non inclusion	16
2.3. Critères d'évaluation des Témoins.....	16
2.3.1. Critères de non inclusion	16
3. Prélèvement et paramètres étudié	16
3.1. Détermination des concentrations plasmatiques de Trp et de Kyn.....	17
3.2. Extraction de l'ADN par la technique NaCl (<i>Salting out</i>).....	17
3.2.1. Lyse de globules rouges	17
3.2.2. Lyse de globules blancs	17
3.2.3. Précipitation de l'ADN	18
3.2.4. Contrôle de qualité de l'ADN	18
3.3. Etude du polymorphisme rs35099072 du gène de l' IDO1 par PCR-RFLP.....	18
3.3.1. Amplification	19
3.3.1.1. Réactifs	19
3.3.1.2. Optimisation de la PCR	20
3.3.1.3. Réaction PCR	20
3.3.1.4. Vérification des produits de PCR	21
3.3.1.5. Préparation du gel	21
3.3.1.6. La révélation	22
3.3.2. Digestion enzymatique	22
3.3.3. Electrophorèse sur gel d'agarose	23

3.3.4. Révélation au <i>Redsafe</i>	23
4. Données d'association du DT2 et pathologies	23
5. Justification de l'étude.....	24
6. Analyses statistiques.....	24
TROISIÈME PARTIE.....	27
Résultats et Discussion	27
Chapitre 1: Description de la population.....	28
1. Introduction	29
2. Matériel et Méthodes	29
2.1. Analyses statistiques	30
3. Résultats.....	30
3.1. Description de la population	30
3.1.1. Description totale	30
3.1.2. Description Partielle	34
4. Discussion.....	41
5. Conclusion.....	42
Chapitre 2: Hematological profile associated with type 2 diabetes mellitus	43
1. Introduction	44
2. Matériel et méthodes	44
3. Résultats.....	44
4. Conclusion.....	44
Chapitre 3: Non-HDL cholesterol predictive factor of type 2 diabetes in the city of Tlemcen	49
1. Introduction	50
2. Matériel et méthodes	50
3. Résultats.....	50
4. Conclusion.....	50
Chapitre 4: Predictive value of non-HDL cholesterol for cardiovascular disease in a population in far western Algeria with type 2 diabetes	55
1. Introduction	56
2. Matériel et méthodes	56
3. Résultats.....	56
4. Conclusion.....	56
Chapitre 5: Association of insulin secretion level on lipid fractions and risk of arterial Hypertension	61
1. Introduction	62

2. Matériel et méthodes	62
3. Résultats.....	62
4. Conclusion	62
Chapitre 6: Traitements antidiabétiques, obésité et risque de cancers chez les patients atteints du diabète de type 2	68
1. Introduction	69
2. Matériel et méthodes	69
2.1. Analyses statistiques	70
3. Résultats.....	70
4. Discussion.....	74
5. Conclusion	75
Chapitre 7: Le catabolisme du tryptophane par l'indoleamine 2,3 dioxygénase 1 est un facteur de risque de l'infarctus du myocarde chez des diabétiques de type 2	76
1. Introduction	77
2. Matériel et Méthodes	77
2.1. Détermination des concentrations plasmatiques de Trp et de Kyn.....	78
2.2. Analyses statistiques	78
3. Résultats.....	79
4. Discussion.....	83
5. Conclusion	85
Chapitre 8: Approche génétique pour l'identification de polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1 prédisposant au risque cardiovasculaire chez des diabétiques de type 2 de l'extrême ouest Algérien	86
1. Introduction	87
2. Matériel et Méthodes	87
2.1. Génotypage	88
2.2. Analyses statistiques	88
3. Résultats.....	88
3.1. Le polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1	90
3.1.1. Résultats de la PCR	90
3.1.2. Digestion enzymatique	91
3.2. Fréquences alléliques et génotypiques.....	92
4. Discussion.....	93
5. Conclusion	94
Discussion générale et Conclusion	95
1. Discussion générale	96

2. Conclusion et perspectives	101
Références bibliographiques	103
Annexe	119

PREMIÈRE PARTIE

Introduction générale

1. Introduction générale

La prévalence du diabète a pris des proportions épidémiques à travers le monde au cours des deux dernières décennies. L'Algérie ne fait pas exception, avec un nombre grandissant de personnes atteintes de cette maladie. En 2017, près de 1,8 millions de cas de diabète en Algérie avec une prévalence nationale de 6,9% (IDF, 2017).

L'augmentation de la prévalence du diabète est observée un peu partout dans le monde, tant dans les pays industrialisés que dans les pays en développement (Beaglehole and Lefèbvre, 2009).

Le nombre de personnes de 20 à 79 ans atteintes de diabète dans le monde est estimé à 425 millions en 2017 et on prévoit qu'il atteindra les 629 millions en 2045 (IDF, 2017).

Le vieillissement de la population, la sédentarité et la prévalence élevée de surpoids dans la population sont les principaux facteurs attribuables dans l'augmentation du nombre de personnes vivant avec le diabète (NCD-RisC, 2016).

Les conséquences majeures du diabète sont reliées aux complications qui peuvent faire leur apparition avec le temps. En effet, l'hyperglycémie qui persiste sur une longue durée endommagent les vaisseaux sanguins et les nerfs et peuvent entraîner de graves complications. L'hyperglycémie a des effets néfastes sur: les reins (néphropathie), les yeux (rétinopathie diabétique, cataractes et glaucome), le système neurologique (neuropathie), le cœur (infarctus), les vaisseaux sanguins (hypertension, artériosclérose) (Bourne et al., 2013).

Actuellement, on divise le diabète en deux groupes. Le diabète de type 1 précédemment appelé diabète insulino dépendant ou diabète juvénile, touchant environ 10% des diabétiques. Il s'agit d'une maladie auto-immune (WHO, 2016).

Quant au diabète de type 2 (DT2) appelé aussi diabète non insulino dépendant ou diabète de l'adulte qui ne se manifeste généralement qu'après 40 ans, il affecte le reste des diabétiques, deux anomalies peuvent être responsables de l'hyperglycémie, l'insulinopénie et l'insulinorésistance (WHO, 2016).

Mais en réalité, le DT2 englobe en fait quatre catégories: deux formes sévères de la maladie et deux formes moins sévères (Ahlqvist et al., 2018).

Parmi les formes sévères on retrouve: Le diabète insulino dépendant sévère et le diabète insulino résistant sévère.

Les patients atteints de diabète insulino dépendant sévère ont un indice de masse corporelle (IMC) relativement faible, manquent d'insuline et la maladie apparait précocement. Ces patients ont un risque élevé de développer une rétinopathie diabétique que les autres.

Le diabète insulino résistant est lié au surpoids ou à l'obésité, et les cellules répondent difficilement à l'insuline. Ces patients présentent une forte probabilité d'avoir une maladie du foie ou une insuffisance rénale chronique.

Quant aux formes moins sévères, l'une des deux formes est un diabète lié à un IMC élevé (l'obésité), l'autre diabète est lié à l'âge (le vieillissement).

L'insulinorésistance trouve son origine dans les mécanismes de liaison de l'insuline à son récepteur.

Cette liaison entraîne la phosphorylation de résidus tyrosine de *insulin receptor substrates* (IRS) permettant l'activation de la phosphoinositol 3 kinase (PI3K), puis la

translocation du transporteur de glucose 4 (GLUT4) dans le tissu adipeux et le muscle (Pinget and Boullu-Sanchis, 2002).

Quant au mécanisme du déficit insulinosécrétoire, il résulte de l'incapacité du pancréas endocrine à s'adapter à la demande accrue à l'insuline que l'on rencontre chez les individus obèses (Cerasi and Ktorza, 2007).

L'exposition chronique des ilots pancréatiques à de fortes quantités de nutriments (hyperglycémie et excès d'acides gras libres) induit des dysfonctionnements des cellules β et aboutit à leur mort cellulaire définissant le concept de glucolipotoxicité.

L'hyperglycémie entraîne une apoptose des cellules β par l'induction de l'expression du récepteur pro-apoptotique FAS à la surface de ces cellules et cette expression est ensuite positivement régulée par la production d'interleukine 1 bêta (IL-1 β) par les cellules β sous l'influence glucose (Donath and Shoelson, 2011).

La voie *nuclear factor kappa binding* (NF κ B) est également activée dans les cellules β des ilots par l'intermédiaire de l'action du glucose et l'IL-1 β et son inhibition semble protéger ces cellules des effets néfastes liés à la glucotoxicité (Donath and Shoelson, 2011).

IL-1 β induit une libération accrue de chemokines responsables du recrutement des macrophages (Böni-Schnetzler et al., 2008).

Ceux-ci produisent ensuite une grande quantité d'IL-1 β et d'autres facteurs cytotoxiques, qui vont ensuite nuire au fonctionnement de la cellule β . Ces mécanismes peuvent être responsables de la diminution et de l'altération des fonctions des cellules β (Maedler et al., 2006; Weksler-Zangen et al., 2008).

De ce fait le DT2 est devenu l'un des principaux facteurs de risque des maladies cardiovasculaires (MCV). Il a été estimé que 14 à 47 personnes âgées de 50 à 69 atteintes de diabète sur 1000 présentent une MCV (un infarctus du myocarde (IDM), une angine de poitrine et une insuffisance cardiaque) chaque année (Largay, 2012).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), les MCV constituent un ensemble de trouble affectant le cœur et les vaisseaux sanguins, qui comprend : les cardiopathies coronariennes (touchant les vaisseaux sanguins qui alimentent le muscle cardiaque), les maladies cérébraux-vasculaires (touchant les vaisseaux sanguins qui alimentent le cerveau), les artériopathies périphériques (touchant les vaisseaux sanguins qui alimentent les bras et les jambes), les cardiopathies rhumatismales (affectant le muscle et les valves cardiaques et résultant d'un rhumatisme articulaire aigu), les malformations congénitales cardiaques (malformations de la structure du cœur déjà présente à la naissance), les thromboses veineuses profondes et les embolies pulmonaires (obstruction des veines des jambes par un caillot sanguin, susceptible de se libérer et de migrer vers le cœur ou les poumons) (WHO, 2017).

Plus de 82% des décès par MCV surviennent dans les pays à revenu faible ou intermédiaire (WHO, 2017). En Algérie, selon une étude réalisée par l'OMS et l'institut national de santé publique (INSP) et d'après la société Algérienne de cardiologie (SAC) les MCV sont la cause d'un décès sur quatre, les MCV représentent la première cause de mortalité avec 26,1% de décès annuels (Yahia-Berrouiguet et al., 2011).

Dans la majorité des cas, les accidents ischémiques aigus tels que les IDM et les accidents vasculaires cérébraux sont la conséquence clinique de la maladie athéromateuse consécutives à une rupture ou une érosion de la plaque d'athérosclérose avec formation d'un thrombus obstruant la lumière vasculaire (Libby, 2001).

L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique évolutive caractérisée par des dépôts de lipides et d'éléments fibreux dans la paroi des artères (Paul and Baudin, 2009).

Plusieurs Mécanismes moléculaires athéromateux sont impliqués dans l'athérosclérose

Les lipoprotéines essentiellement les lipoprotéines de basse densité (LDL-C) oxydées, les macrophages, les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les lymphocytes sont les principaux acteurs de la genèse de la plaque.

La première étape de la formation d'une plaque athéromateuse est la pénétration des lipoprotéines dans l'espace sous endothéliales par un phénomène de transcytose (Simionescu et al., 2002). L'oxydation des LDL-C in situ semble être liée à la présence de macrophages dans la paroi vasculaire (Tsimikas, 2008).

L'oxydation des LDL-C a deux grandes conséquences: l'initiation d'une réaction inflammatoire qui va s'amplifier et la formation de cellules spumeuses (Paul and Baudin, 2009). Les LDL-C oxydées favorisent l'expression endothéliale des sélectines E et P ainsi que des molécules d'adhésion vasculaire et intercellulaire (VCAM-1, ICAM-1) qui ont la capacité de se lier à des ligands de la famille des intégrines présents à la surface des leucocytes comme les monocytes (Packard and Libby, 2008).

Les monocytes ainsi pénétrés dans l'espace sous endothéliale se transforment en macrophages par divers facteurs: la protéine chémoattractive monocyttaire-1 et le facteur de stimulation des macrophages (MCP-1 et M-SCF) (Bauters, 2000).

Les LDL-C sont normalement fixées aux récepteurs natifs dont l'expression est étroitement régulée par la concentration intracellulaire de cholestérol, par contre les LDL-C oxydées sont reconnues par des récepteurs « scavenger » portés par les macrophages, ces récepteurs ne sont pas contrôlés par le contenu intracellulaire en cholestérol, les LDL-C oxydées s'accumulent dans les macrophages conduisant à la formation des cellules spumeuses qui est à l'origine des stries lipidiques responsable des lésions d'athérosclérose (van Berkel et al., 2005).

Plusieurs cytokines pro-inflammatoires sont produites par les macrophages (*Tumor Necrosis Factor α* (TNF α), interféron gamma (INF γ), interleukine 1 (IL-1)) qui favorisent le recrutement des monocytes et induisent la libération des métalloprotéinases matricielles (MMP) capables de dégrader la matrice extracellulaire, des cytokines anti inflammatoires telles que les: *transforming growth factors* β (TGF β), IL-4, IL-10 et des inhibiteurs tissulaire des MMP (inhibiteurs tissulaire des métalloprotéinases TIMP-1 et 2) sont également présents (Hansson et al., 2006; Methe and Weis, 2007).

Les cellules musculaires lisses migrent de la média vers l'intima en traversant la limitante élastique interne, leur prolifération est contrôlée par le facteur mitogène *platelet Derived Growth factor* (PDGF) sécrété par les monocytes, les plaquettes et l'endothélium. Au cours de ce passage les cellules musculaires lisses sécrètent des protéines conjonctives (collagène, d'élastine et de protéoglycanes) à forte affinité pour les LDL-C oxydées (Packard and Libby, 2008).

Les LDL-C oxydées ont une propriété cytotoxique par l'induction de l'apoptose des cellules spumeuses et augmentent les dépôts lipidiques acellulaires c'est le centre lipidique (Feng et al., 2003), les protéines conjonctives sécrétées par les cellules musculaires lisses entourent le centre lipidique pour installer la plaque athéroscléreuse (Steinberg, 1997).

Par conséquent, la croissance de la taille de la plaque entraîne une sténose (rétrécissement de la lumière artérielle), qui est la base de la diminution de l'apport sanguin artériel à un organe et donc l'hypoxie des territoires irrigués par l'artère.

La plaque est alors susceptible de se rompre, la rupture de la plaque met en contact le sang avec les facteurs tissulaires du noyau lipidique libérés lors de l'apoptose des macrophages déclenchant la cascade de coagulation sanguine, la conséquence est un phénomène de thrombose (formation d'un caillot sanguin) (Shah, 2007).

L'embolie artérielle est le résultat de détachement et de la migration d'une partie du thrombus. Une fois arrivé dans un vaisseau trop petit, il s'immobilise et obstrue celui-ci (Paul and Baudin, 2009).

L'analyse des paramètres hématologiques est couramment effectuée chez les diabétiques. De nombreuses études ont montré une association entre quelques paramètres hématologique y a compris les globules rouges, les globules blancs, les facteurs de coagulations et les plaquettes d'une part et le DT2 d'autre part.

Un nombre élevé de globules rouges ainsi que l'hématocrite et l'hémoglobine sont positivement associée à l'insulinorésistance (Gori, 2011).

Des études épidémiologiques suggèrent une association entre les globules blancs ou la formule leucocytaire, un marqueur non spécifique de l'inflammation chronique impliquée dans la pathogénèse du DT2 et le risque du diabète (Bi et al., 2012).

De plus, une activation élevée des plaquettes chez les diabétiques a été révélée (Coban et al., 2007).

Chez les diabétiques, la perturbation de la formule leucocytaire, l'hématocrite, les plaquettes, l'agrégation et la déformabilité érythrocytaire peut entraîner le développement d'une inflammation et une tendance à la coagulation et à des complications microvasculaires (Demirtas et al., 2015).

L'augmentation de la viscosité sanguine chez les patients atteints du DT2 avec risque élevé des MCV affecte négativement la microcirculation entraînant une microangiopathie (Cho et al., 2008).

Certains paramètres hématologiques et notamment les leucocytes sont liés au risque d'événements cardiovasculaires.

Des études ont révélé qu'une numération leucocytaire plus élevée, l'une des principales composantes du processus inflammatoire, contribue à la progression athéroscléreuse et aux MCV (Gillum et al., 2005).

La formule leucocytaire élevée est l'une des principales composantes de processus inflammatoire. Elle contribue à la progression de l'athérosclérose et des MCV (Maitra, 2010).

Une étude a montré qu'une activité plaquettaire élevée augmente les complications vasculaires chez les diabétiques de type 2 (Nicholaos Kakouros et al., 2011). Une réactivation des plaquettes chez les patients atteints de diabète peut conférer une protection cardiovasculaire moindre avec un traitement antiplaquettaire, en particulier l'aspirine (Christensen et al., 2015).

On ne peut pas à ce jour parler de gène majeur de susceptibilité au DT2 et aux pathologies cardiovasculaires. Les gènes ont un effet cumulatif dans le déclenchement de la maladie.

De nombreuses études montrent l'influence des différences de fond génétique sur la régulation de la sécrétion d'insuline et de son action sur ses tissus cibles, et soulignent l'importance de la notion de génomique.

Cependant la notion de génomique nutritionnelle gagne du terrain sur la susceptibilité au DT2 et sa progression et sur l'obésité. La génomique nutritionnelle étudie l'influence des macro- et micro-nutriments sur l'expression des gènes qui contrôlent le métabolisme et l'homéostasie énergétique.

Ce nouveau concept s'appuie sur des technologies baptisées « omiques », destinées à analyser globalement le génome lui-même, mais aussi les profils d'expression des acides ridonucléiques (ARN) messagers (transcriptomique), des protéines (protéomique) et des métabolites (métabolomique).

Les approches métabolomiques offrent l'avantage d'étendre l'étude génétique à tous les métabolites dont les changements qualitatifs ou quantitatifs sont un reflet direct d'une pathologie telle que le DT2.

Dans la plupart des cas, le métabolisme lipidique et celui des acides aminés essentiellement du tryptophane (Trp) du patient diabétique de type 2 sont perturbés

Premièrement, le patient diabétique de type 2 présente souvent une dyslipidémie athérogène (Paquot and Scheen, 2003), comprenant une concentration accrue de triglycéride et un taux abaissé de lipoprotéine de haute densité (HDL-C), deux paramètres rentrant dans la définition du syndrome métabolique (Scheen et al., 2006).

Pour cela, le DT2 augmente deux fois le risque d'un évènement cardiovasculaire (Fox et al., 2004).

Des anomalies lipidiques représentent les facteurs de risque essentiels de survenu des pathologies cardiovasculaires au cours du DT2 notamment l'élévation du cholestérol total, triglycéride, augmentation des LDL-C et la diminution du niveau des HDL-C (Hermans et al., 2011).

Bien que le LDL-C reste la principale cible thérapeutique pour la protection contre les MCV, une amélioration des niveaux de LDL-C chez les patients diabétiques ne réduit pas le risque d'une maladie coronarienne récurrente (EACPR, 2011).

Donc le LDL-C ne permet pas d'évaluer avec précision le risque cardiovasculaire chez les diabétiques de type 2. Il est donc indispensable de disposer de mesures fiables et comparables. Ce qui justifie l'importance du calcul de non HDL cholestérol (non HDL-C) (Lu et al., 2003).

Il s'avère que le non HDL-C est un prédicteur important du risque cardiovasculaire, car il contient du cholestérol de toutes les particules athérogènes (LDL-C, VLDL-C, IDL) (Wongcharoen et al., 2017).

Le non HDL-C est calculé à partir du profil lipidique en soustrayant le HDL-C du cholestérol total (Virani, 2011).

L'apolipoprotéine B (apo B) est également présente dans les principales particules athérogènes (LDL-C, lipoprotéine de très basse densité (VLDL-C), lipoprotéine de densité intermédiaire (IDL)), alors qu'elle est absente dans la molécule antiathérogénique HDL-C (Mullick et al., 2011). l'Apo B semble être un prédicteur majeur des MCV, et son estimation a été employée comme un indicateur supérieur du risque cardiovasculaire que le cholestérol total ou le LDL-C (McQueen et al., 2008).

Dans les études réalisées pour l'évaluation du risque cardiovasculaire, la relation entre l'apolipoprotéine B et le non HDL-C semblent être plus favorable que l'évaluation du LDL-C (Sondermeijer et al., 2013).

Actuellement le non HDL-C et l'apoprotéine B sont recommandés comme cibles alternatives pour la gestion de la dyslipidémie, le diabète et les maladies rénales chroniques (EACPR, 2011).

Les patients atteints du diabète, du syndrome métabolique ou de l'hypertriglycéridémie présentent une dyslipidémie athérogène caractérisée par des concentrations élevées des triglycérides et des lipoprotéines LDL-C de petite taille (Taskinen and Borén, 2015).

Bien que la corrélation entre l'apo B et le non HDL-C a été bien étudiée afin d'évaluer le risque cardiovasculaire, les données sur la relation entre l'APOB et le non HDL-C dans le diabète et le syndrome métabolique sont limitées (Ramjee et al., 2011).

Quelques études montrent que l'apo B et le non HDL-C sont fortement corrélés tandis que l'élévation des taux de triglycérides modifient la corrélation entre l'apo B et le LDL-C principalement chez les individus non traités (Barkas et al., 2015; Leroux et al., 2000).

Il est maintenant clair que le non HDL-C et l'apo B sont étroitement liés métaboliquement et qu'ils peuvent se substituer mutuellement (Hermans et al., 2011).

Les altérations multiples dans les fractions lipidiques sont le résultat de l'action de l'insuline sur le métabolisme des lipides (Vergès, 2001).

Les niveaux et la signalisation de l'insuline chez les diabétiques sont retrouvés associés au risque de différents types des cancers (Escribano et al., 2017; Giovannucci et al., 2010), mais cette association est controversée (Gariani et al., 2010; Schlienger, 2013).

Deuxièmement, plusieurs études associant le métabolisme de Trp au diabète.

Le Trp est un acide aminé essentiel composé d'un groupement carboxyle (COOH), un groupement amine (NH₃) et une chaîne latérale R constituée de 2 noyaux aromatiques.

L'apport journalier en Trp recommandé par l'OMS est de 4 mg/kg/jour (WHO and United Nations University, 2007), chez la population française des besoins en Trp d'environ 200 mg/jour ont été estimés par l'AFSSA (AFSSA, 2008), ces besoins observés sont plus faible par rapport aux populations occidentales, selon l'étude NHANES III ces populations ont un apport moyen en Trp de 900 mg/jour (FNB/IOM, 2002).

La viande de bœuf, la viande de poulet, les œufs, le lait et les produits laitiers, les amandes et les cacahuètes représentent les principales sources de Trp dans l'alimentation.

Le Trp serait également métabolisé via deux voies métaboliques: la première voie est celle des kynurénines dont 90% du Trp périphérique est métabolisé via cette voie (Schwarcz et al., 2012), cependant 10% de Trp va être transformé en sérotonine via la deuxième voie qui s'appelle la voie de la sérotonine (Huang et al., 2004).

Le Tryptophane 2,3 dioxygénase 2 (TDO2), l'indoleamine 2,3 dioxygénase 1 (IDO1) et l'indoleamine 2,3 dioxygénase 2 (IDO2), ce sont les enzymes clé de la voie des kynurénines, elles dégradent le Trp en N-formylkynurénine qui est rapidement métabolisée Kyn. Ces trois enzymes ont la même fonction mais leurs localisations tissulaires sont différentes.

La découverte du TDO2 a eut lieu pour la première fois en 1930, comme une enzyme eucaryote et procaryote à la fois (Dolusić et al., 2011) en 1955 il a été décrit dans le foie du rat et ensuite dans de nombreux autres organismes (Alameer, 2016).

TDO2 est une protéine homotétramérique de 190 KDa chez les eucaryotes et de 120 KDa chez les procaryotes. Codée par le gène TDO2 localisée dans le chromosome 4 (Arefayene et al., 2009; Boros et al., 2018).

Chez l'homme, cette enzyme est fortement exprimée au niveau du foie où 90% de L-Trp est catabolisé (Meng et al., 2014). Les glucocorticoïdes, le Trp lui-même et la kynurénine induisent l'expression de TDO2 (Dolusić et al., 2011), en effet le promoteur de cette enzyme contient des éléments de réponse aux glucocorticoïdes (GRE), la fixation de la dexaméthasone sur l'élément GRE augmente l'expression de TDO2 de deux fois et demi dans les hépatocytes humains (Soichot et al., 2013).

L'enzyme IDO1 a été décrite en 1963, et isolée pour la première fois en 1967 à partir de l'intestin grêle des lapins, cette enzyme exerce la même fonction que TDO2 en catalysant le L-Trp en kynurénine (Alameer, 2016). L'IDO1 est une protéine monomérique de 45 KDa constituée de 403 acides aminés codée par un gène situé dans la région p11.21 sur le chromosome 8 (Rafice et al., 2009; Yeung et al., 2015).

Des mutations ponctuelles peuvent altérer l'activité enzymatique de l'IDO1 ont été rapportées (Boros et al., 2018). Le variant C4325T (rs35099072) c'est une mutation faux sens dont l'Arginine 77 est remplacé par une Histidine (Arefayene et al., 2009), cette modification structurale touche l'activité enzymatique de l'IDO1 (Boros et al., 2018).

Les protéines IDO1 et TDO2 comportent des molécules d'hème, IDO1 est inactive sous la forme oxydée (Fe^{3+}) alors qu'elle est active sous la forme réduite (Fe^{2+}) (Shimizu et al., 1978), le cytochrome b5 (cyb5) coopère avec le cytochrome p450 réductase et Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (NADPH) pour l'oxydation d'IDO1 (Maghzal et al., 2008).

Les cytokines proinflammatoires notamment l'IFN γ induisent l'expression d'IDO1 dans l'ensemble du corps humain à l'exception des cellules hépatiques (Pantouris and Mowat, 2014).

L'induction de l'expression d'IDO1 se fait également par la liaison du lipopolysaccharides (LPS) à son récepteur *toll-like récepteur 4* (TLR4) qui active les facteurs: NF- κ B et *interferon regulatory factor 3* (IRF3) (Campbell et al., 2014).

Les cellules endothéliales, les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules B ainsi que les cellules tumorales sont les principales cellules qui expriment cette enzyme (Pearson et al., 2010).

Une autre enzyme homologue d'IDO1 récente, découverte en 2007 appelée IDO2. Elle est codée par un gène situé sur le chromosome 8, proche de gène qui code pour l'IDO1 avec des différences légères entre les deux gènes au niveau de premier et dernier exon (Ball et al., 2007; Metz et al., 2007).

Cette enzyme est moins active que l'IDO1 (Pantouris and Mowat, 2014), cela est traduit par les faibles niveaux de kynurénines produits par les cellules des souris transfectées avec IDO2 comparées à IDO1 (Ball et al., 2007).

Le cyb5 est le réducteur physiologique de l'oxydation de l'IDO2 de la souris (Austin et al., 2010; Maghzal et al., 2008). Chez les souris la présence du CPR humain (donneur d'électrons physiologique de cyb5) et un système de régénération NADPH augmentent l'activité catabolique d'IDO2 par rapport au système *in vitro* contenant le bleu de méthylène comme donneur d'électrons (Austin et al., 2010).

Chez l'homme IDO2 est exprimée au niveau du cerveau et placenta (Metz et al., 2007), une faible expression dans les cellules dendritiques. Son expression est induite par les cytokines inflammatoires (Metz et al., 2014).

La N-formylkynurénine résulte de l'ouverture du noyau indole du Trp. Elle est rapidement convertit en Kyn sous l'action de l'enzyme Arylformamidase (AFMID).

La Kyn est utilisé dans la voie de la synthèse du 3 hydroxyKynurénine (3-HK). L'enzyme Kyn monooxygénase (KMO) catalyse la Kyn en 3-HK.

Ensuite le 3-HK est métabolisé par une famille d'enzymes Kyn aminotransférases : KAT 1, KAT 2, KAT 3 et l'enzyme mitochondriale KAT 4 en acide xanthurénique (Song et al., 2017).

Une autre voie est impliquée dans la formation de ce métabolite appelée voie de by-pass dont l'enzyme kynuréninase (Kynu) catabolise la Kyn en acide anthranillique (AA), ce dernier est transformé en 3-hydroxyacide anthranillique (3-HAA) de façon non enzymatique (Matino et al., 2015).

Le 3-HAA est ensuite métabolisé en 2-amino3-carboxymuconate semi aldéhyde (ACMS) par une enzyme appelée 3-hydroxyanthranilate 3,4 dioxygénase (3-HAO), le ACMS soit il est métabolisé en acide picolinique par l'enzyme aminocarboxymuconate semialdehyde décarboxylase (ACMSD), ou en acide quinolinique (AQ) de façon non enzymatique. L'enzyme Quinolate phosphoryltransférase (QPRT) catalyse la première étape de la synthèse du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺) à partir de l'acide quinolinique (Fujigaki et al., 2017). C'est la voie des Kynurénines.

La voie de sérotonine consiste en la synthèse de sérotonine à partir du Trp. Cette voie est initiée par deux enzymes Trp hydroxylase (TPH1 et TPH2), la première est exprimée dans le thymus, la rate et la glande pinéale, alors que le tronc cérébrale exprime TPH2 (Walther and Bader, 2003), TPH2 présente une grande affinité pour le Trp par rapport à TPH1 (McKinney et al., 2005).

Ces deux enzymes catalysent la transformation de Trp en 5-hydroxyTrp (5-OHT), le 5-OHT est ensuite décarboxylé en sérotonine puis en mélatonine ou 5-HT par la décarboxylase des acides aminés aromatiques.

La sérotonine est catalysée en 5-hydroxyindole par l'enzyme monoamine oxydase-A (MAO-A), ce composé va être éliminé dans les urines (Song et al., 2017).

La Kyn des patients diabétiques atteints du virus hépatite C est positivement corrélée à l'HOMA-IR (modèle évaluation homéostatique-insulinorésistance) et à l'HOMA-B (Oxenkrug et al., 2013), une autre étude a montré que les sujets diabétiques présentent une expression de l'enzyme IDO1 et des concentrations sériques de Kyn, acide kynurénique et 3-OHK significativement élevées par rapport aux témoins (Munipally et al., 2011).

L'acide xanthurénique réduit l'activité de l'insuline et il forme des complexes avec le zinc nécessaire pour la formation des hexamères d'insuline dans les vésicules de sécrétion (Meyramov et al., 1998). L'acide xanthurénique est un inhibiteur des récepteurs métabotropiques du glutamate du groupe II (Copeland et al., 2013). Les antagonistes de ces récepteurs ont la capacité d'altérer la sécrétion de l'insuline (Babic et al., 2012).

La combinaison d'un stress glucolipotoxique (20 mM de glucose et 0,4 mM de palmitate) et d'un stress inflammatoire (IFN γ) dans des îlots de rat en culture stimule l'expression de plusieurs enzyme impliquées dans la voie des Kynurénines: IDO1, KMO et KYNU et inhibe l'expression de l'enzyme QPRT, et par conséquent l'augmentation des

concentrations de Kynurénines et d'acide kynurénique ce qui montre la fonctionnalité de la voie des Kynurénines dans les îlots pancréatiques (Liu et al., 2015).

Liu et ces collaborateurs ont observé que la Kyn et l'acide kynurénique potentialisaient de façon non significative la sécrétion de l'insuline stimulée par le glucose, l'effet de la Kyn sur la sécrétion de l'insuline reste à étudier (Liu et al., 2015).

L'acide kynurénique exerce un effet antagoniste des récepteurs N-méthyl-D-aspartique (NMDA) exprimés à la surface des cellules β du pancréas (Atouf et al., 1997). Dans des îlots de souris et des îlots humains, le dextrométhorphan qui est un antagoniste des récepteurs NMDA stimule la sécrétion de l'insuline en réponse au glucose (Marquard et al., 2015). Puisque les récepteurs métabotropiques du glutamate permettent l'entrée du calcium à l'intérieur de la cellule, l'effet de dextrométhorphan est associé à la présence des canaux potassique sensible à l'ATP (KATP), les récepteurs NMDA activent l'ouverture des canaux KATP et la fermeture des canaux calcique voltage dépendant (Marquard et al., 2015).

L'acide picolinique catalysé par l'enzyme ACMSD qui est exprimé dans le foie favorise le stockage plutôt que la libération du glucose, le traitement des rats diabétique par la streptozotocine induit l'expression et active l'enzyme ACMSD dans le foie, et le traitement par l'insuline permet de contrôler l'hyperglycémie et l'expression et l'activité de cette enzyme (Tanabe et al., 2002). Alors que les métabolites de glucose (dihydroxyacétophosphate (DHAP) et le 3-Phosphoglycerate (3PG)) peuvent inhiber l'activité de l'enzyme ACMSD (Garavaglia et al., 2009).

Des altérations de la voie de Kynurénines sont associées avec certains facteurs de risque cardiovasculaires y ont compris l'obésité, la pression artérielle, les lipoprotéines plasmatiques et la glycémie (Polyzos and Ketelhuth, 2015).

Chez les patient atteints d'angine de poitrine; les niveaux élevés de Kynurénines plasmatiques prédisent et augmentent le risque d'IDM (IDM) (Pedersen et al., 2015).

Après une angiographie coronarienne, le ratio K/T a été identifié comme un prédicteur important des évènements coronariens (Pedersen et al., 2013).

L'activité de l'IDO1 est positivement corrélée chez les deux sexes avec le LDL-C ainsi à l'épaisseur intima/média de l'artère carotide qui est un marqueur précoce de l'athérosclérose (Niinisalo et al., 2008).

Dans un modèle vasculaire in vitro, l'acide kynurénique provoque l'adhésion des neutrophiles et leucocytes à l'endothélium vasculaire via le récepteur couplé à la protéine G35 (GRP35) (Barth et al., 2009).

Les métabolites 3-HK et 3-HAA ainsi que le rapport AQ/Kyn sont associés à l'inflammation et les MCV chez les patients souffrent d'insuffisance rénale (Pawlak et al., 2010).

Le 3-HK peut médier l'apoptose des cellules endothéliales et le dysfonctionnement endothélial induits par l'angiotensine II via les espèces réactives de l'oxygène (ROS) dérivées de la NAD (P) H oxydase in vivo, alors que la délétion de l'IDO1 bloque l'action de l'angiotensine II sur les cellules endothéliales (Wang et al., 2014).

L'activation du métabolisme de Trp peut être impliquée dans le développement de l'anévrisme de l'aorte abdominale (AAA) (Song et al., 2017), c'est une expansion continue de l'aorte abdominale qui touche jusqu'à 9% des hommes âgés plus de 65 ans (Silverstein et al., 2005).

L'angiotensine II est un médiateur principal de la progression de l'AAA (Krettek et al., 2003), in vivo l'angiotensine II induit fortement l'expression d'IDO1 dans l'aorte de la souris (Wang et al., 2014).

Les patients atteints à l'AAA traités par l'angiotensine II ont des niveaux élevés d'INF γ (Juvonen et al., 1997) qui est un inducteur important de l'expression d'IDO dans les cellules musculaire lisses vasculaires (Cuffy et al., 2007).

La protéine C réactive est un marqueur majeur de l'incidence de l'AAA (Folsom et al., 2015), elle est positivement corrélée avec la Kyn et le 3-HK (Zuo et al., 2016).

Cependant, la littérature rapporte très peu d'études ayant vérifiée l'association génétique des enzymes impliquées dans le métabolisme du Trp au diabète et/ou pathologies cardiovasculaires.

L'objectif principal de cette recherche est de montrer, à l'aide de différentes variables intégrées (biologique, hématologique, épidémiologique, génétique et métabolique) les particularités des patients diabétiques avec ou sans pathologie cardiovasculaire dans la région de l'extrême ouest Algérien.

Cette démarche est une approche globale émergente, pouvant apporter une aide précieuse, notamment dans la recherche de biomarqueurs. À ce jour, aucun marqueur ou profil de marqueurs issu des études génétiques et métabolomiques n'est utilisé en pratique de routine.

Le défi de cette approche vise à renforcer le diagnostic, pour stratifier les patients inclus dans les essais cliniques.

Notre démarche nécessite l'analyse de plusieurs facteurs de prédisposition ou de marqueurs ou encore d'empreintes hématologiques génétiques et métaboliques entre des groupes de malades et de sujets contrôles afin d'identifier des spécificités inhérentes au DT2 dans l'ouest Algérien.

Ainsi ces données pourraient contribuer au diagnostic ou au pronostic du DT2 et des complications cardiovasculaires associées.

Dans le but de décrire la population et surtout, à terme, de prédire le statut des patients. Cette analyse pourrait aussi aider à la détermination de sous groupes particuliers de patients à intégrer dans la stratification des essais cliniques.

Enfin, on attend des résultats de cette étude une amélioration de la connaissance des marqueurs biologique du DT2 par la mise en évidence, de particularités régionales.

La progression de cette démarche conduit à la détection de modifications hématologiques, métaboliques et génétiques subtiles que peuvent traduire des facteurs environnementaux ou épidémiologiques.

Nous avons donné une attention particulière à l'analyse statistique: épuration des données avant d'établir les modèles multivariés afin de proposer des modèles de prédiction.

A l'heure actuelle nous ne disposons que de peu de références capables d'intégrer la complexité organisée et changeantes du DT2 et des complications associées capables d'intégrer non seulement des changements de comportements individuels et collectifs mais aussi des changements environnementaux.

L'impact reste insuffisant pour permettre, d'une part, une meilleure utilisation du risque dans les décisions en santé publique et, d'autre part, de mieux cerner les déterminants

de la perception du risque et de dégager des stratégies de prévention plus pertinentes, efficaces et efficientes et qui tiennent compte de l'individu dans sa globalité.

Il est difficile d'éviter les redondances quant on veut aborder le DT2. Cependant on se propose d'argumenter cette redondance de combinaison de facteurs en cours d'identification.

DEUXIÈME PARTIE

Matériel

et

Méthodes

1. Population et zone d'étude

L'étude a été réalisée sur un échantillon de deux groupes (des diabétiques de type 2 et des témoins sains).

Le premier groupe comporte 1907 patients diabétiques de type 2, dont 22,46% ont une cardiopathie associée. Alors que le deuxième groupe est constitué de 1581 témoins sains.

Les sujets des deux groupes sont originaires de la Wilaya de Tlemcen. Géographiquement la wilaya de Tlemcen est située dans le nord ouest Algérien. Elle est limitée par la mer méditerranée au nord, à l'ouest par le royaume du Maroc, à l'est par la plaine de la M'lata (Wilaya de Ain Temouchent) et les Monts de Daya (Wilaya de Sidi Belabbes) et enfin au sud par les hautes plaines de la wilaya de Naâma. Quatre grands ensembles naturels bien distincts peuvent être identifiés dans la wilaya de Tlemcen: un ensemble littoral, la plaine sublittorale, des ensembles montagneux et un ensemble des hautes plaines steppiques (Figure 1).

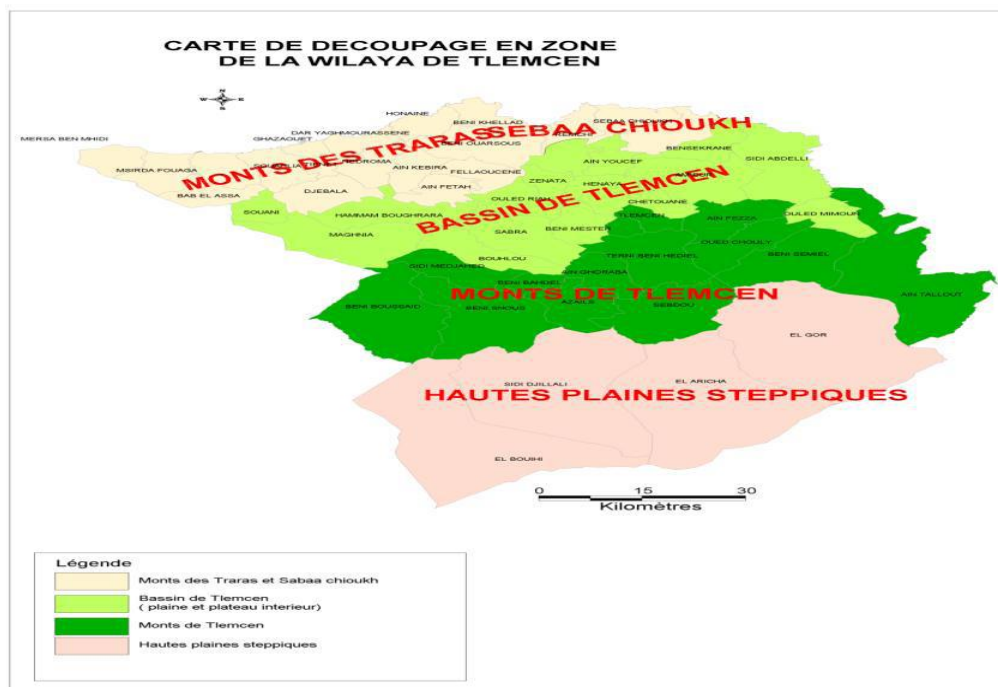


Figure 1: Situation géographique des zones d'études (Dali-Sahi and Benmansour, 2014).

Nos enquêtes ont été menées sur les populations de cinq villes de la wilaya de Tlemcen réparties selon les ensembles naturels qui présentent des caractères spécifiques concernant le climat, le réseau hydrique et l'occupation du sol:

- La ville de Ghazaouet (zone littorale).
- La ville de Maghnia (plaine sublittorale).
- La ville de Tlemcen (Monts de Tlemcen).
- Les deux communes de Sid el Djilali et de Sebdu (hautes plaines steppiques).

2. Recrutement des sujets

Il s'agit d'une étude analytique, rétrospective effectuée dans les différents centres hospitaliers des régions ainsi considérés sous forme d'entretien dans une salle réservée à cet effet. L'enquête entière a duré d'Avril 2015 à Juillet 2019. Les patients inclus dans l'étude le sont de façon consécutive, après obtention de leur consentement éclairé, au sein des services de santé.

2.1. Les sources de données

Trois procédés de collecte des données ont été utiles pour constituer notre population d'étude.

2.1.1. Le registre du diabète

Un registre du diabète est ouvert, y sont inscrit tous les diabétiques dès leur première visite. Les renseignements optimums y figurent.

- Nom et Prénom.
- date de naissance.
- le poids et la taille.
- Médecin traitant et référence du dossier médical.

2.1.2. Le dossier médical

Le dossier médical a servi de support à toutes les informations concernant l'histoire de la maladie. Les circonstances de diagnostic, l'état biologique et clinique. Ainsi que les paramètres anthropométriques, d'autres renseignements sur les antécédents personnels et familiaux. Les liens de parenté des parents, et la notion d'hérédité familiale.

2.1.3. Le questionnaire

Les renseignements sont présentés de telle manière à rendre leur utilisation possible par l'outil informatique. Les caractéristiques essentielles de la population diabétique seront présentées.

Le souci de standardisation des questions et réponses a été pris de manière à pouvoir rendre les données comparables dans les différentes populations étudiées.

La recherche expérimentale ainsi que le suivi des diabétiques se sont déroulés à la clinique de Sidi Chaker de Tlemcen, à l'hôpital universitaire de Tlemcen, à l'hôpital de Maghnia, de Ghazaouet, de Sebdou et au centre de soin de Sid El Djilali.

2.2. Critères d'évaluation des malades

Pour les diabétiques se présentant spontanément à la consultation, ce sont en général des diabétiques connus des services. Ils consultent pour des malaises fréquents, contrôle et approvisionnement en médicament en carnet de surveillance ou pour des lettres d'orientations vers les autres spécialités (cardiologie, ophtalmologie, néphrologie et neurologie).

2.2.1. Critères d'inclusion

Les critères de l'*American Diabetes Association* (ADA) (ADA, 1997) et la classification de l'*American Heart Association* (Austen et al., 1975). Recommandations en matière de diagnostic, dépistage et classification du diabète, approuvées par l'institut national de la santé (NIH) et par l'OMS ont été retenus, à savoir:

- Une glycémie supérieure ou égale à 1,26 g/L.
- Un Age de 40 ans ou plus.
- Une cardiopathie associée probablement.

2.2.2. Critères d'exclusion

- Incapacité de donner un consentement éclairé.
- Etre atteinte d'une autre forme du diabète.

2.3. Critères d'évaluation des témoins

Individus se présentant spontanément à la consultation pour divers motifs: malaises, ou suspicions d'une maladie infectieuse ou virale. Les plus de 40 ans consultent aussi dans le cadre d'un bilan systématique avec facteurs de risque, tabagisme chez les hommes et prise de contraceptifs chez les femmes.

2.3.1. Critères d'exclusion

- Incapacité de donner un consentement éclairé.
- Avoir une maladie métabolique provoquant une hyperglycémie et ou être sous corticoïdes.

3. Prélèvements et paramètres étudiés

Nous avons collecté l'essentiel des données anthropométriques, cliniques et sociaux démographiques (âge, sexe, poids, taille, tour de taille et des hanches, date de diagnostic, antécédents familiaux liés au diabète et ou aux MCV, la pression artérielle systolique (PAS) et diastolique (PAD), traitement en cours, tabagisme, statut matrimonial, niveau d'études, profession, type d'habitat).

Le sang veineux a été prélevé le matin après 12 heures de jeune. Nous avons recueilli 15 mL de sang sur des tubes EDTA (Ethylène Diamine Tétra-Acétique), et d'héparine pour l'exploration de la formule sanguine, la caractérisation génétique, le dosage de l'insuline, le dosage du peptide C, l'exploration biochimique et le dosage du Trp et de la Kyn.

Les trois composantes sanguines: les globules rouges (hématies), les globules blancs (leucocytes) et les plaquettes ont été mesurées par l'auto analyseur Yumizen H500, HORIBA Medical brings, ces mesures représentent la formule de numération sanguine (FNS) ou l'hémogramme.

La numération globulaire consiste à compter le nombre de globules de chaque lignée cellulaire, et la formule leucocytaire à répartir les globules blancs en différentes classes en fonction de leurs caractéristiques.

Les paramètres biochimiques ont été dosés en utilisant les procédures enzymatiques standards (recommandations de la société Française de biologie clinique (SFBC) ou de la fédération internationale de chimie clinique (IFCC)) sur l'automate Beckman CX7[®] (Beckman-Coulter[®], NY, États-Unis). Le non HDL-C est calculé à partir de la formule suivante: Non HDL-C=cholestérol total (dosé)-HDL-C (dosé).

Le dosage de l'insuline et peptide C se fait par électrochimiluminescence ECLIA Roche sur Modular E170.

3.1. Détermination des concentrations plasmatiques de Trp et de Kyn

Les concentrations plasmatiques du Trp et de la Kyn ont été mesurées par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) selon une méthode déjà décrite (Scheffold et al., 2009; Yamada et al., 2008). 50 µL de plasma sont mélangés et centrifugés (11800 tr/min, à + 4°C, pendant 8 min) après addition de 50 µL d'acétonitrile, pour la précipitation des protéines, contenant du Trp D5 à 50 µM (isotopes CDN, Pointe-Claire, Canada), comme étalon interne. 50 µL de surnageant sont repris et ajoutés en vial à de l'eau désionisée (600 µL). 10 µL de ce mélange sont enfin injectés dans un système UPLC[®]-MS/MS (Acquity TQ-XS Detector, Waters, Milford, États-Unis) équipé d'une colonne CSH Phenyl-Hexy 12,1x100 mm-1,7 µm (Waters, Milford, États-Unis). Les modes positifs *electrosprayionization* (ESI+) et *Multiple Reaction Monitoring* (MRM) sont utilisés respectivement pour l'ionisation et la détection de chaque transition des molécules à quantifier. Le logiciel MassLinks (Waters) est utilisé pour l'acquisition et le traitement des données.

3.2. Extraction de l'ADN par la technique NaCl (*Salting out*)

La technique d'extraction d'acide désoxyribonucléique (ADN) par le chlorure de sodium (NaCl) (Miller et al., 1988) a été choisie en raison de sa rapidité, sa facilité ainsi que l'absence du risque de toxicité par des produits dangereux tels que le phénol. Cette technique comporte les étapes suivantes.

3.2.1. Lyse des globules rouges

Après décongélation au bain marie à 37° C, la lyse des globules rouges est réalisée en complétant le volume de sang avec une solution hypotonique qui est le tris-EDTA (T) 10/10 (Tris/acide chlorhydrique (HCl) 10 mM et EDTA 10 mM ; pH = 8,0). Après lavage, les tubes sont mis dans la glace pendant 30 minutes (l'action conjuguée du Tris et du froid provoque un choc hypotonique conduisant à l'éclatement des globules rouges ayant une membrane fragile) puis centrifugés à 2500 tours/min pendant 15min. La centrifugation quant à elle permet de séparer le surnageant qui contient les débris de globules rouges des globules blancs qui sont précipités au fond du tube formant un culot.

Cette opération de lavage est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un culot blanchâtre qui correspond aux globules blancs.

3.2.2. Lyse des globules blancs

Le culot de leucocytes est traité par 5 mL de solution de lyse des globules blancs (Tris/HCl 10 mM ; EDTA 0,1 M et le sodium dodécyl sulfate (SDS) 0,5% ; pH = 8,0). 100 µl

de protéinase K à 20 mg/mL sont additionnés pour digérer les protéines associées à l'ADN nucléaire. Après homogénéisation, le mélange est incubé au bain marie à 37°C pendant une nuit. L'EDTA est un chélateur d'ions bivalents inhibant l'activité des DNases et le SDS est un puissant détergent lysant les membranes cellulaires et dissociant les complexes d'acides nucléiques.

3.2.3. Précipitation de l'ADN

Deux millilitres de NaCl 5 M sont ajoutés dans chaque tube. Après une centrifugation de 10 min à 4000 tours/min, le surnageant contenant l'ADN est transféré dans un autre tube et est précipité avec deux volumes d'éthanol absolu froid. L'ADN est visible à l'oeil sous forme de filaments formant une méduse. Cette dernière est récupérée et ensuite lavée avec une solution d'éthanol à 70% pour se débarrasser des traces éventuelles de sels, puis séchée et dissoute dans des tubes eppendorfs en présence de 100 à 600 µl de TE10/1 (Tris/HCl 10 mM et EDTA 1 mM ; pH = 8,0) selon la taille de la méduse. L'ADN est dissout totalement dans ce tampon sous agitation douce à +4°C pendant plusieurs jours.

3.2.4. Contrôle de qualité de l'ADN

Le contrôle de qualité de l'ADN extrait se fait sur deux étapes limitantes pour la réussite des futures réactions d'amplification.

La première étape consiste à déterminer la qualité de l'ADN par dépôt sur gel d'agarose 1% et migration électrophorétique. Un ADN de bonne qualité se présentera sous forme d'une seule bande, alors qu'un ADN dégradé donnera une image en traînée, la visualisation se fait sur l'automate Gel Doc Bio-Rad xR⁺ dont le principe est l'exposition du gel aux rayons ultraviolets (UV) après coloration au *RedSafe*, molécule fluorescente remplaçant le bromure d'éthidium car ce dernier présente un risque cancérigène.

La deuxième étape a pour but d'estimer de la quantité de l'ADN après chaque extraction. En effet, il est nécessaire de connaître la concentration de l'ADN extrait afin de pouvoir connaître la quantité de l'ADN nécessaire pour une amplification par PCR et de réaliser les dilutions nécessaires aux prochaines réactions. Ce contrôle s'effectue par le nanodrop ND-1000 spectrophotometer. A une longueur d'onde de 260 nm, une unité de densité optique (DO) correspond à 50 µg d'ADN double brin par mL.

La pureté de l'ADN est permise par le calcul du rapport suivant:

A260/A280: une valeur inférieure à 1,8 témoigne d'une contamination par des protéines, un deuxième traitement par la protéinase K est recommandé. Alors qu'une valeur supérieure à 2 montre une contamination par l'ARN, un traitement par des RNases est nécessaire.

3.3. Etude du polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1 par PCR-RFLP

Le génotypage du SNP rs35099072 a été réalisé par la technique de biologie moléculaire d'amplification par réaction de polymérisation en chaîne suivie par une digestion enzymatique (PCR-RFLP) (Botstein et al., 1980).

La PCR est une méthode d'amplification génique spécifique *in vitro*, Elle utilise de façon répétitive l'activité d'une ADN polymérase thermorésistante (la Taq polymérase) pour synthétiser *in vitro* la séquence d'ADN à amplifier selon un procédé d'extension d'amorces

(oligonucléotides monocaténaire complémentaires aux extrémités de l'ADN). L'ADN est d'abord dénaturé c'est-à-dire séparation des deux brins par chauffage (95° C pendant 30 secondes à 1 minute). Ensuite, l'hybridation des amorces, c'est l'étape déterminante pour l'efficacité et la spécificité de la PCR. Elle s'effectue généralement à une température autour de 55° C. Cette température dépend de la température de fusion des amorces (T_m) qui dépend-elle même de la composition en bases de l'amorce. Puis, la synthèse des deux brins à partir des amorces hybridée dans le sens 5'--- 3' par l'enzyme taq polymérase qui incorporant les quatre désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP) en présence d'un tampon adéquat, c'est l'élongation. Cette étape se fait à 72° C et dure 30 secondes à une minute.

Ces trois étapes (dénaturation, hybridation et élongation) sont répétées plusieurs fois. Après n cycle, le nombre théorique de copies d'ADN obtenues est de 2ⁿ (n: nombre de cycle). Mais en pratique le nombre de brins est limité à cause de la baisse de certains réactifs, l'augmentation de la viscosité du milieu et la baisse de l'activité de l'ADN polymérase thermostable.

A l'issue de la PCR, on obtient des fragments de même taille correspondant à la distance en base qui sépare les amorces.

La RFLP (polymorphisme de longueur de fragments de restriction) est une technique basée sur la détection des variations de la longueur des fragments de restriction produits lorsque l'ADN est traité par des endonucléases de restriction. Les différences des longueurs des fragments résultent de la variation génétique due à la présence ou l'absence de site (s) de restriction.

L'électrophorèse sur gel d'agarose permet de séparer et d'identifier des fragments d'ADN, pour déterminer leur taille, pour en estimer la quantité.

Les facteurs les plus importants sont la taille de l'ADN (c'est-à-dire la masse moléculaire), les molécules de petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de grande taille et la charge négative de l'ADN.

La vitesse de migration d'une molécule d'ADN est en fonction de deux paramètres: sa taille et la concentration en agarose du gel (l'augmentation de la concentration d'agarose dans un gel réduit la vitesse de migration), mais le voltage et la force ionique du tampon interviennent également.

Le choix de la concentration du gel d'agarose est en fonction de la taille des fragments d'ADN à séparer. Pour bien évaluer la taille exacte des fragments digérés obtenus, nous avons utilisé un marqueur de taille de 1 Kb (GeneRuler 1 kb DNA ladder by Thermo Fisher Scientific). La migration se fait pendant 1 heure à 100 volts dans un tampon de migration TBE (1X, pH=8,4).

La révélation se fait par exposition du gel aux rayons UV (Gel Doc Bio-Rad xR⁺) après coloration au *RedSafe* qui s'intercale entre les bases d'ADN, devient fluorescent et permet de visualiser directement les fragments de restriction.

3.3.1. Amplification

3.3.1.1. Réactifs

L'ADN matrice: c'est le fragment d'ADN cible, En théorie une copie d'ADN de la séquence recherchée est suffisante pour avoir une amplification, il faut cependant tenir compte de la probabilité de « rencontre » des molécules d'ADN matrice avec les amorces.

Dans la pratique plusieurs copies sont nécessaires pour avoir un résultat correct. Mais la mauvaise qualité et/ou une quantité trop importante d'ADN matrice peut conduire à une amplification non spécifique, voire à une inhibition enzymatique.

Les amorces: le choix des amorces est crucial. Elles vont avoir un double rôle: en s'hybridant à l'ADN matrice, elles délimitent le fragment d'ADN à amplifier et avec leur extrémité 3'OH libre servent d'amorce pour la taq polymérase.

Les deux amorces utilisées sont:

L'amorce sens: 5'AGAGTAGTCAGGAGGATT 3'

L'amorce anti-sens: 5' TGCATGATGCAGTTATAATGC 3'

Ces amorces ont une température d'hybridation inférieure à la température d'hybridation (T_m) de 4° C.

$$T_m = 2(A+T) + 4(C+G)$$

L'ADN polymérase: Elle assure la synthèse de l'ADN, les premières ADN polymérases utilisées provenaient d'une bactérie thermophile comme par exemple *Thermus-aquaticus* (Taq polymérase).

De nos jours, les enzymes utilisées sont dites recombinantes, ce qui simplifie considérablement leur obtention, et leurs propriétés ont été largement modifiées pour les rendre plus efficaces et plus fidèles.

Les dNTPs: Les dNTPs (dATP, dGTP, dCTP et dTTP) constituent le substrat de la réaction de polymérisation. Ils seront utilisés par la Taq polymérase pour la synthèse des nouveaux brins d'ADN complémentaires.

Le chlorure de Magnésium (MgCl₂): c'est un cofacteur essentiel du taq polymérase. La concentration en MgCl₂ est un facteur critique de l'amplification, une diminution de MgCl₂ diminue l'activité de l'enzyme et une augmentation induirait des amplifications non spécifiques avec des erreurs de lecture.

Le tampon: Le tampon utilisé pour la réaction PCR sert à maintenir stable le pH du milieu réactionnel au niveau optimal pour la Taq polymérase et à favoriser l'hybridation des amorces. C'est le Tampon Tris HCl avec du chlorure de potassium (KCl) (à pH basique 8,5 à 9) qui est généralement utilisé.

3.3.1.2. Optimisation de la PCR

Pour optimiser les conditions de la réaction PCR nous avons préparé des milieux réactionnels avec une gamme de concentration de MgCl₂ : 1 mM, 1,5 mM et 2 mM afin de déterminer la concentration optimale en MgCl₂ nécessaire pour cette amplification.

3.3.1.3. Réaction PCR

Les amplifications ont été réalisées sur un thermocycleur automatique (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler) dans lequel sont placés les microtubes contenant un volume final de 50 µL de mélange réactionnel.

Pour chaque réaction PCR un contrôle négatif (sans ADN) est toujours réalisé pour s'assurer de l'absence de réaction non spécifique.

Pour préparer un mix réactionnel (Tableau 1), nous avons multiplié la quantité de chaque réactif par le nombre d'échantillons à amplifier plus le contrôle négatif, nous avons

dispatché ce milieu réactionnel sur des microtubes dans lesquels l'ADN génomique a été additionné.

Tableau 1: Conditions optimales choisie pour la PCR.

Réactifs	Volume (µl)
Tampon (5X)	10
MgCl ₂ (25 mM)	4
dNTPs (2 mM)	5
Amorce sens (16 pmole/µL)	1
Amorce anti-sens (16 pmole/µL)	1
Taq polymérase (5 U/µL)	0,3
ADN (150 ng/µL)	1,5
H ₂ O qsp 50 µL	27,2

µL: microlitre, **mM:** millimolaire, **pmole/µL:** picomole/microlitre, **U/µL:** unité/microlitre, **ng/µL:** nanogramme/microlitre.

Le programme d'amplification comporte 30 cycles des trois étapes essentielles de la PCR:

Dénaturation: 30 sec à 95° C
 Hybridation: 30 sec à 51° C
 Elongation: 30 sec à 72° C

Les 30 cycles de la PCR sont précédés par une dénaturation initiale pendant 3 min à 95° C et une élongation finale de 5 min à 72° C finalise l'amplification.

3.3.1.4. Vérification des produits de PCR

Le but de cette étape est de s'assurer du bon déroulement de l'amplification de l'ADN avant de passer à la digestion enzymatique. La présence de notre produit PCR a été vérifié par une électrophorèse sur gel d'agarose 2% (un champ électrique fait migrer les acides nucléiques chargés négativement du cathode (-) vers l'anode (+)) et en présence d'un marqueur de taille (GeneRuler 1Kb DNA ladder by Thermo Fisher Scientific).

La révélation se fait toujours dans le Gel Doc Bio-Rad xR par exposition du gel aux rayons UV après coloration au *RedSafe*. Enfin, il faut vérifier l'obtention d'une bande unique correspondant à la taille de l'amplicon qui est égale à 712 pb (paire de bases).

3.3.1.5. Préparation du gel

Pour préparer 150 mL de gel d'agarose à 2% on fait dissoudre trois grammes d'agarose dans 150 mL de tampon Tris-Borate-EDTA 1X (TBE) dans un erlenmeyer, le

mélange est porté à ébullition jusqu'à la dissolution totale de l'agarose et obtention d'une solution liquide transparente, puis on ajoute 2 µL de *Redsafe* après refroidissement, agent fluorescent qui s'intercale entre les bases de l'ADN. Après homogénéisation, le gel est coulé sur cuve horizontale munie d'un peigne pour former les puits au sein du gel. Après polymérisation, on immerge le gel dans la cuve contenant du tampon TBE 1X.

3.3.1.6. La révélation

Pour chaque échantillon, 8 µL de produit de PCR sont mélangés à 2 µL de marqueur de charge (5X) qui est composé de bleu de bromophénol et de xylène cyanol puis déposés dans le puit du gel.

Les deux marqueurs migrent à des vitesses différentes: le bleu de bromophénol migre avec les petits fragments d'ADN, le xylène cyanol migre avec les fragments de grande taille. On peut donc suivre indirectement la migration de l'ADN.

La migration électrophorétique est conduite à 100 volts pendant une heure en présence d'un marqueur de taille. La lecture est faite sur Gel Doc Bio-Rad xR, l'ADN est visualisé sous forme de bandes fluorescente grâce au *Redsafe*.

3.3.2. Digestion enzymatique

Parmi les utilités de la digestion enzymatique est la détermination des SNPs modifiant un site de restriction, en l'abolissant ou à l'inverse en le créant.

Les produits du PCR sont soumis à une digestion enzymatique par une enzyme de restriction. Dans notre étude nous avons utilisé l'enzyme *Hae II* (Takara Bio Europe S.A.S. SD2869) (Tableau 2).

Tableau 2: Site de restriction de l'enzyme *Hae II*.

Enzyme	Source	Séquence reconnue	Coupure	Extrémités	Température
<i>Hae II</i>	<i>Haemophilus aegypticus</i>	5' GCGC 3' 3' CGCG 5'	5' GCGC↓3' 3'↑CGCG 5'	Cohésives	37° C

La digestion enzymatique des produits de la PCR par l'enzyme *Hae II* est réalisée selon les conditions indiquées dans le Tableau 3.

Tableau 3: Mix de la digestion enzymatique par *Hae II*.

Réactifs	Volume (µl)
Tampon (10X)	2
Enzyme <i>Hae II</i> (10 U/µL)	1
Produit de la PCR	15
Eau ultra pure qsp 20 µL	2

µL: microlitre, **U/µL:** unité/microlitre.

Ce milieu de digestion est incubé à 37° C pendant une heure dans un incubateur (Dry Bath Incubator) sans agitation.

La présence de polymorphisme rs35099072 de l'exon 3 du gène IDOI fait disparaître le site de restriction de l'enzyme *Hae II*.

Donc trois profils de migration électrophorétique peuvent être observés après la digestion enzymatique:

CC: la forme homozygote sauvage (176 et 536 pb)

CT: la forme hétérozygote (176, 536 et 712 pb)

TT: la forme homozygote mutée (712 pb)

On peut donc selon le profil migratoire déterminer les génotypes des patients et ceux des témoins en se basant sur la taille des fragments séparés par électrophorèse sur gel d'agarose en présence d'un marqueur de taille (GeneRuler 1Kb DNA ladder by Thermo Fisher Scientific).

3.3.3. Electrophorèse sur gel d'agarose

Comme le contrôle qualitatif de l'ADN et des produits de la PCR, le contrôle de la digestion enzymatique se fait par électrophorèse sur gel d'agarose.

Pour déterminer la taille des produits de digestion enzymatique nous avons réalisé une migration électrophorétique sur un gel d'agarose de 2% pendant 1 heure à 100 volts dans le tampon TBE (1X, pH=8,4) et en présence d'un marqueur de taille 1Kb (Gene Ruler 1Kb DNA ladder).

3.3.4. Révélation au *Redsafe*

La révélation se fait sur l'automate Gel Doc Bio-Rad xR dont les bandes de fluorescence sous rayons UV permettent d'identifier les fragments.

4. Données d'association du DT2 et pathologies

Du fait de la transition épidémiologique, la prévalence du diabète est en pleine augmentation dans nos populations de l'extrême Ouest Algérien. En dehors de ces

particularités épidémiologiques, il existe des spécificités cliniques, hématologiques, génétiques et biologiques et ainsi que l'association de complications aiguës et chroniques. Qui peuvent être liées à la précarité socio-économique; d'autres comme la prévalence élevée de l'hypertension artérielle (HTA) sont imputables à la prévalence déjà élevée de l'hypertension dans la population générale, les problèmes cardiovasculaires le syndrome métabolique, certains types de cancer et les risques liées à l'apport alimentaire.

Nous nous sommes particulièrement intéressés au profil du Trp et une partie importante de ce travail a pour but d'évaluer l'association du Trp avec le développement du DT2 et à tester le rôle pathogène de l'activité de l'enzyme IDO1 dans la survenue de l'IDM chez les sujets diabétiques de type 2.

Toutes ces particularités doivent être prises en compte pour une bonne description du DT2 chez des patients originaires de l'extrême ouest Algérien.

5. Justification de l'étude

Ce travail de thèse vise à mieux comprendre les associations entre le mauvais contrôle glycémique et les facteurs de risque potentiels chez les diabétiques de type 2 en utilisant des modèles de régression logistique binaire.

Nos travaux ont permis de:

- De décrire les caractéristiques anthropométriques, sociaux économiques et biologique des diabétiques de type 2 avec ou sans complications ainsi que celle de la population témoin qui nous à servit à réaliser des études cas témoins.
- De vérifier l'association du profil hématologique au DT2.
- De vérifier la contribution du non HDL-C au développement du DT2 dans la population de la ville de Tlemcen et ces régions.
- D'estimer la part du non HDL-C dans la survenue des pathologies cardiovasculaires chez des diabétiques de type 2 originaires de l'extrême ouest Algérien.
- d'évaluer l'intérêt du dosage de l'insuline et des fractions lipidiques dans la pratique actuelle de risque d'HTA chez les patients diabétiques de type 2 de l'ouest Algérien.
- D'évaluer l'impact de l'utilisation des antidiabétiques oraux (metformine) et de l'insuline sur le risque de survenue du cancer dans la population diabétique de type 2.
- De vérifier le statut du Trp et de la Kyn chez des patients diabétiques de type 2 avec antécédents d'évènements cardiovasculaires de l'ouest Algérien.
- De tester le rôle pathogène de l'activité de l'enzyme IDO1 exprimée par le ratio K/T dans la survenue de l'IDM chez les sujets diabétiques de type 2.
- D'analyser de polymorphisme rs35099072 du gène IDO1 chez des patients diabétiques de type 2 associant une cardiopathie.
- D'étudier l'association de polymorphisme rs35099072 du gène IDO1 et le DT2 ainsi que les pathologies cardiovasculaires dans la population de l'extrême ouest Algérien.

6. Analyses statistiques

Les variables qualitatives sont présentées en valeurs absolues et/ou pourcentages (%) leurs comparaisons a été faite le test Khi-deux, alors que les variables quantitatives sont présentées en moyenne±écart type et comparées par le test *t* de *student*, une analyse à un facteur (ANOVA) a été utilisée pour la comparaison entre plus de deux moyennes.

Pour déterminer la part des variables mesurées dans la survenue du DT2 et afin de tester l'association entre ces variables et la pathologie nous avons effectué des tests de corrélations de *Pearson*, des régressions linéaires simples et multiples (Saporta, 2006).

Les régressions logistiques binaires ont été utilisées afin d'établir des modèles prédictifs du DT2 et/ou les pathologies associées à l'aide des facteurs mesurés (la variable de réponse est ici notée Y, qui dénombre les sujets diabétiques de type 2 (D) et les témoins (T), (D) étant la valeur de référence) (Nakache and Confais, 2003).

Une *p*-value inférieure à 0,05 a été considéré comme significative.

L'équation prédictive de la survenue du DT2 et/ou les pathologies associées est:
 $C(X) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_P X_P$

Où les X_i indiquent les prédicteurs effectivement retenus dans le modèle logistique (seuil de signification $p < 0,05$), avec les coefficients β_i qui leur sont affectés. Notons que si pour certaines valeurs de X_i , $C(X) > 0$, alors $P(Y=1 / X) > 0,5$ et donc l'individu est exposé au DT2 et/ou pathologies associées.

Les courbes *receiver operating characteristic* (ROC) et les *area under curve* (AUC) ont permis d'évaluer les capacités prévisionnelles des modèles choisis.

Soit la matrice de confusion (Tableau 4):

Tableau 4: Matrice de confusion.

	Positif	Négatif
Positif	Vrai positif	Faux négatif
Négatif	Faux positif	Vrai négatif

La courbe ROC met en relation le taux de vrai positifs (TVP = la sensibilité = le rappel = VP/positifs) et le taux de faux positifs (TFP = 1-spécificité = FP/négatifs) dans un graphique. Habituellement, nous comparons $p(w)$ à un seuil $S=0,5$ pour effectuer une prédiction $y(w)$. Nous pouvons ainsi construire la matrice de confusion et en extraire les deux indicateurs précités. La courbe ROC généralise cette idée en faisant varier sur tout le continuum des valeurs possible du seuil S entre 0 et 1. Pour chaque configuration nous construisons la matrice de confusion et nous calculons TVP et TFP.

Le tableau 5 rapporte les classes discrimination d'un modèle prédictif. Une valeur de l'AUC élevée signifie que le modèle sépare bien les malades du non malades.

Tableau 5: Classe de discrimination en fonction des valeurs de l'AUC.

Valeur de L'AUC	Commentaire
AUC =0,5	Pas de discrimination
$0,7 \leq \text{AUC} < 0,8$	Discrimination acceptable
$0,8 \leq \text{AUC} < 0,9$	Discrimination excellente
AUC $\geq 0,9$	Discrimination exceptionnelle

L'Excel 2007, le Minitab de la 16^{eme} version et celui de la 18^{eme} version ainsi que le SPSS 23 sont les principaux logiciels utilisés.

TROISIÈME PARTIE

Résultats

et

Discussion

Chapitre 1

Description de la population

Chapitre 1: Description de la population

1. Introduction

Le diabète une affection métabolique qui résulte une hyperglycémie chronique (ADA, 2011), cette dernière se manifeste dans le cas d'une production insuffisante de l'insuline par le pancréas ou l'organisme n'utilise pas efficacement l'insuline qu'il produit (WHO, 2016).

Le diabète de type 1 (diabète insulino-dépendant) et le DT2 (diabète non insulino-dépendant) sont les deux principales formes du diabète.

La première forme c'est une affection auto-immune, apparaît à un jeune âge et représente environ 10% de la population diabétique.

Deux anomalies peuvent être responsables de l'hyperglycémie dans la deuxième forme du diabète, l'insulinopénie et l'insulinorésistance. Il s'agit d'une maladie évolutive qui apparaît généralement après l'âge de 40 ans et représente environ 85% des diabétiques (WHO, 2016).

A l'échelle mondiale la prévalence du diabète ne cesse d'augmenter, les estimations de la fédération internationale du diabète, 450 millions de personnes âgées de 20 à 79 ans atteints de diabète, et ce nombre atteindra les 629 millions en 2045 (IDF, 2017).

En Algérie, environ 1,8 millions de cas de diabète en Algérie avec une prévalence nationale de 6,9% dans l'année 2017 (IDF, 2017). Dans la région de Tlemcen la prévalence globale du diabète est de 14,2% en 2007 (Zaoui et al., 2007), cependant la prévalence du DT2 en 2013 était de 5,09% en 2013 à Tlemcen et ces régions (Dali-Sahi, 2012).

Deux types d'altérations vasculaires résultent du diabète, d'abord les complications macroangiopathies touchent les grosses artères et causant l'IDM et l'hypertension, ensuite dans les complications microangiopathies, les petits vaisseaux sont touchés et peuvent être la cause des néphropathies, rétinopathies et neuropathies (Caballero et al., 1999; Hansson, 2005) Il est clair aussi que le DT2 est en cause de nombreuses cancers (Gallagher and LeRoith, 2015).

Dans la présente étude nous avons étudié les caractéristiques anthropométriques, sociales économiques et biologiques de la population diabétique de type 2 échantillonnée.

2. Matériel et Méthodes

Il s'agit d'une étude analytique, réalisée sur une population de 1907 sujets diabétiques de type 2 et 1581 témoins originaires de la ville de Tlemcen et de quatre de ces régions afin d'étudier les caractéristiques anthropométriques, sociales économiques, cliniques et biologiques de cette population. Les enquêtes ont été menées entre 2015 et 2019 au niveau des villes de Ghazaouet, Maghnia, Tlemcen, Sebdo et Sidi Djilali.

Nous avons inclus dans notre étude tout patient répondant aux recommandations approuvées par le NIH et par l'OMS à savoir une glycémie supérieure ou égale à 1,26 g/L, un âge de 40 ans ou plus et une cardiopathie associée probablement.

Pour les témoins, les individus âgés de 40 ans et plus qui se présentent à la consultation pour divers motifs: malaises, ou suspicions d'une maladie infectieuse ou virale ont été sélectionnés.

La collection des informations relatives aux données anthropométriques, cliniques et sociodémographiques ainsi que les prélèvements sanguins employés dans les mesures

biologiques a été faite au niveau des structures de santé des régions concernées après un travail de sensibilisation et d'information sur le diabète.

Le registre du diabète, le dossier médical et le questionnaire ont été les trois procédés utiles pour la collecte des données.

2.1. Analyses statistiques

Les variables quantitatives sont exprimées en moyenne±écart type, et les variables qualitatives sont exprimées en pourcentage (%), une régression logistique a été appliquée pour déterminer l'association des facteurs étudiées au DT2.

Le traitement statistique des données a été effectuée sur les logiciel SPSS 23 et Excel 2007 pour Windows. Une *p*-value inférieur à 0,05 a été considérée significative.

3. Résultats

3.1. Description de la population

Dans notre travail de thèse nous avons testé nos hypothèses sur plusieurs sous groupes de la population échantillonnée à cause du manque de quelques variables dans la population totale, pour cela nous avons décrit notre population sur deux classes, la première représente la population totale, alors que la deuxième c'est une description partielle en fonction des variables étudiées chez les sous groupes sélectionnés.

3.1.1. Description totale

Dans cette première partie de la description de la population, nous décrivons l'ensemble de la population échantillonnée dont les patients et les témoins partagent toutes les données des mêmes variables.

La population étudiée présente une variabilité régionale entre diabétiques de type 2 et les témoins, la figure 2 résume les pourcentages de chaque groupe par rapport aux zones d'étude.

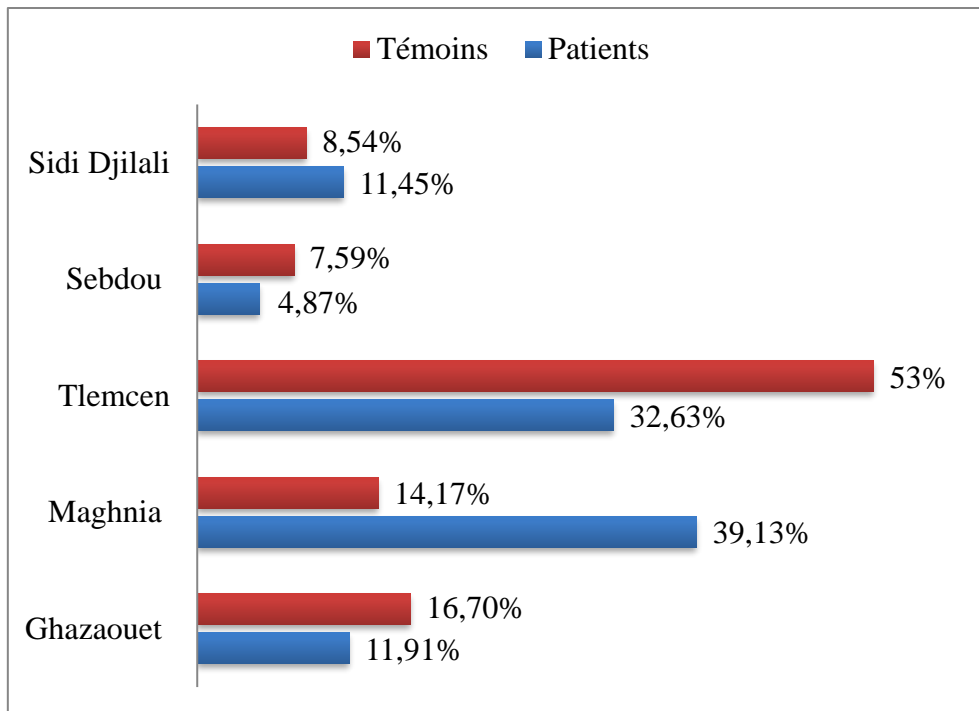


Figure 2: Répartition de la population selon les zones d'études.

Les caractéristiques anthropométriques, cliniques et les antécédents familiaux (diabète, MCV, HTA) de la population échantillonnée (patients et témoins) sont rapportées dans le tableau 4.

Tableau 6: Données descriptives de la population échantillonnée.

Paramètres	Patients (n=1907)	Témoins (n=1581)
Age (ans)	60,59±12,47	50,6±14,17
Sexe (%)		
Hommes	34,50	38,77
Femmes	65,50	61,23
IMC	27,7±5,16	25,12±5,34
Consanguinité (%)	43	39,85
PAS (mmHg)	12,82±1,92	11,85±1,48
PAD (mmHg)	7,32±1,21	7,35±1,15
Antécédents familiaux du diabète (%)	43,18	8,92
Antécédents familiaux des MCV(%)	24,95	1,90
Antécédents familiaux d'HTA (%)	19,32	5,75
Tabagisme (%)	21,91	7,97

mmHg: millimètre de mercure.

Trois pathologies (maladies cardiovasculaires, HTA et cancers) ont été retrouvées chez la population diabétique de type 2 étudiée. La figure 3 résume les fréquences des maladies associées au DT2.

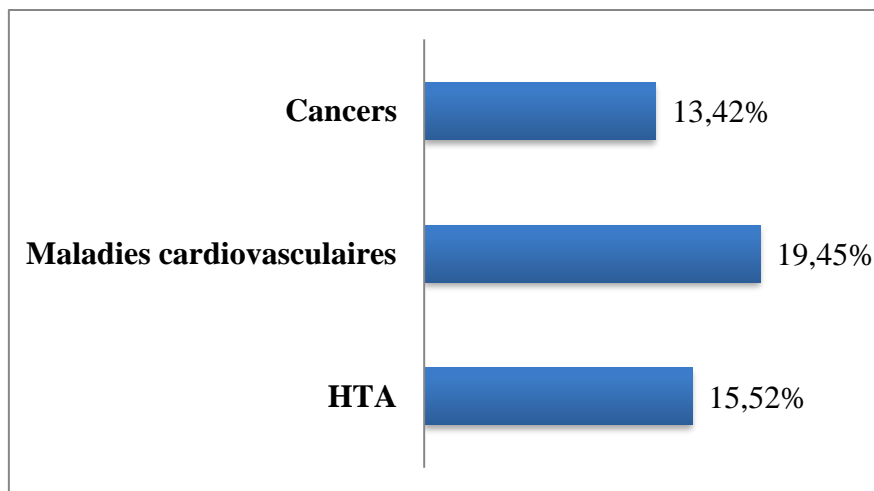


Figure 3: Les pathologies associées au DT2.

L’IDM, les embolies pulmonaires et les accidents vasculaires cérébraux (AVC) sont les principales MCV associées au DT2 dans cette population (Figure 4).

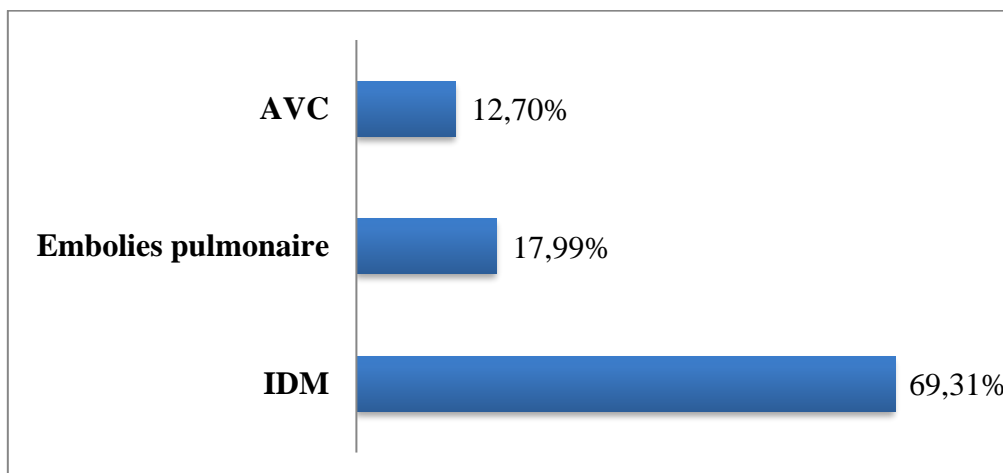


Figure 4: Les trois types des MCV associées au DT2.

Les niveaux sociaux économiques et culturels de la population sont montrés dans le tableau suivant (Tableau 7).

Tableau 7: Données sociaux économiques et culturelles de la population d’étude.

Paramètres	Patients (n=1907)	Témoins (n=1581)
Niveau d’instruction (%)	Analphabète: 52,63	Analphabète: 26,57
	Primaire: 20,23	Primaire: 20,62
	Secondaire: 21,62	Secondaire: 47,75
	Universitaire: 5,5	Universitaire: 5,06
Statut Marital (%)	Célibataire: 3,45	Célibataire: 25,43
	Veuf: 2,92	Veuf: 0,89
	Marié: 93,61	Marié: 73,68
Type d’habitat (%)	Maison Individuelle: 50,42	Maison Individuelle: 20,37
	Maison Collective: 49,57	Maison Collective: 79,63

Le tableau ci-dessous (Tableau 8) résume l’essentiel des données glucidiques (glycémie), lipidiques (cholestérol totale et triglycérides) ainsi que le bilan rénal (urée et créatinine) chez l’ensemble de la population étudiée.

Tableau 8: Caractéristiques glucidiques, lipidiques et rénales de la population étudiée.

Paramètres	Patients (n=1907)	Témoins (n=1581)
Glycémie (g/L)	2,14±0,84	1,04±0,38
Cholestérol total (g/L)	1,74±0,43	1,72±0,95
Triglycérides (g/L)	1,90±1,24	1,21±0,51
Urée (g/L)	0,42±0,39	0,33±0,24
Créatinine (mg/L)	11,8±4,11	10,25±6,68

g/L: gramme/litre, **mg/L:** milligramme/litre.

3.1.2. Description partielle

Dans cette deuxième partie descriptive nous décrivons les principales variables étudiées chez les sous groupes sélectionnés afin de tester nos hypothèses.

Pour le profil hématologique des sujets diabétiques de type 2, les paramètres sanguins sont classés en trois classes : la numération globulaire et leucocytaire, les constantes et les indices érythrocytaires et la vitesse de sédimentation.

Nous donnons la numération globulaire et leucocytaire dans le tableau 9.

Tableau 9: Numération globulaire et leucocytaire.

Lignées globulaires	Patients (n=1059)	Témoins (n=793)
Globules rouges ($\times 10^{12}/L$)	8,9±40,1	4,970±0,863
Globules blancs ($\times 10^9/L$)	8,42±3,64	7,85±3,28
Plaquettes ($\times 10^9/L$)	260,0±98,3	298±133
Lymphocytes ($\times 10^9/L$)	4,8±23,8	2,96±1,28
Monocytes ($\times 10^9/L$)	0,559±0,276	0,608±0,201
Eosinophiles ($\times 10^9/L$)	0,181±0,210	0,181±0,231
Basophiles ($\times 10^9/L$)	0,157±0,198	0,104±0,248

10⁹/L: giga/litre.

Les données résumant les constantes et les indices érythrocytaires sont représentées dans le tableau ci-dessous (Tableau 10).

Tableau 10: Constantes et indices érythrocytaires.

Indices érythrocytaires	Patients (n=1059)	Témoins (n=793)
Hémoglobine (g/dL)	13,10±2,74	14,4±11,3
Hématocrite (%)	39,80±7,87	38,55±7,52
VGM (fL)	81,1±11,4	79,4±13,2
TCMH (pg)	28,7±13,8	26,52±4,31
CCMH (g/dL)	33,19±3,63	33,1±10,8

g/dL: gramme/décilitre, **fL:** femtolitre, **pg:** picogramme.

Le tableau 11 donne résumés des vitesses de sédimentation à une heure et à deux heures.

Tableau 11: La vitesse de sédimentation.

Vitesse de sédimentation	Patients (n=1059)	Témoins (n=793)
VS à 1 h/mm	28,2±20,9	32,0±30,8
VS à 2 h/mm	50,4±32,9	50,4±32,9

h/mm: millimetre/heure.

Les fractions HDL-C et LDL-C du bilan lipidique et le non HDL-C calculé chez des sous groupe: des diabétiques de type 2 associant une cardiopathie, des diabétiques de type 2 et des témoins sont données dans le tableau 12.

Tableau 12: Les fractions lipidiques chez des populations diabétiques de type 2 avec et sans cardiopathies.

Paramètres	Diabétiques avec cardiopathies (n=371)	Diabétiques de type 2 (n=1059)	Témoins (n=1533)
HDL-C (g/L)	0,41±0,08	0,43±0,19	0,53±0,18
LDL-C (g/L)	1,07±0,35	1,24±1,17	1,17±0,62
Non HDL-C (g/L)	1,27±0,38	1,27±0,58	1,28±0,49

g/L: gramme/litre.

Le tableau 13 rapporte les données des indicateurs du métabolisme glucidique (les niveaux d'insuline sécrété, le peptide C, l'HOMA-IR, les cellules alpha et les cellules béta) chez un groupe de patients atteints au DT2.

Tableau 13: Indicateurs du métabolisme glucidique chez une population diabétique de type 2.

Paramètres	Diabétiques de type 2 (n=101)
S %	64,85±41,11
β %	63,61±67,03
Peptide C (µg/L)	2,53±2,59
Insuline (µU/mL)	11,96±9,25
HOMA-IR	2,53±2,59

µg/L: microgramme/litre, µU/mL: microunité/millilitre.

Les pourcentages des différents types des cancers (sein, colon, poumon, estomac) retrouvée chez un groupe de 256 patients atteints du DT2 de la région de Tlemcen sont montrés dans la figure 5.

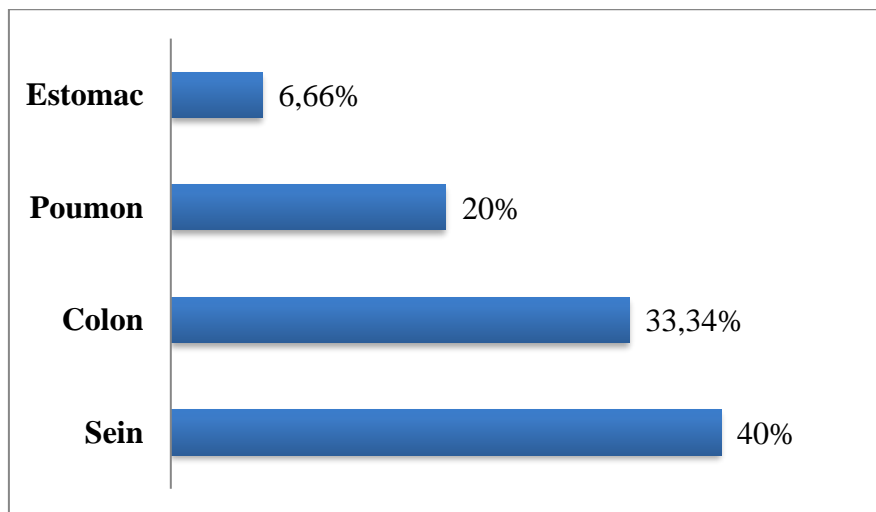


Figure 5: Fréquences des cancers chez une population diabétique de type 2 de l'ouest Algérien.

La figure 6 donne la distribution des cancers selon le sexe chez des diabétiques de type 2 de l'ouest Algérien.

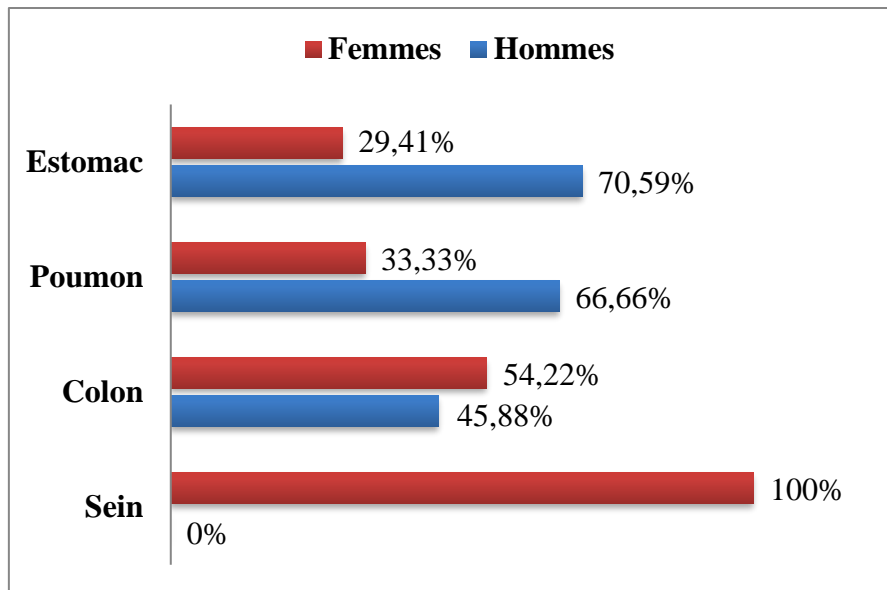


Figure 6: Répartition des cancers chez les diabétiques selon le sexe.

Les deux types de traitements (antidiabétiques oraux et traitement par de l’insuline) utilisés chez la population des diabétiques de type 2 atteints du cancer (figure 7).

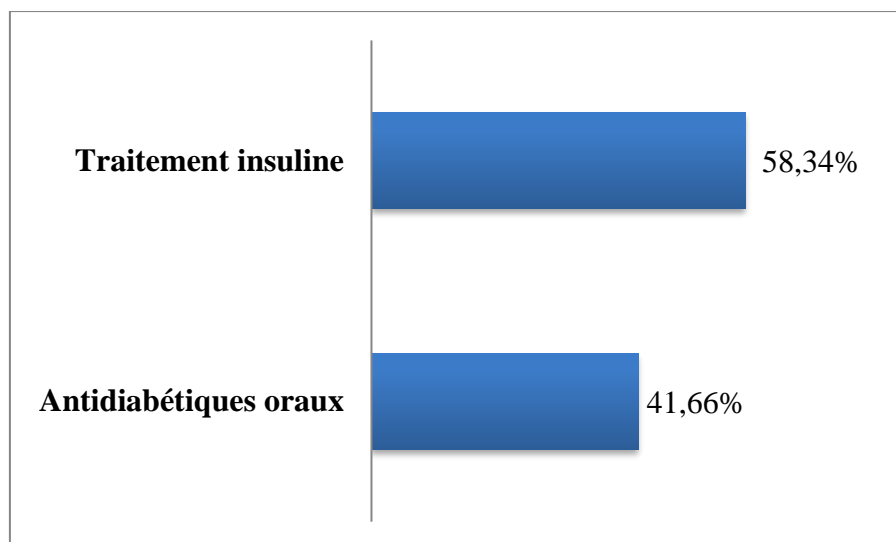


Figure 7: Types des traitements chez des diabétiques cancéreux.

Pour le métabolisme du Trp, les concentrations plasmatiques du Trp et de la Kyn a permis de calculer le ratio Kyn/Trp (K/T) qui peut exprimer l’activité de l’enzyme IDO1 dans une population diabétique de type 2 atteintes de pathologie cardiovasculaire (Tableau 14).

Tableau 14: Données descriptives du catabolisme du Trp chez des sujets diabétiques de type 2 associant une cardiopathie.

Paramètres	Diabétiques de type 2 avec cardiopathies (n=120)
Trp (nM)	55418±17389
Kyn (nM)	4134±1828
K/T (×100)	8,61±5,47

nM: nanomolaire.

La figure 8 montre les fréquences alléliques résultent de génotypage du polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1 chez des diabétiques de type 2 avec cardiopathies et chez des témoins.

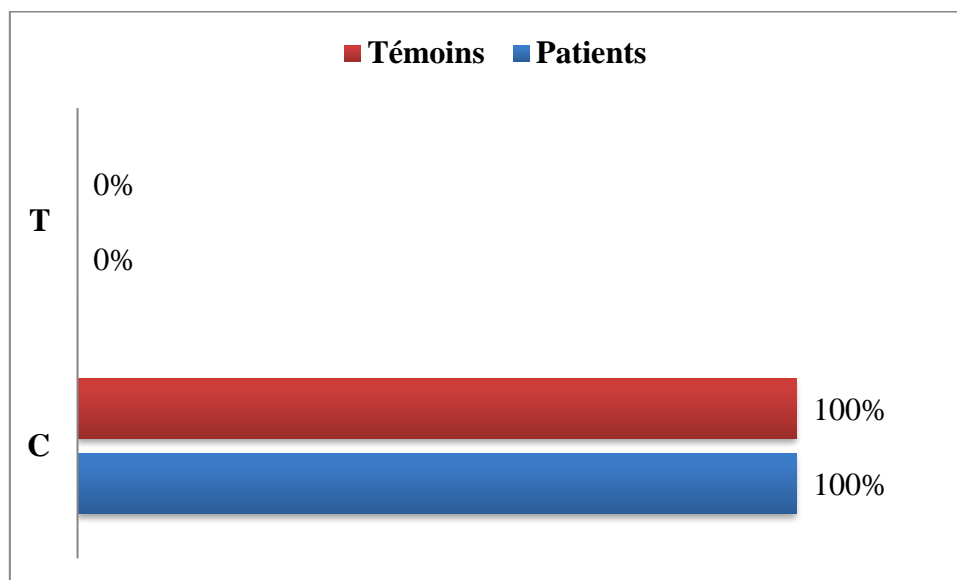


Figure 8: Fréquences alléliques de polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1.

L'étude multivariée des variables anthropométriques et sociales culturelles montre une association statistiquement significative entre le DT2 et le gradient géographique, le sexe, les antécédents familiaux du diabète et des maladies cardiovasculaires, le niveau d'instruction, le statut marital et le type d'habitat (Tableau 15).

Le tableau révèle une disparité géographique très importante avec un seuil de signification inférieure à 0,05 pour Ghazaouet, Maghnia, Seb dou et Sidi Djilali.

En considérant Tlemcen comme région de référence, cette région semble très exposée au DT2, les régions de Maghnia et Sidi Djilali sont plus exposées au DT2 (OR=3,04 ; 95% IC=2,53-3,64, $p=0,0001$) et (OR=1,48 ; 95% IC=1,16-1,88, $p=0,002$). Cependant Ghazaouet (OR=0,78 ; 95% CI=0,64-0,67, $p=0,022$) et seb dou (OR=0,7 ; 95% IC=0,52-0,95, $p=0,021$) semblent des régions moins exposées au DT2.

Concernant le sexe, il est apparu que les femmes sont plus susceptibles de développer le DT2 par rapport aux hommes (OR=1,20 ; 95% IC=1,05-1,38, $p=0,009$).

Les sujets qui ont des antécédents familiaux du diabète sont pratiquement huit fois plus exposés au DT2 (OR=7,77 ; 95% IC=6,37-9,48, $p=0,0001$). De même, l'existence des antécédents familiaux des MCV augmente fortement le risque du DT2 (OR=17,19 ; 95% IC=11,78-25,09, $p=0,0001$). Comparativement avec des sujets sans antécédents familiaux.

Pour le niveau d'instruction, le risque du DT2 chez les analphabète est multiplié par vingt fois (OR=20,19 ; 95% IC=14,30-28,52, $p=0,0001$), alors que les sujets de niveau secondaire et universitaire sont moins exposés au DT2 (OR=0,46 ; 95% IC=0,38-0,56, $p=0,0001$), par rapport à ceux qui ont un niveau primaire.

En tenant compte du facteur statut marital, les mariés et les veufs présentent un risque plus élevé de développer le DT2 que les célibataires avec (OR=9,36 ; 95% IC=7,02-12,48, $p=0,0001$) et (OR=22,67 ; 95% IC=11,71-43,90, $p=0,0001$) respectivement.

Pour le type d'habitat, le risque du DT2 chez les sujets résidant dans des maisons individuelles est de l'ordre de quatre fois (OR=3,98 ; 95% IC=3,41-4,65, $p=0,0001$) par rapport à ceux qui occupent des maisons collectives.

Tableau 15: Résultats de l'étude de régression logistique.

Prédicteur	Coefficients	Z (Wald)	p-value	OR	IC à 95%
Constante	-0,0526760	-1,06	0,287		
Gradient géographique					
Ghazaouet/Tlemcen	-0,243850	-2,29	0,022	0,78	0,64-0,97
Maghnia/Tlemcen	1,11028	12,07	0,0001	3,04	2,53-3,64
Sebdou/Tlemcen	-0,352789	-2,31	0,021	0,7	0,52-0,95
Sidi Djilali/Tlemcen	0,389148	3,16	0,002	1,48	1,16-1,88
Sexe					
Femmes/Hommes	0,184026	2,61	0,009	1,20	1,05-1,38
Antécédents familiaux du diabète					
Antécédents familiaux des MCV	2,05044	20,25	0,0001	7,77	6,37-9,48
Niveau d'instruction					
Analphabète/Primaire	3,00543	17,06	0,0001	20,19	14,30-28,52
Secondaire et universitaire/Primaire	-0,778844	-7,71	0,0001	0,46	0,38-0,56
Statut marital					
Mariés/Célibataire	2,23635	15,24	0,0001	9,36	7,02-12,48
Veufs/Célibataire	3,12101	9,26	0,0001	22,67	11,71-43,90
Type d'habitat					
M Individuelle/M Collective	1,38169	17,38	0,0001	3,98	3,41-4,65

4. Discussion

Les résultats de l'étude descriptive de la population fournissent des données non encore enregistrées sur la population diabétique de type 2 de Tlemcen et ces régions. Nous avons étudié également l'association de certains variables explicatives de la démographie, l'anthropométrie, l'histoire familiale des pathologies et le niveau socio culturel.

Trois pathologies ont été retrouvées associées au DT2 dans notre population, les maladies cardiovasculaires occupent la première place avec une fréquence de 19,45%, suivies par l'HTA et les cancers (du sein, d'estomac, de colon et celui de poumon) avec des fréquences de 15,52% et 13,42%, respectivement.

Dans la bibliographie, le DT2 constitue un facteur de risque très connu des MCV et de l'HTA (Largay, 2012; Player et al., 2007). De plus, il est impliqué dans plusieurs formes de cancer notamment le cancer du sein, le cancer de l'estomac et le cancer de colon (Gallagher and LeRoith, 2015).

La disparité géographique montre que la région de Maghnia regroupe le pourcentage le plus élevé des sujets diabétiques de type 2 (39,13%), par contre les patients issus de la région de Sebdou ne représentent que 4,87% de la population étudiée. Pour cela l'étude de la régression logistique indique que la région de Maghnia est la zone la plus exposée au DT2 contrairement aux deux autres régions (Sidi Djilali, Ghazaouet et Sebdou).

Dans une étude réalisée en 2012, Sidi Djilali était la région la plus exposée au DT2 (Dali-Sahi et al., 2012). De plus, la prévalence du diabète dans un milieu urbain de la wilaya de Tlemcen était de 15,3% contre 12,9% en milieu rural (Zaoui et al., 2007).

La moyenne d'âge des patients diabétiques de notre population d'étude est de $59,85 \pm 11,24$ ans avec une prédominance féminine (65,50%), le modèle logistique montre aussi un risque élevé du DT2 chez le sexe féminin.

Au niveau de la région de Tlemcen, Zaoui et ses collaborateurs montrent qu'en milieu urbain la prévalence du DT2 est plus élevée chez les hommes (Zaoui et al., 2007). Cependant, une étude réalisée sur une population tunisienne a montré que le sexe n'a aucun effet sur l'apparition du DT2 (Allani et al., 2012).

L'histoire familiale du diabète et des MCV nous a permis d'expliquer l'implication du facteur hérédité du diabète chez la population étudiée.

La fréquence des antécédents familiaux du diabète dans notre population est de 43,18%, alors que celle des antécédents familiaux des MCV est de 29,95%, les résultats de la régression logistique indiquent également que le risque d'exposition au DT2 est plus élevé chez les sujets qui ont des antécédents familiaux du diabète et des pathologies cardiovasculaires.

Une étude précédente de Dali-Sahi et al a montré que l'hérédité est un facteur de risque majeur du DT2 dans la population de Tlemcen et ces régions (Dali-Sahi et al., 2012).

Dans une étude antérieure, l'histoire familiale du diabète peut être associée au risque du DT2 (Antwi et al., 2020). Une étude a révélé que l'histoire familiale du diabète augmente de façon importante le risque de la survenue du DT2 chez les deux sexes (Petermann et al., 2017).

Chez la population Coréenne féminine, l'histoire familiale des pathologies cardiovasculaires est significativement associée au diabète (Choi et al., 2016). L'histoire familiale de l'HTA peut augmenter l'apparition du DT2 chez la population Japonaise (Yamamoto-Honda et al., 2017).

Notre étude indique que le niveau socioculturel pourrait jouer un rôle dans l'apparition de la maladie.

Pour le niveau d'instruction, les sujets analphabètes représentent plus de la moitié (52,63%) des diabétiques, ces sujets présentent un risque accru de développement du DT2, par contre, ceux qui ont niveau secondaire et plus sont moins exposés au DT2.

Similaire à nos résultats, le faible niveau d'éducation est associé au DT2 chez la population suédoise (Agardh et al., 2007). De plus l'incidence du DT2 est plus élevée chez les sujets à faible niveau d'éducation (Steele et al., 2017).

Concernant le statut marital, la grande majorité de notre population diabétique sont mariés, nos résultats montre que les mariés et les veufs sont plus exposés au DT2.

Cela est en concordance avec l'étude menée précédemment sur la population de Tlemcen (Dali-Sahy et al., 2012). Cependant, l'étude de Antawi et ses collaborateurs montre que la plupart des diabétiques sont des célibataires (Antwi et al., 2020).

Dans notre étude, la moitié des patients occupent des maisons individuelles (50,42%), le risque de la survenue du DT2 chez ces sujets est multiplier par quatre.

Les résultats de l'étude de Antawi et al ont montré que la majorité des diabétiques habitent dans des maisons individuelles (Antwi et al., 2020).

Les autres variables anthropométriques, cliniques et biologiques sont étudiés dans les chapitres suivants.

5. Conclusion

Chez la population de Tlemcen et ces régions, certains facteurs démographiques, anthropométriques, socioculturelles ainsi que l'histoire familiale du diabète et celle des pathologies cardiovasculaires peuvent être impliqués dans l'apparition du DT2. Il est nécessaire de continue l'étude de profil biologique (hématologique, métabolique et génétique) de ces patients.

Chapitre 2

**Hematological profile associated with type 2
diabetes mellitus**

Chapitre 2: Hematological profile associated with type 2 diabetes mellitus

1. Introduction

Les complications hématologiques du DT2 sont responsables de la morbidité et de la mortalité associées à la maladie. Parmi ces complications celles qui affectent les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes et les indices érythrocytaires. Nous avons étudié certains facteurs de risque hématologiques impliqués dans le développement du DT2.

2. Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée dans l'extrême ouest Algérien sur une population composée de 1852 sujets, dont 1059 patients diabétiques de type 2 et 793 témoins. Les paramètres sanguins ont été analysés à l'aide d'un analyseur d'hématologie automatisé (Beckman Coulter 750). Nous avons procédé à une régression logistique binaire et à une courbe ROC afin de déterminer un modèle prédictif du DT2.

3. Résultats

Le modèle logistique a retenu le taux élevé de basophiles avec un risque de deux fois de développer le DT2 (OR=2,18 ; 95% IC=1,35-3,53, $p<0,001$), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), les sujets avec un taux supérieur à 36 g/dL sont six fois et demi plus exposés au DT2 (OR=6,59 ; 95% IC=2,51-17,31, $p=0,0001$). Pour les plaquettes, les sujets qui ont un taux faible de plaquettes sont 5 fois plus exposés au DT2 (OR=5,01 ; 95% IC=1,78-14,13, $p<0,002$), la vitesse de sédimentation augmente aussi le risque du DT2 de l'ordre de neuf (OR=7,83 ; 95% IC=3,39-18,06, $p=0,0001$).

4. Conclusion

Le profil hématologique des sujets à haut risque du DT2 comporte le taux de basophiles, la CCMH, le taux de plaquettes et la vitesse de sédimentation à 1 heure.



Contents lists available at ScienceDirect

Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews

journal homepage: www.elsevier.com/locate/dsx

Original Article

Hematological profile associated with type 2 diabetes mellitus

Youssef Kachekouche^{a,*}, Madjda Dali-Sahi^a, Djamel Benmansour^b,
Nouria Dennouni-Medjati^c

^aDepartement of Biology, Valorisation of Human Actions for the Protection of the Environment and Application in Public Health Laboratory, University of Tlemcen, 13000, Algeria

^bDepartement of Ecology and Environment, Statistics and Random Models Laboratory, University of Tlemcen, 13000, Algeria

^cDepartement of Biology, Analytical Chemistry and Electrochemistry Laboratory, University of Tlemcen, 13000, Algeria



ARTICLE INFO

Keywords:

Hematological profile
Type 2 diabetes mellitus
Western Algeria
Logistic model

ABSTRACT

Background: Hematological changes affecting blood cells and the coagulation factors are shown to be associated with diabetes mellitus. We investigated some of the hematological risk factors implicated in the development of type 2 diabetes mellitus.

Methods: The study conducted in western Algeria on a sample of 1852 subjects, 1059 with type 2 diabetes and 793 witnesses, were evaluated for peripheral blood parameters using hematology analyzer. All the informations related to the disease were collected from the patients and recorded using predesigned questionnaire.

Results: The logistic model retained, the mean corpuscular hemoglobin concentration reveals that subjects with concentration over the normal ratio (>36 g/dl) have an exposure risk six and half times higher than subjects with normal concentration (OR = 6.59; 95% CI = 2.51–17.31, P = 0.000). As regards to the platelets blood ratio, subjects with a ratio lower are five times more exposed to type 2 diabetes compared to subjects with a normal ratio (OR = 5.01; 95% CI = 1.78–14.13, P < 0.002). Our logistic model also retained basophils ratio (OR = 2.18; 95% CI = 1.35–3.53, P < 0.001) and sedimentation rate at one hour (OR = 7.83; 95% CI = 3.39–18.06, P = 0.000).

Conclusions: Hematological profile associated with type 2 diabetes mellitus retained the mean corpuscular hemoglobin concentration over the normal ratio, lower platelets blood ratio, basophils ratio and sedimentation rate at one hour.

© 2017 Diabetes India. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Several hematological changes affecting the red blood cells (RBCs), white blood cells (WBCs), and the coagulation factors are shown to be directly associated with DM [1]. Other hematological abnormalities reported in the DM patients include RBCs, WBCs, and platelet dysfunction [2].

The mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) was higher in diabetics. However, mean corpuscular volume (MCV) of diabetics was lower.

The quantitative and qualitative analysis of red cell parameters as measured by the red blood cell count, Hematocrit, Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) gives the indication of red cell deformability and the hemorheological

state. The red blood cell distribution width (RDW) is a measurement of the size variation among circulating red cells and is calculated as part of the routine complete blood count. The RDW, along with mean cell volume, is useful in the differential diagnosis of the causes of anemia [3].

Hemoglobin concentration is closely associated with diabetic profiles. It is widely accepted that patients with diabetes are more vulnerable to the effects of anemia [4]. Al-Khoury and al. demonstrated that for each chronic kidney disease (CKD) stage, hemoglobin is 1 g/dL lower in patients with diabetes than in the non-diabetic population [5].

Several prospective studies have shown that a high hematocrit (or hemoglobin) predicts type 2 diabetes [6]. However, the reasons for this association have not been fully explored.

Hematocrit has been positively correlated with hyperinsulinemia and conditions associated with insulin resistance such as high blood pressure, elevated serum triglycerides, low HDL cholesterol, and central obesity and could therefore be associated with insulin

* Corresponding author at: City en-nassr Oued Lakhdar, Tlemcen, Algeria. Tel.: +213 799203413.

E-mail address: Youssef.kache13@gmail.com (Y. Kachekouche).

resistance [7]. On the other hand, hematocrit is also a major determinant of blood viscosity [8].

Blood platelets play a pivotal role in the blood clotting process by mediating the primary phase of hemostasis. Their involvement in atherogenesis and thrombotic complications has been previously well documented [9,10]. Platelets taken from diabetic patients, particularly those with vascular instability and angiopathy, have been found to have increased baseline activation levels as well as enhanced stimuli-induced activation and aggregation responses (platelet hyper-reactivity) [11]. Altered platelet morphology and function have been reported in patients with diabetes [12].

Evidence from epidemiological studies suggests an association between total peripheral WBC or leukocyte count, a non-specific marker of inflammation, and diabetes risk [13,14]. Although a number of studies have been published, they have not been systematically reviewed or meta-analysed. Granulocytes themselves are comprised of neutrophils, basophils and eosinophils [13]. Little is known about the association of each of the subfractions with type 2 diabetes mellitus.

Inflammation is hypothesized to play a role in development of type 2 diabetes mellitus; however, clinical data addressing these issues are limited [15].

Some epidemiologic data, mostly from cross-sectional studies, have shown that diabetes and its precursor states are associated with leukocyte count or leukocyte populations and diabetes incidence [13].

2. Methods

Subjects in this study were participants in a case-control study of the pathogenesis of type 2 diabetes that was initiated in April 2015. All participants were recruited from extreme western Algeria. Subjects selected for analysis were ≥ 30 years old. After taking the Institutional Ethics Committee clearance, the study was conducted on patients diagnosed with diabetes mellitus.

Our case-control study included 1059 patients, with confirmed diagnoses of type 2 diabetes. These cases were all diagnosed according to criteria recommended by the World Health Organization (WHO) [16]. Altogether, we included 793 controls who did not have impaired fasting glucose or type 2 diabetes following a glucose tolerance test.

Information concerning age, gender, family history of diabetes, level of education, occupational, marital status, and consanguineous levels was collected by questionnaire. All study subjects were asked to fill out the questionnaire.

The following data was collected from the patients: Fasting Blood Glucose, Red blood cell count, Hemoglobin level, Hematocrit, MCV, MCH, and MCHC. The blood parameters were analyzed using by Automated Hematology Analyzer Beckmon Coulter 750 using impedance method.

2.1. Statistical analysis

Analysis of data was performed using Minitab 16 for Windows. A binary logistic regression study was performed to determine a predictive model of type 2 diabetes using the measured factors (the response variable is here denoted Y, which counts diabetic subjects (D) and the controls (T), (D) being the reference value). And the ROC curve was plotted to estimate the predictive capacity of our logistic model. P-value less than 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

From our results in Table 1, we conclude that Level 0 shows a hypoglycemia (< 0.80 g/l), whereas, Level 1 shows a normal glycemia (0.80 to 1.26 g/l). Indeed, a subject with normal blood glucose has a risk of exposure to type 2 diabetes of eight out of a hundred (OR = 0.08; 95% CI = 0.00–1.27, $P < 0.073$) compared to a subject who has an hypoglycemia. On the other hand, Level 2 shows a hyperglycemia (> 1.26 g/l), the risk of exposure in subjects with hyperglycemia is multiplied by 226.37 compared with normal one (OR = 226.37; 95% CI = 95.26–537.93, $P = 0.000$).

In our model we retained the age group between 50 years and 61 years, in which subjects aged between 50 and 61 years are most exposed to the risk of type 2 diabetes compared to those aged less than 50 years (OR = 2.17; 95% CI = 1.24–3.81, $P < 0.01$). However, the risk of exposure to type 2 diabetes in subjects older than 61 years (OR = 2.04; 95% CI = 1.17–3.55, $P < 0.05$) is two times than subjects with an age between 50 and 61 years.

The logistic model also retained basophils ratio (OR = 2.18; 95% CI = 1.35–3.53, $P < 0.001$), subjects with a basophils ratio higher than $0.1 \times 10^9/l$ are two times more exposed to type 2 diabetes compared to those with normal basophils ratio.

In addition, taking in to account the terms of the MCV, results shows that, subjects with a MCV lower than normal ratio (80fl) present weak probability to have type 2 diabetes than those with normal levels (OR = 0.64; 95% CI = 0.39–1.05, $P < 0.079$). We have retained this factor even if it is not significant in the previsionel

Table 1
Logistic regression results.

predictors	Coefficients	Z (Wald)	P-value	OR	CI Min (95%)	CI Max (95%)
Constant	-1,33743	-0,94	0,345			
Glycemia 1	-2,53302	-1,79	0,073	0,08	0,00	1,27
Glycemia 2	5,42216	12,28	0,000	226,37	95,26	537,93
Age (50–61 years)	0,774525	2,7	0,007	2,17	1,24	3,81
Age (>61 years)	0,713275	2,52	0,012	2,04	1,17	3,55
Basophils ratio ($\times 10^9/l$)	0,78122	3,2	0,001	2,18	1,35	3,53
MCV (fl)	-0,450255	-1,75	0,079	0,64	0,39	1,05
MCHC (g/dl)						
1	0,0629506	0,24	0,813	1,06	0,63	1,79
2	1,88494	3,82	0,000	6,59	2,51	17,31
Platelets ratio ($\times 10^9/l$)						
1	1,61134	3,05	0,002	5,01	1,78	14,13
2	-0,572405	-1,58	0,113	0,56	0,28	1,15
Sedimentation rate (1 h/mm)	2,05765	4,82	0,000	7,83	3,39	18,06

Key: OR: odds ratio, CI: confidence interval, $10^9/l$: Giga per liter, fl: femtolitre, g/dl: Gram per deciliter, 1 h/mm: millimeter at one hour.

model because the adequacy tests are more favorable to its retention than to its withdrawal.

From the MCHC values it turns out, that subjects with MCHC under the normal ratio (<32 g/dl) represented in level 1 have the same level of exposure to diabetes (OR = 1.06; 95% CI = 0.63-1.79, $P < 0.813$) that the normal category. On opposite, subjects with MCHC values over the normal ratio (>36 g/dl) represented in level 2 have an exposure risk sixes and half times higher than subjects with normal ratio (OR = 6.59; 95% CI = 2.51-17.31, $P = 0.000$).

Furthermore, it turn out from the platelets blood ratio, that level 0 shows the normal ratio (140–400 * 10⁹/l) and level 1 and 2 represent the lower and the higher ratio, subjects with a ratio lower than 140*10⁹/l are five times more exposed to type 2 diabetes compared to subjects with a normal ratio (OR = 5.01; 95% CI = 1.78-14.13, $P < 0.01$). In opposition, subjects with platelets blood ratio higher than normal are less exposed to type 2 diabetes than those in the normal class (OR = 0.56; 95% CI = 0.28-1.15, $P < 0.113$).

We note also that, a high sedimentation rate at one hour increases the risk of exposure to type 2 diabetes by practically eight times that of subjects with normal sedimentation ratio (OR = 7.83, 95% CI = 3.39-18.06, $P = 0.000$).

In Table 2 in given an abstract of factors revealed from the logistic model with more than two modalities, the Df indicate here the number of factor modalities minus one, we found that all the nullity tests of the coefficients subjectly associated with each factor are highly significant (Indeed this test is imperative, given the rejection by the model of levels 1 and 2 respectively of the factors MCHC and Platelets ratio).

Finally, all adequacy are favorable namely Pearson method, deviance method, Hosmer-Lemeshow method and methods of Brown (general alternative and symmetrical alternative) leads to an acceptable model with a P-value $\gg 0.05$.

Table 3 shows the predictive capabilities of this model; we found a very strong percentage of concordant pairs (93.7%). The D of Somers, the Gamma of Goodman-Kruskal and the Tau-a of Kendall are the summary of concordant and discordant pairs table. Generally, these measures are between 0 and 1, where the highest values reflex the best prevision capabilities of this model. In this case, the two first measures worth 0.88 and 0.89 implicate a very strong prevision capability, Tau-a Kendall gives relatively a good predictive capability.

3.1. ROC curve

The Receiving Operating Characteristics (ROC) curve (Fig. 1) group the true positive ratio (TPR) and the false positive ratio (FPR) on a graphic, usually, we compare a $p(w)$ at a level $S = 0.5$ to predict $y(w)$, thus we can build the confusion matrix and extract the two predicted indicators. The ROC curve generalizes this idea by varying the entire continuum of all possible values of level 0 and 1. For each configuration we build the confusion matrix and calculate TPT and FPR.

We get: Area under curve (AUC) = 0.93, which indicates exceptional discrimination between TPT and FPR.

Table 2
Tests for terms with several degree of freedom.

Terms	K-squire	Df	P-value
MCHC (g/dl)	14.7123	2	0.001
Platelets ratio ($\times 10^9/l$)	12.7409	2	0.002

Key: Df: degree of freedom.

Table 3
Measure of associations (between response variable and probability previsions).

Pairs	Number	Percentage	Measures recapitulative	
Concordant	195960	93,7	D of Somers	0,88
Discordant	11118	5,3	Gamma of Goodman-Kruskal	0,89
Ex aequo	2122	1,0	Tau-a of Kendall	0,43
Total	209200	100,0		

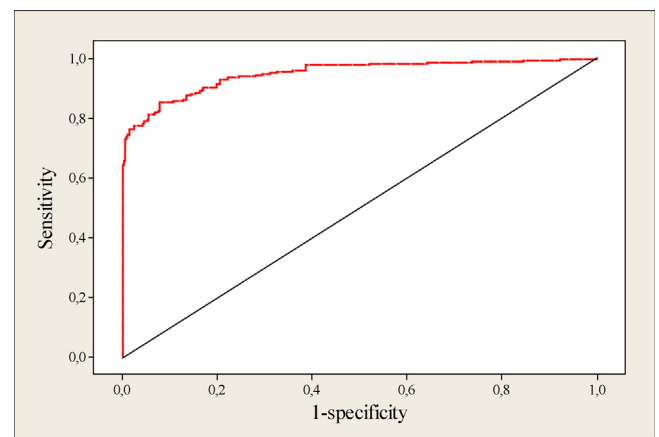


Fig. 1. ROC curve.

4. Discussion

Our study shows a statistically significant association between the risk of type 2 diabetes for both sexes and some hematological factors including: blood glucose, basophils ratio, MCV, MCHC, platelet ratio, and sedimentation ratio.

Our results show that a variation in blood glucose levels greatly increases the risk of exposure to type 2 diabetes, this appears in the case of insulin secretion or insulin resistance, mainly explaining the increase in glucose in the blood [17]. According to WHO the impairment of glucose tolerance and fasting blood glucose are intermediate conditions that make the transition from normality to diabetes [18].

We note, that in our population the risk of exposure to type 2 diabetes increases after the age of 50 years. The results of a descriptive study carried out in the French National Center for Ophthalmology on 137 patients without known diabetes showed that patients with middle age (57.3 ± 6.1) undergoing cataract surgery had a high prevalence of diabetes and a risk of unrecognized diabetes [19]. However, the study carried out in Netherlands on a population with colorectal cancer associated with type 2 diabetes shows a stronger association between type 2 diabetes and colorectal cancer in men less than 55 years of age [20].

In our logistic study we have retained the basophils ratio with an odd ratio equal to 2.18, so the risk of exposure to type 2 diabetes is two and a half times higher than for a subject who has a normal basophils ratio.

Similar to our results, a study of 484 Japanese type 2 diabetics have cardiovascular diseases showed a correlation between basophils ratio and clinical characteristics of type 2 diabetes ($r = 0.102$, $p = 0.027$) [21].

On the other hand, the results of a study carried out in South Korée on a population of 822 type 2 diabetics revealed no correlation between the basophils ratio and the clinical characteristics of type 2 diabetes with $P < 0.334$ [22].

Our logistic model also significantly retained the MCV as a protective factor with an odd ratio equal to 0.64, decrease of MCV reduced by half the risk of exposure to type 2 diabetes.

A descriptive study in Congo of 12 men and 23 women showed that 8.3% of men and 21.7% of women had MCV lower than normal ratio. And 91.7% of men and 78.3% had a standard ratio [23].

Comparable to our study, the results obtained from a study of 323 Chinese patients with type 2 diabetes show no effect of MCV on the onset of type 2 diabetes ($P \gg 0.05$) [24].

Our results show also that the increase in the MCHC is a risk factor for type 2 diabetes, whose elevation of MCHC increases this risk by six and half times compared with normal MCHC.

In addition, the studies carried out by Dang and his collaborators on the Chinese population ($P \gg 0.05$), and by Lippi team on 25 Caucasian patients with type 2 diabetes show that the average MCHC has no effect on the onset of diabetes Type 2 ($P = 0.11$) [24,25].

We also found that a decrease in platelets blood ratio is a risk factor for type 2 diabetes. This decrease increases the risk of exposure to type 2 diabetes by five times compared to a normal platelet blood ratio.

Contrary to our findings, another studies in India on 300 diabetic type 2 and 300 non-diabetic patients showed that platelets blood ratio had no effect on the onset of type 2 diabetes with $P = 0.265$ [26]. A similar study by Zhang and colleagues on a group of Chinese with 320 type 2 diabetics who have nephropathies ($P = 0.677$) also shows that platelets levels are not involved in the development of pathology [27].

We also note that, the sedimentation rate at one hour was retained significantly by our logistic model, whose elevation of this parameter increases the risk of exposure to type 2 diabetes by practically eight times compared to a normal sedimentation ratio.

Our results are in agreement with the results of the studies carried out in China. This study shows that the sedimentation rate is a risk factor for type 2 diabetes with a P-value less than 0.001 [27], another study carried out in Malta on 209 type 2 diabetics showed that the sedimentation rate is implicated in the appearance of type 2 diabetes with a P-value less than 0.001 [28].

5. Conclusions

The profile of subjects at high risk for type 2 diabetes was established, using a logistic model for the detection of unknown cases. The hematological parameters significantly related to type 2 diabetes in both sexes are: basophils ratio, MCV, MCHC, platelets blood ratio and sedimentation rate at one hour. The ROC curve justifies that the logistic model has a very strong forecasting capacity.

Conflict of interest

Have not a direct or indirect interest (financial or nature) with a private, industrial or commercial organization relationship with the subject presented.

Acknowledgements

We wish to thank the staff of the biochemistry laboratory and hemobiology laboratory, university hospital center of Tlemcen in Algeria for their assistance in data collection.

References

- [1] Mbata CA, Adebayo A, Chinyere N, Nyoso WA. Some haematological parameters in diabetic patients in port harcourt Nigeria. *AJMS* 2015;3(2):2348–7186.
- [2] Mirza S, Hossain M, Mathews C, Martinez P, Pino P, Gay JL, et al. Type 2-diabetes is associated with elevated levels of TNF-alpha, IL-6 and adiponectin and low levels of leptin in a population of Mexican American: a cross-sectional study. *Cytokine* 2012;57(1):136–42.
- [3] Evans TC, Jehle D. The red blood cell distribution width. *J Emerg med* 1991;9(1):71–4.
- [4] Thomas MC, MacIsaac RJ, Tsalamandris C, Power D, Jerums G. Unrecognized anemia in patients with diabetes: a cross-sectional survey. *Diabetes Care* 2003;26:1164–9.
- [5] Al-Khoury S, Afzali B, Shah N, Covic A, Thomas S, Goldsmith DJ. Anaemia in diabetic patients with chronic kidney disease: prevalence and predictors. *Diabetologia* 2006;49:1183–9.
- [6] Nakanishi N, Suzuki K, Tataru K. Haematocrit and risk of development of type 2 diabetes mellitus in middle-aged Japanese men. *Diabet Med* 2004;21:476–82.
- [7] Barbieri M, Ragno E, Benvenuti E, Zito GA, Corsi A, Ferrucci L, et al. New aspects of the insulin resistance syndrome: impact on haematological parameters. *Diabetologia* 2001;44:1232–7.
- [8] MacRury SM, Lowe GD. Blood rheology in diabetes mellitus. *Diabet Med* 1990;7:285–91.
- [9] Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007;357(24):2482–94.
- [10] Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, Corti R, Badimon JJ. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(6):937–54.
- [11] Kakouros N, Rade JJ, Kourliouros A, Resar JR. Platelet function in patients with diabetes mellitus: from a theoretical to a practical perspective. *Int J Endocrinol* 2011;2011:719–42.
- [12] Srivastava S, Joshi CS, Sethi PP, Agrawal AK, Srivastava SK, Seth PK. Altered platelet functions in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Thromb Res* 1994;76(5):451–61.
- [13] Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, Lindberg G, Savage PJ, Offenbacher S, et al. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet* 1999;353:1649–52.
- [14] Vozarova B, Weyer C, Lindsay RS, Pratley RE, Bogardus C, Tataranni PA. High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:455–61.
- [15] Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein: interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001;286(3):327–34.
- [16] World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. Geneva: WHO; 1999.
- [17] Guillausseau PJ, Laloi-Michelin M. Physiopathologie du diabète de type 2. *Rev Med Interne* 2003;24:730–7.
- [18] World Health Organization, Diabetes Factsheet 2016; N°312.
- [19] Billard S, Sedira N, Boelle PY, Poisson F, Héron E. High prevalence of undiagnosed diabetes and high risk for diabetes using HbA1c criteria in middle-aged patients undergoing cataract surgery. *Diabetes Metab* 2013;39:271–5.
- [20] de Kort S, Masclee AAM, Sanduleanu S, Weijenberg MP, van Herk-Sukel MPP, Oldenhof NJJ, et al. Higher risk of colorectal cancer in patients with newly diagnosed diabetes mellitus before the age of colorectal cancer screening initiation. *Sci Rep* 2017;7:46527.
- [21] Matsumura T, Taketa K, Motoshima H, Senokuchi T, Ishii N, Kinoshita H, et al. Association between circulating leukocyte subtype counts and carotid intima-media thickness in Japanese subjects with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 2013;12:177.
- [22] Shim WS, Kim HJ, Kang ES, Ahn CW, Lim SK, Lee HC, et al. The association of total and differential white blood cell count with metabolic syndrome in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2006;73:284–91.
- [23] Tshikongo AK, Kyandabike RK, Cansa HM, Bwalya YK, Lukumwena ZK, Longanga AO. Profil De L'hémogramme Chez Les Diabétiques De Type 2 À Lubumbashi En République Démocratique Du Congo. *J Pharm Biol Sci* 2016;11(1):67–76.
- [24] Dang Y, Xia Y, Li Y, Yu DCW. Anemia and type 2 diabetes mellitus associated with peripheral arterial disease progression in Chinese male patients. *Clin Biochem* 2013;46:1673–7.
- [25] Lippi G, Mercadanti M, Aloe R, Targher G. Erythrocyte mechanical fragility is increased in patients with type 2 diabetes. *Eur J Intern Med* 2012;23:150–3.
- [26] Kodiatte TA, Manikyam UK, Rao SB, Jagadish TM, Reddy M, Lingaiah HKM, et al. Mean platelet volume in type 2 diabetes mellitus. *J Lab Phys* 2012;4(1):5–9.
- [27] Zhang M, Zhang Y, Li C, He L. Association between red blood cell distribution and renal function in patients with untreated type 2 diabetes mellitus. *Informa Healthcare* 20151(1) <http://informahealthcare.com/rmf>. (Accessed Mars 2017).
- [28] Magri CJ, Fava S. Red blood cell distribution width and diabetes-associated complication. *Diabetes Metab Syndr* 2014;8:13–7.

Chapitre 3

**Non-HDL cholesterol predictive factor of
type 2 diabetes in the city of Tlemcen**

Chapitre 3: Non-HDL cholesterol predictive factor of type 2 diabetes in the city of Tlemcen

1. Introduction

Plusieurs études ont montré que le DT2 s'accompagne d'anomalies du métabolisme lipidique y a compris la dyslipidémie. Notre objectif de travail est de vérifier la part du non HDL-C dans la survenue du DT2 chez la population de Tlemcen et ces régions.

2. Matériel et méthodes

Cette étude a été menée au niveau de Tlemcen et quatre de ces régions, sur une population de 1852 participants, dont 1059 sujets atteints du DT2 et 793 témoins, leurs paramètres biochimiques ont été évalués par les procédures enzymatiques standards sur l'automate Beckman CX7® (Beckman-Coulter®, NY, États-Unis). Les autres informations relatives au DT2 ont été collectées en utilisant un questionnaire. La régression logistique binaire était le test utilisé pour vérifier la contribution du non HDL-C dans la survenue du DT2.

3. Résultats

Les deux niveaux du non HDL-C: $130 \text{ mg/dL} < \text{non HDL-C} \leq 160 \text{ mg/dL}$ (OR=0,69 ; 95% IC=0,49-0,97, $p=0,033$) et $\text{non HDL-C} > 190 \text{ mg/dL}$ (OR=2,22 ; 95% IC=1,31-3,76, $p=0,003$), la consanguinité (OR=1,71 ; 95% IC=1,44-2,04, $p=0,0001$), ainsi que les deux tranches d'âges: 60 à 70 ans (OR=2,14 ; 95% IC=1,47-3,1, $p < < 0,001$) et 70 ans et plus (OR=2,26 ; 95% IC=1,51-3,38, $p < < 0,001$), sont les variables retenus par le modèle logistique.

4. Conclusion

Dans notre population, le non HDL-C contribue d'une manière significative dans le développement du DT2.



Contents lists available at ScienceDirect

Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews

journal homepage: www.elsevier.com/locate/dsx

Original Article

Non-HDL cholesterol predictive factor of type 2 diabetes in the city of Tlemcen

Majda Dali-Sahi, Youssouf Kachekouche*, Nouria Dennouni-Medjati, Gilbert Nafuye

Department of Biology, Analytical Chemistry and Electrochemistry Laboratory, University of Tlemcen, 13000, Algeria



ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 October 2018

Accepted 2 November 2018

Keywords:

Type 2 diabetes mellitus

Non-HDL-C

Western Algeria

Logistic model

ABSTRACTS

Background: type 2 diabetes mellitus (T2DM) is associated with disorders of lipoprotein metabolism mixed dyslipidemia. The purpose of this study is to verify whether non high density lipoprotein cholesterol (non-HDL-C) can contribute to the development of T2DM in a population in the extreme western Algeria.

Methods: The study was conducted in Tlemcen region on a sample of 1852 subjects, 1059 with T2DM and 793 controls, these were evaluated for biochemical parameters, measured using standard enzyme procedures (SFBC or IFCC recommendations) on the Beckman CX7[®] PLC (Beckman-Coulter[®], NY, USA). All the information related to the disease were collected from the patients and recorded using predesigned questionnaire.

Results: The logistic model retained, the two levels of non-HDL-C: 130 mg/dl < non-HDL-C ≤ 160 mg/dl (OR = 0,69; 95% CI = 0,49–0,97, P = 0,033) and non-HDL-C > 190 mg/dl (OR = 2,22; 95% CI = 1,31–3,76, P = 0,003), inbreeding (OR = 1,71; 95% CI = 1,44–2,04, P = 0,000) and the two age groups 60–70 years (OR = 2,14; 95% CI = 1,47–3,1, P << 0,001) and 70 years and over (OR = 2,26; 95% CI = 1,51–3,38, P << 0,001).

Conclusions: The logistic model shows that non-HDL-C contributes to the development of type 2 diabetes in our population.

© 2018 Diabetes India. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

T2DM is associated with disorders of lipoprotein metabolism, including mixed dyslipidemia combining hyper production of very low density lipoproteins (VLDL), low levels of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and small and dense low density lipoprotein cholesterol (LDL-C).

Many experimental studies have investigated the effects of different classes of lipoproteins on cell function and survival.

Their measurement in clinical practice is not a new concept. The Helsinki Heart Study 3 used non-HDL-C levels for the management of dyslipidemia [1].

On this basis, non-HDL-C was added as a secondary treatment target in patients with high triglyceride levels (>200 mg/dL) [2].

In an analysis of combined data from 68 studies [3], non-HDL-C was the best predictor of all cholesterol measurements, both for coronary heart disease and stroke [4].

Similarly, T2DM is frequently associated with mixed dyslipidemia, as well as lipotoxicity characterized by an increase in triglyceride content at the β -pancreatic cell level.

New data suggests a link between cholesterol metabolism and cell function β , thus the accumulation of cholesterol in the pancreatic islets alters insulin secretion.

Indeed, the increase in plasma lipid concentration, as well as their accumulation in tissues, contributes to the development of hepatic and muscular insulin resistance and to beta cell dysfunctions [5,6], in part via the induction of metabolic stress, involving in particular oxidative stress, endoplasmic reticulum (ER) stress and the disruption of calcium homeostasis [7].

Finally, the different classes of lipoproteins have their own effects on apoptosis and cell proliferation of β -pancreatic cells (protection of HDL-C and deleterious effect of LDL-C).

Knowing that HDL-C also has a protective effect on the beta cells, the purpose of this study is to verify whether non-HDL-C can contribute to the development of T2DM in a population in the extreme western Algeria.

* Corresponding author. Tlemcen, Algeria. Tel.: +213 799203413.

E-mail address: youcef.kache13@gmail.com (Y. Kachekouche).

2. Methods

This was a case-control study that included 1852 subjects, type 2 diabetics (1059), and controls (793).

The participants, both male and female, were admitted to the University Hospital in Tlemcen.

Patients were recruited by health specialists. Only individuals known to have type 2 diabetes were considered.

For each case and control subject, we noted: identification, age, knowledge of diabetes, weight, height, family history of diabetes, and respective levels of blood glucose, total cholesterol, HDL-C, LDL-C, triglycerides, urea and creatinine. Genealogical and cultural data were also collected on the parents of each diabetic and control subject (degree of inbreeding of the parents) as well as the educational level and socio-professional situation of each individual.

The diagnosis was made according to WHO criteria in 1985 [8]: diabetes from 1,26 g/l, moderate fasting hyperglycemia from 1,10 to 1,25 g/L. The body mass index was estimated by weight (kg) divided by the square of height (m). Venous blood is collected after a fast of at least 10 h 5 ml of blood was collected on a heparin tube for the biochemical tests. Blood glucose, total cholesterol, HDL-C, LDL-C and triglycerides were measured using standard enzyme procedures (SFBC or IFCC recommendations) on the Beckman CX7[®] PLC (Beckman-Coulter[®], NY, USA). The non-HDL-C has been calculated by the following formula: non-HDL-C = total cholesterol - HDL-C.

Subjects will only be eligible for the study after obtaining their consent. This study protocol is approved by an Ethics Committee of the National Agency for the Development of Health Research Algeria.

2.1. Statistical analysis

Data processing was performed using Minitab 16 software. A binary logistic regression study [9] was conducted to determine a predictive model of type 2 diabetes using the measured factors (the response variable is noted here as Y, which counts type 2 diabetes patients (D) and controls (T), with (D) being the reference value). The Area under curve (AUC) was calculated and the receiving operating characteristics (ROC) curve was plotted to determine the forecast capacity of our logistics model. The results are considered statistically significant from a P-value of $\leq 0,05$.

3. Results

Non-HDL-C levels were categorised according to the National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel-III (NCEP-ATP-III) [10], the logistic model (Table 1) retained the level 1 of non-HDL-C (130 mg/dl < non-HDL-C \leq 160 mg/dl) with (OR = 0,69; 95% CI = 0,49–0,97, P = 0,033). It can be seen that subjects with a rate of non-HDL-C close to ideal are less exposed to T2DM compared to

subjects with an non-HDL-C level <130 mg/dl.

The risk of exposure to T2DM in subjects with high levels of non-HDL-C between 160 mg/dl and 190 mg/dl) is about half that of subjects with levels close to the ideal of non-HDL-C (OR = 1,53; 95% CI = 0,96–2,46, P = 0,075).

Subjects with very high levels of non-HDL-C (non-HDL-C >190 mg/dl) are twice as exposed to T2DM as in the previous class (OR = 2,22; 95% CI = 1,31–3,76, P = 0,003).

Taking into account the smoking factor in the logistic model, it appears (OR = 1,54; 95% CI = 0,97–2,44, P = 0,069) that the risk of exposure to T2DM in smokers is multiplied by 1,54 compared to non smokers.

With respect to inbreeding (OR = 1,71; 95% CI = 1,44–2,04, P = 0,000), which shows that subjects with related relatives have a 1,71 risk of developing T2DM compared to subjects from non-inbreeding marriages.

For the age factor, the age group [60–70 years] is twice as exposed to T2DM as subjects under 60 years of age (OR = 2,14; 95% CI = 1,47–3,1, P \ll 0,001). While subjects over 70 years of age also have twice the risk of developing T2DM in relation to the age group [60–70 years] (OR = 2,26; 95% CI = 1,51–3,38, P \ll 0,001).

We kept the variables non-HDL-C 2 (160 mg/dl < non-HDL-C \leq 190 mg/dl) and smoking although they are not significant in the forecast model because they favor significance and the adequacy tests are more favorable to their retention than to their withdrawal.

In Table 2, adequacy tests using the Pearson method, the deviance method, the Hosmer-Lemeshow method and the Brown methods (general alternative and symmetrical alternative) accept the model with (P > 0,05).

The predictive capabilities of this model (Table 3) reveal a very high percentage of matching pairs (65%). Somers' D and Goodman-Kruskal's Gamma values of 0,35 and 0,37 imply a good predictive capability, Kendall's Tau-a gives a relatively low predictive capability.

3.1. ROC curve

The ROC curve (Fig. 1) relates the rate of true positive (TPR) to the rate of false positive (FPR) in a graph. Usually, we compare p(w)

Table 2
Adjustment adequacy tests.

Methods	K-squire	DF	P-value
Pearson	66,3701	58	0,211
Sum of the difference squares	73,8582	58	0,078
Hosmer-Lemeshow	12,4744	6	0,052
Brown:			
General alternative	1,7371	2	0,42
Symmetrical alternative	0,0164	1	0,898

Key: **DF:** degree of freedom.

Table 1
Results of the logistic regression model study.

Predictors	Coefficients	Z (Wald)	P-value	OR	CI Min (95%)	CI Max (95%)
Constant	-0,503762	-3,56	0,000			
Non-HDL-C 1	-0,367995	-2,13	0,033	0,69	0,49	0,97
Non-HDL-C 2	0,428116	1,78	0,075	1,53	0,96	2,46
Non-HDL-C 3	0,798425	2,97	0,003	2,22	1,31	3,76
Smoking	0,42968	1,82	0,069	1,54	0,97	2,44
Consanguinity	0,536299	6,01	0,000	1,71	1,44	2,04
Age (60–70 years)	0,759953	4,01	0,000	2,14	1,47	3,1
Age (>70 years)	0,814721	3,97	0,000	2,26	1,51	3,38

Key: Non HDL-C 1: (130mg/dl < nonHDL-C \leq 160 mg/dl), **Non HDL-C 2:** (160 mg/dl < non-HDL-C \leq 190 mg/dl), **Non HDL-C 3:** (non-HDL-C >190 mg/dl), **OR:** odds ratio, **CI:** confidence interval, **mg/dl:** milligram per deciliter.

Table 3
Measure of associations (between response variable and probability previsions).

Pairs	Number	Percentage	Measures récapitulative	
Concordant	136075	65	D of Somers	0,35
Discordant	62905	30,1	Gamma of Goodman-Kruskal	0,37
Ex a equo	10220	4,9	Tau a of Kendall	0,17
Total	209200	100		

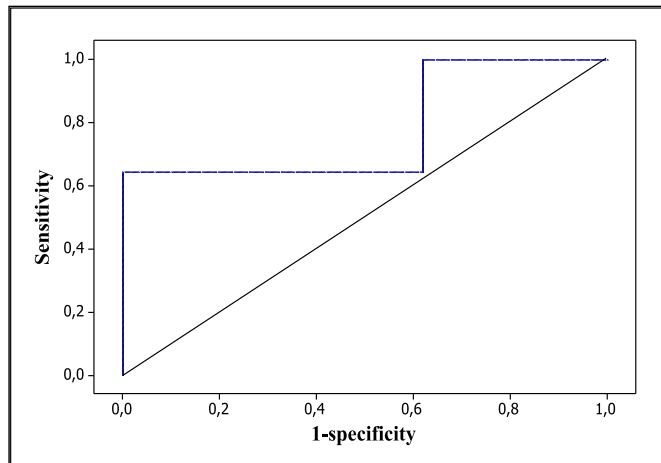


Fig. 1. ROC curve.

to a threshold $S = 0,5$ to make a prediction $y(w)$. We can thus construct the matrix of confusion and extract the two indicators mentioned above. The ROC curve generalizes this idea by varying the entire continuum of possible S threshold values between 0 and 1. For each configuration we construct the confusion matrix and calculate TPR and FPR.

The value of the AUC (Area under curve) equal to 0,77, which shows an acceptable discrimination of the model used in diabetics.

4. Discussion

In diabetics, the logistic model reveals a statistically significant association between the risk of T2DM and non-HDL-C levels (130 mg/dl < non-HDL-C mg/dl ≤ 160 mg/dl and non-HDL-C > 190 mg/dl), inbreeding and the two age groups retained in diabetics with heart disease (60–70 years and over 70 years).

Subjects with a non-HDL-C level between 130 and 160 mg/dl are less exposed to T2DM than those with a non-HDL-C level below 130 mg/dl. Subjects with a non-HDL-C level between 160 and 190 mg/dl have a risk multiplied by 1,53 compared to those in class 130–160 mg/dl. However, subjects with a non HDL-C level above 190 mg/dl are twice as exposed to T2DM as subjects with a non-HDL-C level between 160 and 190 mg/dl.

For T2DM, studies performed for the prediction of T2DM by non-HDL-C are very rare.

Our results are consistent with those found in a descriptive study conducted in Taiwan on 104 type 2 diabetics and 21 controls which showed that the number of subjects with a non-HDL-C level above 130 mg/dl is significantly higher compared to those with a level below 130 mg/dl ($P < 0,001$) and controls ($P = 0,021$) [11].

According to a case control study conducted in Bangladesh on 103 type 2 diabetics and 47 non diabetics, the average non-HDL-C is significantly higher in diabetics ($181 \pm 40,11$) than non diabetics ($142,47 \pm 63,27$) with a p value equal to 0,000 [12].

In another study conducted in Venezuela, the mean non-HDL-C

in diabetics ($180,67 \pm 78,99$) is significantly higher than in controls ($133,60 \pm 18,40$) [13].

From our results, smokers have a risk of exposure to T2DM multiplied by 1,54 compared to non smokers.

These results contradict those found in a study conducted in Sweden on a diabetic population, a small percentage of patients who smoke was observed (17,9%) [14].

Our logistic model shows that subjects from inbred marriages have a risk of exposure to T2DM multiplied by 1,71.

Our results are consistent with a similar study conducted in the same region that shows that inbreeding increases the risk of T2DM three times [15].

In another study in a Saudi Arabian diabetic population, fasting blood glucose levels increase with increasing degrees of inbreeding [16].

Regarding age, the result found in diabetics without heart disease is almost identical to that found in diabetics with heart disease.

This result is similar to that found in the study by Zhen et al., who showed that subjects in group A ($HbA1c < 7\%$) have a significantly higher mean age ($60,17 \pm 9,49$) than those in group B ($HbA1c > 7\%$) with a $P < 0,05$) [17].

On the other hand, the age of exposure to T2DM found in a previous study (50–61 and > 60 years of age is lower than that found in the latter study [18].

In the Zabeen team study, no significant differences were found between the average age of diabetics ($46,53 \pm 5,43$) and non-diabetics ($47,38 \pm 7,61$) [12].

5. Conclusions

The logistic model shows that non-HDL-C contributes to the development of T2DM in our population. Inbreeding and age are also significantly related to T2DM.

Conflicts of interest

Have not a direct or indirect interest (financial or nature) with a private, industrial or commercial organization relationship with the subject presented.

Acknowledgements

We wish to thank the staff of the biochemistry laboratory, university hospital center of Tlemcen in Algeria for their assistance in data collection.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.11.021>.

References

- [1] Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the national cholesterol education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *J Am Med Assoc* 2001;285(19):2486–97.
- [2] Brunzell JD, Davidson M, Furberg CD, Goldberg RB, Howard BV, Stein JH, et al. Lipoprotein management in patients with cardiometabolic risk: consensus conference report from the american diabetes association and the american college of cardiology foundation. *J Am Coll Cardiol* 2008;51(15):1512–24.
- [3] Emerging Risk Factors Collaboration, Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, et al. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *J Am Med Assoc* 2009;302(18):1993–2000.
- [4] Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52

- countries (the INTERHEART study): a case-control study. *Lancet* 2004;364(9438):937–52.
- [5] Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51(10):2944–50.
- [6] Hotamisligil GS. Inflammation and endoplasmic reticulum stress in obesity and diabetes. *Int J Obes* 2008;32(Suppl7):S52–4.
- [7] Back SH, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and type 2 diabetes. *Annu Rev Biochem* 2012;81:767–93.
- [8] World Health Organization. Diabetes mellitus: report of a WHO study group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1985;727:1–113.
- [9] Nakache JP, Josiane C. Statistique explicative appliqué. Éditions Technip; 2003. p. 278.
- [10] National Cholesterol Education Program. Third Report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. NIH publication; 2002. p. 5215.
- [11] Hsu WT, Pien HP, Huang H, Tu YY, Kuo WH, Tsai KY, et al. Investigation of non-HDL cholesterol and C-reactive protein in diabetes patients. *Biomarkers and Genomic Medicine* 2013;5:107–9.
- [12] Zabeen S, Rahman MR, Mustafa TG, Eusufzai NH, Shermin S. Non-HDL cholesterol and type 2 diabetes mellitus. *AKMMC J* 2012;3(2):15–8.
- [13] Contreras F, Lares M, Castro J, Velasco M, Rojas J, Guerra X, et al. Determination of non-HDL cholesterol in diabetic and hypertensive patients. *Am J Therapeut* 2010;17:337–40.
- [14] Eliasson B, Gudbjörnsdóttir S, Zethelius B, Eeg-Olofsson K, Cederholm J, National Diabetes Register (NDR). LDL-cholesterol versus non-HDL-to-HDLcholesterol ratio and risk for coronary heart disease in type 2 diabetes. *Eur J Prev Cardiol* 2014;21(11):1420–8.
- [15] Dali-Sahi M, Benmansour D, Aouar A, Karam N. Étude de l'épidémiologie du diabète de type 2 dans des populations endogames de l'ouest algérien. *Leban Sci J* 2012;13(2).
- [16] Gosadi IM, Goyder EC, Teare MD. Investigating the potential effect of consanguinity on type 2 diabetes susceptibility in a Saudi population. *Hum Hered* 2014;77:197–206.
- [17] Zeng RX, Li XL, Zhang MZ, Guo YL, Zhu CG, Guo LH, et al. Non-HDL cholesterol is a better target for predicting periprocedural myocardial injury following percutaneous coronary intervention in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2014;237:536–43.
- [18] Kachekouche Y, Dali-Sahi M, Benmansour D, Dennouni-Medjati N. Hematological profile associated with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr: Clin Res Rev* 2018 2018;12:309–12.

Chapitre 4

Predictive value of non-HDL cholesterol for cardiovascular disease in a population in far western Algeria with type 2 diabetes

Chapitre 4: Predictive value of non-HDL cholesterol for cardiovascular disease in a population in far western Algeria with type 2 diabetes

1. Introduction

Le non HDL-C représente un facteur de risque majeur des MCV chez les diabétiques de type 2. Le but de cette étude est d'estimer le risque relatif multivarié du non HDL-C, dans la survenue des pathologies cardiovasculaires chez une population atteinte du DT2 de l'extrême ouest Algérien.

2. Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée dans l'ouest Algérien sur une population de 1111 sujets, 371 diabétique de type 2 associant une cardiopathie et 740 témoins. Le bilan biochimique a été établi en utilisant les procédures enzymatiques standards sur l'automate Beckman CX7® (Beckman-Coulter®, NY, États-Unis). Les informations relatives aux pathologies ont été collectées à l'aide d'un questionnaire. La régression logistique binaire a été effectuée pour l'estimation de ce risque.

3. Résultats

Notre modèle logistique a retenu les deux niveaux de non HDL-C: 130 mg/dL < non HDL-C ≤ 160 mg/dL (OR=0,11; 95% IC=0,03-0,47, $p=0,003$) et 160 mg/dL < non HDL-C ≤ 190 mg/dL (OR=5,02; 95% IC=1,1-22,87, $p=0,037$) ainsi que le tabagisme (OR=19,27; 95% IC=3,39-109,63, $p=0,001$), la consanguinité (OR=3,65; 95% CI=1,12-11,85, $p=0,031$) et les deux tranche d'âge de 60 à 70 ans (OR=2,36; 95% IC= 1,32-4,2, $p<<0,01$) et 70 ans et plus (OR=2,26; 95% IC=1,19-4,29, $p<<0,05$).

4. Conclusion

Le non HDL-C est un facteur de risque puissant pour l'apparition des MCV chez le patient diabétique de type 2 de l'extrême ouest Algérien.



Diabetes &

Contents lists available at ScienceDirect

& Reviews

journal homepage: www.elsevier.com/locate/dsx

Original Article

Predictive value of non-HDL cholesterol for cardiovascular disease in a population in far western Algeria with type 2 diabetes



Youssef Kachekouche ^{a,*}, Majda Dali-Sahi ^a, Rachid Bendaoud ^a,
Nouria Dennouni-Medjati ^a, Meziane Abderahim ^b

^a Department of Biology, Analytical Chemistry and Electrochemistry Laboratory, University of Tlemcen, 13000, Algeria

^b Department of Cardiology, University Hospital Center of Tlemcen, 13000, Algeria

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 November 2018

Accepted 7 December 2018

Keywords:

Non-HDL-C

CVD

T2DM

Western Algeria

Logistic model

ABSTRACTS

Background: Non high density lipoprotein cholesterol (non-HDL-C) is a risk factor for cardiovascular disease (CVD) in people with type 2 diabetes. The aim of our study is to estimate the relative multivariate risk of non-HDL-C in the occurrence of CVD in a population in the extreme western Algeria with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

Methods: Our study was carried out in western Algeria on a population of 1111 subjects, 371 cardiopaths with T2DM and 740 controls. The biochemical balance was established using standard enzymatic procedures (SFBC or IFCC recommendations) on the Beckman CX7[®] PLC (Beckman-Coulter[®], NY, USA). Information on the pathologies was collected by means of a questionnaire.

Results: The logistic model retained the two levels of non-HDL-C: 130 mg/dl < non-HDL-C ≤ 160 mg/dl (OR = 0.11; 95% CI = 0.03–0.47, P = 0.003) and 160 mg/dl < non-HDL-C ≤ 190 mg/dl (OR = 5.02; 95% CI = 1.1–22.87, P = 0.037) and smoking (OR = 19.27; 95% CI = 3.39–109.63, P = 0.001), inbreeding (OR = 3.65; 95% CI = 1.12–11.85, P = 0.031) and the two age groups 60–70 years (OR = 2.36; 95% CI = 1.32–4.2, P < 0.01) and 70 years and over (OR = 2.26; 95% CI = 1.19–4.29, P < 0.05).

Conclusions: Non-HDL-C is a powerful risk factor for the occurrence of cardiovascular disease in type 2 diabetics in the extreme western Algeria.

© 2018 Diabetes India. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Cardiovascular complications are the leading cause of death in people with diabetes. Indeed, type 2 diabetics have a two to four times higher risk of cardiovascular events than adults without diabetes [1,2].

Many studies have shown that the value of non-HDL-C can be an indicator of cardiovascular risk in different populations, including Europeans [3].

Non-HDL-C appears to follow the multiple risk factors for CVD among American ethnic minorities disproportionately affected by diabetes [4,5].

In diabetic patients, non-HDL-C may be a more potent predictor of CVD than low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), or triglycerides, because it has a strong correlation with atherogenic lipoproteins [6].

The common lipid abnormality of diabetes is characterized by high triglyceride levels, low HDL cholesterol levels and an increased presence of small dense LDL particles [7]. Changes in the composition of LDL-C that can accompany the disease make LDL-C exceptionally atherogenic [8]. In fact, once the triglyceride level exceeds 100 mg per deciliter (mg/dl), small dense atherogenic LDL-C particles predominate [9].

In this regard, Lu et al. established, in a prospective study, the predictive value of non-HDL-C for clinical parameters in an ethnic diabetic population (Indian communities in the United States) at high cardiovascular risk [10]. Non-HDL-C is therefore a simple, reliable and reproducible index of the overall risk of cardiovascular risk, which may be equivalent to, if not higher than, LDL cholesterol [11].

Most of the available data, which studies the extension of risk factors for CVD in the Maghreb [12], and in particular in Algeria [13], are of a descriptive nature.

It is proposed to estimate the relative multivariate risk of non-HDL-C in the occurrence of cardiovascular pathologies in a

* Corresponding author. Tlemcen, 13000, Algeria. Tel.: +213 799203413.

E-mail address: Youssef.kache13@gmail.com (Y. Kachekouche).

diabetic population in extreme western Algeria.

2. Methods

This was a case-control study that included 1111 subjects, cardiopaths with T2DM (371), and controls (740).

The participants, both male and female, were admitted to the University Hospital in Tlemcen.

Patients are recruited by health specialists. Only individuals known to have diabetic heart disease are considered.

For each case and control subject, it was noted: identification, age, knowledge of cardiovascular disease, diabetes, weight, height, family history of diabetes, and respective levels of blood glucose, total cholesterol, HDL-C, LDL-C, triglycerides, urea and creatinine. Genealogical and cultural data were also collected on the parents of each diabetic and control subject (degree of inbreeding of the parents) as well as the educational level and socio-professional situation of each individual.

The diagnosis was made according to world health organization (WHO) criteria in 1985 [14]: diabetes from 1.26 g/l, moderate fasting hyperglycemia from 1.10 to 1.25 g/l. The body mass index was estimated by weight (kg) divided by the square of height (m). Venous blood is collected after a fast of at least 10 h 5 ml of blood was collected on a heparin tube for the biochemical test. Urea, blood glucose, total cholesterol and triglycerides are measured using standard enzyme procedures (SFBC or IFCC recommendations) on the Beckman CX7[®] PLC (Beckman-Coulter[®], NY, USA). The non-HDL-C has been calculated by the following formula: non-HDL-C = total cholesterol - HDL-C.

Subjects will only be eligible for the study after obtaining their consent, or parental consent if they are under 18 years of age. This study protocol is approved by the ANDRS (Ethics Committee of the National Agency for the Development of Health Research in Algeria).

2.1. Statistical analysis

Data processing was performed using Minitab 16 software. A binary logistic regression study [15] was conducted to determine a predictive model of heart disease associated with type 2 diabetes using the measured factors (the response variable is noted here as Y, which counts diabetic heart disease (C) and controls (T), (C) being the reference value).

The Area under curve (AUC) was calculated and the receiving operating characteristics (ROC) curve was plotted to determine the forecast capacity of our logistics model. The results are considered statistically significant from a P-value ≤ 0.05.

3. Results

Non-HDL-C levels were categorised according to the National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel-III (NCEP-ATP-III) [16]. From our results in Table 1, level 0 indicates a non-HDL-C level <130 mg/dl taking this factor into account in the logistic model, it appears in level 1 (130 mg/dl < non-HDL-C ≤ 160 mg/dl) that the risk of occurrence of CVD and T2DM is reduced once compared to subjects with a non-HDL-C level <130 mg/dl (OR = 0.11; 95% CI = 0.03–0.47, P = 0.003). While subjects with high non-HDL-C levels (160 mg/dl < non-HDL-C ≤ 190 mg/dl) are five times more exposed to CVD and T2DM (OR = 5.02; 95% CI = 1.1–22.87, P = 0.037) than those with a non-HDL-C level 1 (130 mg/dl < non-HDL-C ≤ 160 mg/dl).

Regarding smoking, smokers are 19 times more exposed to CVD and T2DM than non-smokers (OR = 19.27; 95% CI = 3.39–109.63, P = 0.001).

Table 1 Results of the logistic regression model study.

Predictors	Coefficients	Z (Wald)	P-value	OR	CI (95%)
Constant	-1,10269	-2,62	0,009		
Non HDL-C 1	-2,2051	-2,98	0,003	0,11	0,03–0,47
Non HDL-C 2	1,61403	2,09	0,037	5,02	1,1–22,87
Smoking	2,95858	3,34	0,001	19,27	3,39–109,63
Consanguinity	1,2944	2,15	0,031	3,65	1,12–11,85
Age (60–70 years)	0,85684	2,91	0,004	2,36	1,32–4,2
Age (>70 years)	0,814499	2,49	0,013	2,26	1,19–4,29

Key: Non HDL-C 1: (130 mg/dl < non-HDL-C ≤ 160 mg/dl), Non HDL-C 2: (160 mg/dl < non-HDL-C ≤ 190 mg/dl), OR: odds ratio, CI: confidence interval.

Table 2 Adjustment adequacy tests.

Methods	K-squire	DF	P-value
Pearson	8717	17	0,949
Sum of the difference squares	10,6653	17	0,873
Hosmer-Lemeshow	0,4182	5	0,995
Brown:			
General alternative	0,4393	2	0,803
Symmetrical alternative	0,0263	1	0,871

Key: DF: degree of freedom.

For inbreeding, the result is (OR = 3.65; 95% CI = 1.12–11.85, P = 0.031), which shows that the risk of exposure to CVD and T2DM in subjects with related parents is three and a half times higher than in subjects from non-inbreeding marriages.

Our model also used the age group [60–70 years], whose subjects aged 60–70 years are twice as exposed to CVD and T2DM as those under 60 years of age (OR = 2.36; 95% CI = 1.32–4.2, P << 0.01).

However, the risk of exposure to type 2 diabetes in subjects over 70 years of age (OR = 2.26; 95% CI = 1.19–4.29, P << 0.05) is twice as high as in the age group [60–70 years].

In Table 2, adequacy tests using the Pearson method, the deviance method, the Hosmer-Lemeshow method and the Brown methods (general alternative and symmetrical alternative) accept the model with (P >> 0.05).

Table 3 shows the forecasting capabilities of our model. There is a very high percentage of matching pairs (82%). The summaries of the table of matching and discordant pairs are represented by D of Somers, Gamma of Goodman-Kruskal and Tau-a of Kendall, these measurements are generally between 0 and 1, where the highest values show that the model has better predictive capabilities. The first two measurements of 0.71 and 0.77 imply a very high predictive capacity, the Kendall Tau-a gives a relatively good predictive capacity.

3.1. ROC curve

The ROC curve (Fig. 1) relates the rate of true positive (TPR) to the rate of false positive (FPR) in a graph. Usually, we compare p(w) to a threshold S = 0.5 to make a prediction y(w). We can thus construct the matrix of confusion and extract the two indicators

Table 3 Measure of associations (between response variable and probability previsions).

Pairs	Number	Percentage	Measures récapitulative	
Concordant	2097	82	D of Somers	0,71
Discordant	278	10,9	Gamma of Goodman-Kruskal	0,77
Ex aequo	181	7,1	Tau-a of Kendall	0,32
Total	2556	100		

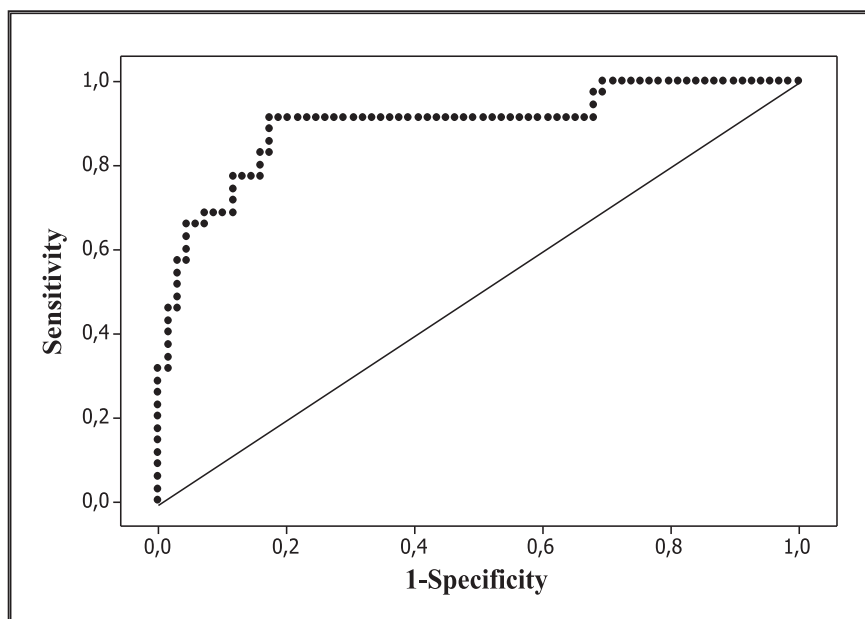


Fig. 1. ROC curve of the decision threshold, for modelling predictive values of non HDL cholesterol in the occurrence of CVD in T2DM.

mentioned above. The ROC curve generalizes this idea by varying the entire continuum of possible S threshold values between 0 and 1. For each configuration we construct the confusion matrix and calculate TPR and FPR.

The value of the AUC equal to 0.89, therefore the model used in patients with CVD and T2DM, has excellent discrimination.

4. Discussion

In diabetics with CVD, our results show that the risk of association between T2DM and CVD in both sexes is related to both levels of non-HDL-C (130 mg/dl < non-HDL-C ≤ 160 mg/dl and 160 mg/dl < non-HDL-C ≤ 190 mg/dl), smoking, inbreeding and the two age groups 60–70 years and over.

In our study, subjects with a non-HDL-C level between 130 mg/dl and 160 mg/dl are less exposed to the association between T2DM and CVD than those with a non-HDL-C level below 130 mg/dl. While subjects with a non-HDL-C level between 160 and 190 mg/dl are five times more exposed to this combination than subjects with a non-HDL-C level of 130 mg/dl and 160 mg/dl.

Most studies show that non-HDL-C is a factor of exposure to CVD in diabetics as well as in non diabetics.

First, Zeng and collaborators also report that patients with diabetes who are poorly balanced with a non-HDL-C >130 level have a higher risk of preprocess myocardial injury; than those with a level <100 mg/dl [17].

It has been shown that diabetics subjects with a non-HDL-C level between 111.97 and 134.75 mg/dl are more exposed to coronary heart disease with HR = 1.23; CI = 1.09–1.39 compared to those with a non-HDL-C level below 111.97 mg/dl [18].

A cohort study conducted in China on 27020 subjects showed that the risk of exposure to CVD in subjects with a non-HDL-C >190 mg/dl level is higher with (HR = 1.93; CI = 1.50–2.47) compared to those with non-HDL-C levels below 130 mg/dl with a relatively higher risk of exposure to CVD in diabetics (HR = 1.22; CI = 1.05–1.42) than in non diabetics (HR = 1.11; CI = 1.04–1.19) [19].

About 2066 subjects among 25639 develop a cardiovascular pathology, the risk of occurrence of CVD increases with non-HDL-C,

it appears in the three high levels of non-HDL-C: (HR = 1.26; CI = 1.08–1.47), (HR = 1.51; CI = 1.31–1.74) and (HR = 1.87; CI = 1.62–2.15) respectively compared to those who have a normal level of non-HDL-C [20].

Similarly, subjects with a non-HDL-C level above 180 mg/dl are 3 times more exposed to CVD (HR = 3.13; CI = 1.58–6.21) than those with a non-HDL-C level below 100 mg/dl [21].

In a similar study, patients with a non-HDL-C >130 mg/dl level have a high incidence of major cardiovascular events (HR = 3.15; P = 0.003). Compared to patients with a non-HDL-C level less than 100 mg/dl [22].

As for the study on smoking, it appears in our logistic model that smokers are 19 times more exposed to the risk of association between T2DM and CVD, and our results corroborate those of Kitamura [21].

On the other hand, the study by Gu and collaborators showed that smoking is not associated with the different levels of non-HDL-C, the percentages of smokers according to the levels of non-HDL-C are between 36% and 38% with a P value equal to 0.84 [19].

Inbreeding has not been carefully researched in all studies concerning the predictive risk value of non-HDL-C in the occurrence of cardiovascular events in T2DM. We used this factor to see its involvement. The model shows that inbreeding increases the risk of association of the two diseases by about three and a half times.

This is consistent with a significant association found between inbreeding and the cardiovascular profile of 587 patients [23].

There is an undeniable age factor in this model. Our results show that subjects aged between 60 and 70 have a twice as high risk of developing both diseases compared to those aged under 60. Subjects over 70 years of age are also twice as exposed to both diseases.

The average age found in a study conducted in China on a population of 351 patients with coronary heart disease (58.6 ± 10 years) [24]. Approaching the age of exposure to CVD and T2DM found in our study population.

The age averages of two other Chinese populations were found to be significantly elevated compared to the different classes of non-HDL-C [19,21].

5. Conclusions

The results of the modelling showed that non-HDL-C is a powerful risk factor for the occurrence of CVD in type 2 diabetics in extreme western Algeria. The other factors studied, significantly related, are: smoking, inbreeding and age.

The model is very significant, there is a relationship between the explanatory values and the explained variables with good predictions.

Conflicts of interest

Have not a direct or indirect interest (financial or nature) with a private, industrial or commercial organization relationship with the subject presented.

Acknowledgements

Tribute to our great master professor Benmansour Djamel. There will remain of you what you have given. May Pr Benmansour rest in peace and may God welcome him to his vast paradise.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.12.002>.

References

- [1] Fox CS, Coady S, Sorlie PD, Levy D, Meigs JB, D'Agostino Sr RB, et al. Trends in cardiovascular complications of diabetes. *J Am Med Assoc* 2004;292:2495–9.
- [2] Laakso M. Cardiovascular disease in type 2 diabetes: challenge for treatment and prevention. *J Intern Med* 2001;249:225–35.
- [3] Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). *Eur Heart J* 2012;33:1635–701.
- [4] Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR. ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias. *Eur Heart J* 2011;32:1769–818.
- [5] Gardner CD, Winkleby MA, Fortmann SP. Population frequency distribution of non-high-density lipoprotein cholesterol (third national health and nutrition examination survey [NHANES III], 1988–1994). *Am J Cardiol* 2000;86:299–304.
- [6] Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer Jr HB, Clark LT, Hunninghake DB, et al. Implications of recent clinical trials for the national cholesterol education program adult treatment panel III guidelines. *Circulation* 2004;110:227–39.
- [7] Catapano AL, Graham I, de Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: the task force for the management of dys-lipidaemias of the european society of cardiology (ESC) and european atherosclerosis society (EAS). *Eur Heart J* 2016;37:2999–3058.
- [8] National Cholesterol Education Program. Expert panel on detection, E and treatment of high blood cholesterol in adults. Third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143–421.
- [9] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2014. *Diabetes Care* 2014;37:S14–80.
- [10] Lu W, Resnick HE, Jablonski KA, Jones KL, Jain AK, Howard WJ, et al. Non-HDL cholesterol as a predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetes: the Strong Heart Study. *Diabetes Care* 2003;26:16–23.
- [11] Li XL, Li JJ, Guo YL, Zhu CG, Xu RX, Li S, et al. Association of preprocedural low-density lipoprotein cholesterol levels with myocardial injury after elective percutaneous coronary intervention. *J Clin Lipidol* 2014;8:423–32.
- [12] Ben Alaya N, Ben Romdhane H, Delpeuch F. Modèle causal des cardiopathies ischémiques en Tunisie. *Options Méditerranéennes* 2002;41:95–118.
- [13] Bonita R, de Courten M, Dwyer T, Jamrozik K, Winkelmann R. Surveillance of risk factors for non communicable diseases: the WHO STEPwise approach. Summary Geneva World Health Organization; 2001.
- [14] World Health Organization. Diabetes mellitus: report of a WHO study group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1985;727:1–113.
- [15] Nakache JP, Josiane C. Statistique explicative appliqué. Paris: Éditions Technip.; 2003.
- [16] National Cholesterol Education Program. Third Report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. NIH publication 2002;2:5215.
- [17] Zeng RX, Li XL, Zhang MZ, Guo YL, Zhu CG, Guo LH, et al. Non-HDL cholesterol is a better target for predicting periprocedural myocardial injury following percutaneous coronary intervention in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2014;237:536–43.
- [18] Eliasson B, Gudbjörnsdottir S, Zethelius B, Eeg-Olofsson K, Cederholm J. National Diabetes Register (NDR). LDL-cholesterol versus non-HDL to HDL cholesterol ratio and risk for coronary heart disease in type 2 diabetes. *Eur J Prev Cardiol* 2014;21:1420–8.
- [19] Gu X, Yang X, Li Y, Cao J, Li J, Liu X, et al. Usefulness of low-density lipoprotein cholesterol and none high-density lipoprotein cholesterol as predictors of cardiovascular disease in Chinese. *Am J Cardiol* 2015;116:1063–70.
- [20] Sondermeijer BM, Rana JS, Arsenault BJ, Shah PK, Kastelein JJ, Wareham NJ, et al. Non-HDL cholesterol vs. apo B for risk of coronary heart disease in healthy individuals: the EPIC-Norfolk prospective population study. *Eur J Clin Invest* 2013;43:1009–15.
- [21] Kitamura A, Noda H, Nakamura M, Kiyama M, Okada T, Imano H, et al. Association between non-high-density lipoprotein cholesterol levels and the incidence of coronary heart disease among Japanese: the Circulatory Risk in Communities Study (CIRCS). *J atheroscler thromb* 2011;18:454–63.
- [22] Wongcharoen W, Sutthiwutthichai S, Gunaparn S, Phrommintikul A. Is non-HDL cholesterol a better predictor of long-term outcome in patients after acute myocardial infarction compared to LDLcholesterol? : a retrospective study. *BMC Cardiovasc Disord* 2017;17:10.
- [23] Fareed M, Afzal M. Increased cardiovascular risks associated with familial inbreeding: a population-based study of adolescent cohort. *Ann Epidemiol* 2016;26:283–92.
- [24] Zhu CG, Zhang Y, Xu RX, Li S, Wu NQ, Guo YL, et al. Circulating non-HDL-C levels were more relevant to atherogenic lipoprotein subfractions compared with LDL-C in patients with stable coronary artery disease. *J Clin Lipidol* 2015;9:794–800.

Chapitre 5

Association of insulin secretion level on lipid fractions and risk of arterial Hypertension

Chapite 5: Association of insulin secretion level on lipid fractions and risk of arterial hypertension

1. Introduction

La littérature existante rapporte, des résultats quant à l'association des paramètres lipidiques avec les niveaux de sécrétion de l'insuline et le risque d'HTA. Dans ce contexte nous nous proposons d'évaluer le rôle du dosage de l'insuline et des fractions lipidiques dans le risque d'HTA chez les patients diabétiques de type 2 de l'ouest Algérien.

2. Matériel et méthodes

Il s'agissait d'une étude observationnelle transversale réalisée entre Janvier et Septembre 2018 auprès de 101 sujets diabétiques de type 2. Les données collectées concernaient le profil biodémographique des participants. Nous avons effectué des régressions multiples afin de tester la liaison des variables mesurées avec les niveaux de sécrétion de l'insuline.

3. Résultats

La régression multiple effectuée sur l'ensemble de la population indique une association significative ($p < 0,05$) linéaire et positive entre la sécrétion de l'insuline d'une part et l'HOMA-IR, l'IMC et le tour de taille d'autre part.

L'étude analytique par groupes (sélectionnés en fonction des niveaux de sécrétion de l'insuline) montre que le non HDL-C, le LDL-C et la CRP sont des prédicteurs pour la variable réponse insulino-pénie ($p < 0,05$). On remarque que dans l'insulinorésistance, la sécrétion d'insuline est positivement et significativement ($p < 0,05$) liée à la PAD, à la PAS et au HOMA-IR. Tandis que chez les sujets qui présentent une hyperinsulinisme, l'âge, le non HDL-C, le LDL-C et l'HOMA-IR sont significativement ($p < 0,05$) et positivement liée à la sécrétion de l'insuline.

4. Conclusion

Nos résultats suggèrent une relation directe possible entre la diminution de la sécrétion de l'insuline et la survenue de l'HTA chez le patient diabétique de type 2 de l'ouest Algérien.



The Open Hypertension Journal

Content list available at: <https://openhypertensionjournal.com>



RESEARCH ARTICLE

Association of Insulin Secretion Level on Lipid Fractions and Risk of Arterial Hypertension

Majda Dali-Sahi¹, Nouria Dennouni-Medjati¹, Youssouf Kachekouche^{1,*}, Hamza N.M. Boudia¹ and Houssam Boulenouar²

¹Departement of Biology, Analytical Chemistry and Electrochemistry Laboratory, University of Tlemcen, Tlemcen, 13000, Algeria

²Cancer Laboratory, University of Tlemcen, Tlemcen, 13000, Algeria

Abstract:

Background:

The existing literature reports results on the association of lipid parameters with the level of insulin secretion and the risk of arterial hypertension.

Objective:

This study evaluated the role of the insulin dosage and lipid fractions in the risk of arterial hypertension in type 2 diabetic patients in Western Algeria.

Methods:

This was a cross-sectional observational study involving 101 subjects with type 2 diabetes mellitus. The data collected was about the biodemographic profile of the participants. We performed multiple regressions to test the effect of insulin concentration on the parameters studied.

Results:

The multiple regression analytical study showed that HOMA-IR, BMI and waist circumference were predictors for the insulinemia response variable ($P < 0.05$). It should be noted that in insulinopenia, insulin secretion is positively and significantly correlated with non-HDL-C ($P = 0.037$), and it is also significantly and positively correlated with LDL-C ($P = 0.042$). Multiple regression also shows that SBP and DBP are significantly and positively related to insulin resistance. Our data suggest a possible direct relationship between fasting insulin and blood pressure.

Conclusion:

Monitoring of circulating insulin concentrations is critically important in a population of type 2 diabetics.

Keywords: High blood pressure, Non-HDL-C, Type 2 diabetes mellitus, CARDIA, Algeria, Insulin.

Article History

Received: March 03, 2018

Revised: August 6, 2019

Accepted: August 29, 2019

1. INTRODUCTION

The question is whether the association of lipid fractions with the level of insulin secretion and the risk of arterial hypertension, reported in the literature, prevails in our study population.

With regard to the association of lipid parameters with insulin secretion level and risk of arterial hypertension, the existing literature reports controversial results, particularly in a specific sex or ethnic subgroup [1].

Some epidemiological studies, including cross-sectional and longitudinal studies have indicated that insulin levels thus secreted are associated with Blood Pressure (BP) as well as the incidence of arterial hypertension [2].

It has been well established that high blood pressure (arterial hypertension) tends to coexist with diabetes [3]. In addition, risk factors for arterial hypertension and diabetes mellitus are likely to coincide and it has been hypothesized that insulin resistance may be the underlying pathophysiological mechanism [4, 2].

In addition, among the limited prospective studies on the association of insulin levels with the incidence of arterial

* Address correspondence to this author at Departement of Biology, Analytical Chemistry and Electrochemistry Laboratory, University of Tlemcen, 13000, Algeria; Tel: (+213) 799203413; E-mail: Youcef.kache13@gmail.com

hypertension, most of them have been conducted in a single sex or ethnic group [5, 6].

However, the CARDIA study prospectively examined fasting insulin levels in relation to the incidence of arterial hypertension in a large cohort [7].

The aim of this study was to evaluate the role of the insulin dosage and lipid fractions in the risk of occurrence of arterial hypertension in type 2 diabetic patients in western Algeria.

2. MATERIALS AND METHODS

This is a cross-sectional observational study of 101 subjects with type 2 diabetes in Western Algeria. Participants, both male and female, were admitted to the University Hospital Centre in Tlemcen. Participants were recruited by general practitioners, and hospitalized for one day at the hospital unit for hormone testing and only those who were diagnosed with diabetes mellitus and were on oral hypoglycemic agents or insulin stayed at the hospital. This study took place from January to September 2018.

All the patients with arterial hypertension and diabetes mellitus were included in our study. Diabetic patients were considered to have fasting blood glucose levels greater than or equal to 1.26 g/l and hypertensive patients were considered with permanently elevated blood pressure levels of 160 mm Hg for systolic numbers and/or 95 mm Hg for diastolic numbers. However, it is currently accepted that a diabetic patient is hypertensive even at blood pressure values of 140/80 mm Hg. The criteria for exclusion of patients with secondary arterial hypertension, associated with diabetes mellitus have not been defined.

The data was collected regarding the biodemographic profile of the participants (age, sex, BMI, heredity, degrees of inbreeding), carbohydrate balance based on fasting blood glucose alone (≥ 1.26 g/l) and finally blood samples with determination of insulin secretion markers, insulin, and C-peptide, used as markers of variable insulin secretion deficits.

Venous blood was collected after fasting of at least 8 hours. We collected 5 ml of blood in a heparin tube for the biochemical test. Blood glucose, total cholesterol, HDL-C, LDL-C and triglycerides were measured using standard enzyme procedures (SFBC or IFCC recommendations) on the Beckman CX7[®] PLC (Beckman-Coulter[®], NY USA).

The sample for the determination of insulin and C-peptide was taken in a dry tube. The assay was conducted by using ECLIA Roche electrochemiluminescence on Modular E170.

The degree of Insulin Resistance (IR) is estimated by measuring glucose and insulin and/or C-peptide concentrations in a blood sample collected from a fasting patient on an Ethylene-Diamine-Tetra-Acetic acid Medical (EDTA) tube. Calculations are then made using the data to obtain a reasonable estimate of the degree of IR. This is an assessment called homeostatic assessment model-insulin resistance (HOMA-IR). HOMA is a structural computer model, available on the Internet (www.dtu.ox.ac.uk). The calculation is based on the glucose/insulin regulation loop. In general, HOMA scores are interpreted as follows:

The higher the number >1 , the higher the degree of IR [8]. Patients were only considered eligible for the study after obtaining their consent. This study protocol was approved by an ethics committee.

2.1. Statistical Analysis

The results are expressed in mean \pm standard deviation and in percentages (%). We used Tukey's test and the Dunn's test for comparisons between averages. The chi-square test was used to compare the percentages.

We performed multiple regressions to test the binding between insulin and other parameters studied. The significance threshold was set at $P < 0.05$.

Data processing was performed using Minitab 16 software.

3. RESULTS

The study population consisted of 73 women (72%) and 28 men (28%). The average age was 58.23 ± 10.16 years. This was an inbreeding population with an inbreeding rate of 53%. More than 55% of individuals had one or both parents with diabetes. The average body mass index (BMI) was 30.16 ± 5.82 Kg/m². of all the people surveyed, 30% were known to be hypertensive and undergoing hypotensive therapy.

The type 2 diabetic population had a fairly variable insulin secretion. Considering that the normal values are between 10 and 20 μ U/l, we obtained a percentage of type 2 diabetics with insulin secretion deficiency of 53%. While 30% were insulin-resistant, 17% of them produced an excess of insulin >20 μ U/l.

In Table 1, these three groups does not differ significantly in characteristics related to age, BMI, waist circumference, inbreeding, smoking, SBP or DBP values, lipid status, or C-Reactive Protein (CRP), although the latter is higher in the insulin-resistant class ($P > 0.05$). On the other hand, the insulin/glycemia ratio, C-peptide, HOMA-IR, $\% \beta$ and $\% S$ are significantly different in the three groups ($P < 0.05$).

Table 1. Anthropometric and metabolic characteristics associated with insulin secretion levels.

Level of Fasting Insulin Secretion	Insulinopenia 0 à 10 μ U/ml N=53 (53%)	Insulin resistance 10 à 20 μ U/ml N= 30 (30%)	Hyperinsulinisme >20 μ U/ml N= 17(17%)	P-value
Associated characteristics				
Sex	H 18 (33%) F 36 (67%)	H 6 (20%) F 24 (80%)	H 4 (24%) F 13 (76%)	0.389
Age (years)	59.87 \pm 9.92	61.40 \pm 9.58	55.00 \pm 8.02	0.084
Glycemia (g/l)	1.976 \pm 0.940	1.788 \pm 0.801	2.100 \pm 0.973	0.483

(Table 1) contd....

Level of Fasting Insulin Secretion	Insulinopenia 0 à 10µU/ml N=53 (53%)	Insulin resistance 10 à 20µU/ml N= 30 (30%)	Hyperinsulinisme >20µU/ml N= 17(17%)	P-value
Insulin/glycemia	10.79±7.54	24.06±14.86	62.2±42.3	0.000
Peptide C	0.1873±0.1754	1.1937±0.2571	3.405±1.744	0.000
Glycated hemoglobin (%)	7.593±1.152	7.699±1.033	7.677±1.200	0.908
HOMA-IR	1.458±1.607	2.357±1.577	5.247±3.759	0.000
B%	44.42±49.23	64.86±53.16	104.3±101.1	0.007
S%	95.75±41.48	48.95±12.65	23.83±8.49	0.000
BMI	29.873±4.949	31.04±6.70	29.53±7.01	0.609
Waist circumference (cm)	104.11±13.86	106.67±13.02	102.71±19.59	0.628
Consanguinity	Yes 25 (46%) No 29 (54%)	Yes 17 (57%) 13 (43%)	Yes 8 (47%) 9 (53%)	0.644
Heredity in diabetes	Yes 29 (54%) No 25 (46%)	Yes 18 (60%) No 12 (40%)	Yes 8 (47%) No 9 (53%)	0.684
Smoking	Yes 10 (19%) No 44 (81%)	Yes 5 (17%) No 25 (83%)	Yes 4 (24%) No 13 (76%)	0.843
Triglycerides (mg/dl)	2.176±1.525	2.165±1.608	3.012±2.307	0.183
Total Cholesterol (mg/dl)	1.8517±0.4724	1.6800±0.3814	1.9065±0.4085	0.142
HDL-Cholesterol (mg/dl)	0.4496±0.1518	0.4113±0.1213	0.3965±0.1069	0.265
LDL-Cholesterol (mg/dl)	1.0624±0.3732	0.9277±0.3212	0.9806±0.2580	0.213
Non HDL-Cholesterol (mg/dl)	1.4020±0.4771	1.2687±0.3879	1.510±0.438	0.183
Triglyceride /HDL (mg/dl)	5.530±4.807	5.544±4.265	8.45±7.71	0.119
CRP	5.481±3.226	10.87±34.23	4.471±1.231	0.384
Arterial hypertension	Yes (22%) No (78%)	Yes (20%) No (80%)	Yes (12) No (88%)	0.640
DBP (mmHg)	6.852±0.998	6.667±1.184	7.118±1.166	0.392
SBP (mmHg)	12.926±1.747	13.067±1.741	12.000±1.768	0.109

In multiple regressions, we included all data, and only significant or significant parameters were kept in the models.

Multiple regression showed that HOMA-IR, BMI and waist circumference were predictors for the insulin response variable ($P < 0.05$). However, if multiple regression is studied in the three groups separately, it would be noted that in insulinopenia, insulin secretion is significantly and positively correlated with non-HDL-C ($P = 0.037$), it is significantly and positively correlated with LDL-C ($P = 0.042$), but this binding is not linear. In the case of insulin resistance, the parameters significantly and positively related to insulinemia are SBP ($P = 0.012$), DBP ($P = 0.034$) and HOMA-IR ($P = 0.040$). Age ($p = 0.002$), non-HDL-C ($P = 0.007$) and LDL-C ($P = 0.002$) are significantly and positively correlated with hyperinsulinism.

We kept the HOMA-IR variable, although it is not significant in some models because its retention gives more information.

Table 2. Results of multiple regression of the study population.

Predictors	Coefficients	Erreur Type	T	P-value
Constant	7.431	2.458	3.02	0.003
HOMA-IR	1.7827	0.1970	9.05	0.000
BMI	-0.22971	0.08121	-2.83	0.006
Waist circumference	8.4134	0.8646	9.73	0.000

S = 4.29946 R carré = 78.0% R carré (ajusté) = 77.2%.

The regression equation: insulin = 7.43 + 1.78 HOMA-IR - 0.230 BMI + 8.41 Waist circumference.

In the study population, a strong positive linear relationship was observed between insulin and HOMA-IR, BMI, and waist circumference ($P < 0.05$) (Table 2).

Table 3. Multiple regression results in patients with insulinopenia.

Predictors	Coefficients	Error Type	T	P-value
Constant	4.386	1.220	3.60	0.001
Non HDL-C	-2.729	1.272	-2.15	0.037
LDL-C	3.436	1.642	2.09	0.042
CRP	0.2224	0.1116	1.99	0.052
HOMA-IR	0.1248	0.2680	0.47	0.644

S = 2.49425 R carré = 17.7% R carré (ajusté) = 11.0%.

In patients with insulinopenia (Table 3), insulin is positively correlated to non-HDL-C, LDL-C ($P < 0.05$), CRP. But this binding is not linear.

Table 4. Results of multiple regression in insulinresistant patients.

Predictors	Coefficients	Erreur Type	T	P-value
Constant	17.119	5.251	3.26	0.003
DBP	0.07523	0.03347	2.25	0.034
SBP	-0.13990	0.05144	-2.72	0.012
HOMA-IR	0.7297	0.3363	2.17	0.040

S = .30902 R carré = 51.3% R carré (ajusté) = 41.1%.

The regression equation: insulin = 17.1 - 0.140 DBP + 0.0752 SBP + 0.730 HOMA-IR.

While insulin-resistance is positively related to SBP, DBP and HOMA-IR ($P < 0.05$) (Table 4).

Table 5. Results of multiple regression in patients with hyperinsulinism.

Predictors	Coefficients	Erreur Type	T	P-value
Constant	63.79	11.96	5.33	0.000
Age	-0.7200	0.1839	-3.91	0.002
Non HDL-C	-11.106	3.393	-3.27	0.007
LDL-C	22.973	5.737	4.00	0.002
HOMA-IR	-0.2838	0.3523	-0.81	0.436

S = 5.22344 R carré = 66.8% R carré (ajusté) = 55.8%.

The regression equation: $\text{insulin} = 63.8 - 0.720 \text{ age} - 11.1 \text{ non HDL-C} + 23.0 \text{ LDL-C} - 0.284 \text{ HOMA-IR}$.

However, in Table 5, a strong positive linear binding can be observed between insulin and age, non-HDL-C and LDL-C ($P < 0.05$) in patients with hyperinsulinism.

4. DISCUSSION

In the study population, the insufficiency of pancreatic secretion resulting from a secretory failure appears to be 54%. While 46% were insulin-resistant, 17% of them had an excess of insulin $>20 \mu\text{U/l}$. These comparisons seem to have revealed a lack of insulin production in type 2 diabetic patients in our cohort. It should be added that the decrease in insulin production is not due to apoptosis of beta cells in all cases, but due to the inability to secrete insulin. Beta cells have, therefore, lost the ability to respond to glucose, which is the stimulus [9].

It should be noted that 30% patients reported hyperglycemia with normal insulin levels. This indicated that there was a component of insulin resistance that was already acquired by these individuals. On the other hand, the rest of the subjects produced an excess of insulin. Insulin resistance in type 2 diabetes affects the liver and insulin-dependent peripheral tissues (skeletal muscle and adipose tissue) [10].

A combined deficit was observed in 22% of the patients in both the components, namely insulin sensitivity and secretory function β .

The most significant effect of inbreeding, which can be revealed in adults, is a higher prevalence of arterial hypertension and hypercholesterolemia. This result is to be linked with a lower homeostatic power of inbred individuals [11, 12]. However, inbreeding is not relevant to our study, even though it is an inbreeding population. However, in a similar study in the same study area, including non arterial hypertensive type 2 diabetics, inbreeding may be a risk factor for diabetes mellitus [13].

However, the multiple regression analytical study showed that HOMA-IR, BMI, waist circumference, triglycerides and SBP were predictors for the insulinemia response variable ($p < 0.05$).

It was found that that all the parameters studied except for HOMA-IR, β -cell mass and insulin sensitivity were significantly different.

The HOMA method remains the most widely used and

best-validated approach to study insulin sensitivity [14].

The HOMA-IR study revealed that the presence of insulin resistance is correlated to the level of insulin secretion, unlike a similar study conducted by a Tunisian team [15].

Insulin resistance and advanced age are well known [16].

There is an association between age and insulin resistance in this study.

In a similar study, we find that abdominal obesity is associated with an increased risk of insulin resistance, which may contribute to dyslipidemia [17]. Similarly, overweight and obesity are directly related to insulin resistance, making the pancreas to permanently over-secrete insulin [18].

Fat measurements are generally strongly related to insulin concentrations [19].

It is also widely recognized that high triglyceride levels are associated with insulin resistance components. Moreover, cardiovascular disorders such as arterial hypertension,

are closely related to insulin secretion levels [20]. However, if multiple regression is studied in the three groups separately, it can be noticed that in insulinopenia, insulin secretion is positively and significantly correlated with non-HDL-C. It is also significantly and positively correlated with LDL-C. Impaired insulin secretion is accompanied by an increase in non-HDL-C [21], in particular, an increase in the fraction of LDL-C [22]. It is often found in the literature review that HDL-C concentration is positively associated with insulin sensitivity and inversely correlated with insulin secretion [20].

Multiple regression also shows that SBP and DBP are significantly related to insulin resistance. Our data suggest a possible direct relationship between fasting insulin and blood pressure. Arterial hypertension is associated with a significant decrease in insulin sensitivity [23].

With regard to the inflammatory component CRP, its value increases significantly in type 2 diabetes. It is both a diagnostic factor and a poor prognostic factor. Abnormalities in insulin sensitivity and secretion abnormalities are strongly related to the increase in the number of acute inflammatory phase proteins CRP, found in the plasma of patients with type 2 diabetes [24].

CONCLUSION

Serum insulin concentrations, correlated with lipid parameters in type 2 diabetics, may reflect the imbalances of these two metabolisms found in type 2 diabetic patients living in the West of Algeria. The results obtained assume that the alteration of insulin secretion is accompanied by an increase in non-HDL-C and in particular an increase in the fraction of LDL-C. Our results also suggest that type 2 diabetics with a significant decrease in insulin sensitivity are at risk of developing high blood pressure.

ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

Ethics Committee of the National Agency for the

Development of Health Research Algeria approved the study.

HUMAN AND ANIMAL RIGHTS

No animals were used in this research. All human research procedures followed were in accordance with the ethical standards of the committee responsible for human experimentation (institutional and national), and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2013.

CONSENT FOR PUBLICATION

Written informed consent was obtained from all the participants.

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIALS

All data generated or analyzed throughout this research are included in this published article.

FUNDING

None.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank the co-authors for their collaboration.

REFERENCES

[1] Gerber PA, Spirk D, Brändle M, Thoenes M, Lehmann R, Keller U. Regional differences of glycaemic control in patients with type 2 diabetes mellitus in Switzerland: A national cross-sectional survey. *Swiss Med Wkly* 2011; 141:w13218 [http://dx.doi.org/10.4414/sm.w.2011.13218] [PMID: 21735364]

[2] Giannini C, Santoro N, Caprio S, et al. The triglyceride-to-HDL cholesterol ratio: association with insulin resistance in obese youths of different ethnic backgrounds. *Diabetes Care* 2011; 34(8): 1869-74. [http://dx.doi.org/10.2337/dc10-2234] [PMID: 21730284]

[3] Diyane K, El Ansari N, El Mghari G, Anzid K, Cherkaoui M. Caractéristiques de l'association diabète type 2 et hypertension artérielle chez le sujet âgé de 65 ans et plus. *Pan Afr Med J* 2013; 14: 100. [http://dx.doi.org/10.11604/pamj.2013.14.100.1880] [PMID: 23717715]

[4] Mostafa SA, Davies MJ, Morris DH, et al. The association of the triglyceride-to-HDL cholesterol ratio with insulin resistance in White European and South Asian men and women. *PLoS One* 2012; 7(12):e50931 [http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0050931] [PMID: 23251403]

[5] Levin G, Kestenbaum B, Ida Chen YD, et al. Glucose, insulin, and incident hypertension in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Am J Epidemiol* 2010; 172(10): 1144-54. [http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwq266] [PMID: 20961972]

[6] Forman JP, Choi H, Curhan GC. Uric acid and insulin sensitivity and risk of incident hypertension. *Arch Intern Med* 2009; 169(2): 155-62. [http://dx.doi.org/10.1001/archinternmed.2008.521] [PMID: 19171812]

[7] Friedman GD, Cutter GR, Donahue RP, et al. CARDIA: Study design, recruitment, and some characteristics of the examined subjects. *J Clin Epidemiol* 1988; 41(11): 1105-16. [http://dx.doi.org/10.1016/0895-4356(88)90080-7] [PMID: 3204420]

[8] Hermans M. Comment mesurer et interpréter en pratique la mesure combinée de %S et %β. *Louv Med* 2006.

[9] Bernard C, Ktorza A. La plasticité du pancréas endocrine: une piste nouvelle pour le diabète de type II? *Médecine Thérapeutique Endocrinologie & Reproduction* 2000; 2(1): 18-30.

[10] Chan CB, Saleh MC, Koshkin V, Wheeler MB. Uncoupling protein 2 and islet function. *Diabetes* 2004; 53(Suppl. 1): S136-42. [http://dx.doi.org/10.2337/diabetes.53.2007.S136] [PMID: 14749279]

[11] Campbell H, Carothers AD, Rudan I, et al. Effects of genome-wide heterozygosity on a range of biomedically relevant human quantitative traits. *Hum Mol Genet* 2007; 16(2): 233-41. [http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddl473] [PMID: 17220173]

[12] Rudan I, Rudan D, Campbell H, et al. Inbreeding and risk of late onset complex disease. *J Med Genet* 2003; 40(12): 925-32. [http://dx.doi.org/10.1136/jmg.40.12.925] [PMID: 14684692]

[13] Dali-Sahi M, Benmansour D, Aouar A, Karam N. Étude de l'épidémiologie du diabète de type 2 dans des populations endogames de l'ouest algérien. *Leban Sci J* 2012; 13(2)

[14] Scheen AJ. L'insulinorésistance: Comment l'évaluer en pratique clinique? *Métabolismes Hormones Diabètes Nutrition* 2004; 8: 21-7.

[15] Abdesselem H, Sebai I, Jemal M, et al. Étude de la corrélation entre la sensibilité à l'insuline et les paramètres anthropométriques et métaboliques dans le diabète de type 2. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* 2018; 67(3): 167-73. [http://dx.doi.org/10.1016/j.ancard.2018.04.021] [PMID: 29779836]

[16] Veronica G, Esther RR. Aging, metabolic syndrome and the heart. *Aging Dis* 2012; 3(3): 269-79. [PMID: 22724085]

[17] Feng W, Huixia L, Fukang L, et al. Consumption of a liquid high-fat meal increases triglycerides but decreases high density lipoprotein cholesterol in abdominally-obese subjects with high postprandial insulin resistance 2016.

[18] van Dam RM, Rimm EB, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary patterns and risk for type 2 diabetes mellitus in U.S. men. *Ann Intern Med* 2002; 136(3): 201-9. [http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-136-3-200202050-00008] [PMID: 11827496]

[19] Monzillo LU, Hamdy O. Evaluation of insulin sensitivity in clinical practice and in research settings. *Nutr Rev* 2003; 61(12): 397-412. [http://dx.doi.org/10.1301/nr.2003.dec.397-412] [PMID: 14968910]

[20] Preuss HG, Clouatre D. *Nutritional and Integrative Strategies in Cardiovascular Medicine*. Boca Raton, FL: CRC Press 2015; pp. 148-30.

[21] Slama G, Picard S. Syndrome d'insulinorésistance: observer ou agir? *Diabetes Metab* 2003; 29(2 Pt 3): S5-S10. [PMID: 12746614]

[22] Magis D, Geronooz I, Scheen AJ. Smoking, insulin resistance and type 2 diabetes. *Rev Med Liege* 2002; 57(9): 575-81. [PMID: 12440345]

[23] Berraho Y, El Achhab K, El Rhazi N, Tachfouti A, Benslimane C, Nejari M. L'hypertension artérielle chez 525 diabétiques de type 2 – étude transversale dans trois régions au Maroc. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2009; 57(Suppl. 1): S15. [http://dx.doi.org/10.1016/j.respe.2009.02.052]

[24] Guerrero-Romero F, Rodriguez-Morán M. Relation of C-reactive protein to features of the metabolic syndrome in normal glucose tolerant, impaired glucose tolerant, and newly diagnosed type 2 diabetic subjects. *Diabetes Metab* 2003; 29(1): 65-71. [http://dx.doi.org/10.1016/S1262-3636(07)70009-5] [PMID: 12629450]

Chapitre 6

**Traitements antidiabétiques, obésité et
risque de cancers chez les patients atteints
du diabète de type 2**

Chapitre 6: Traitements antidiabétiques, obésité et risque de cancers chez les patients atteints du diabète de type 2

1. Introduction

Une des complications moins connue et controversée du diabète est la survenue de cancers (Gariani et al., 2010; Schlienger, 2013). De nombreuses études et méta-analyses ont mis en évidence une association entre le diabète et la survenue de plusieurs types de cancers en lien notamment avec l'obésité, le surpoids (Vainio and Bianchini, 2002), l'hyperinsulinisme, l'hyperglycémie ou l'inflammation chronique (Gariani et al., 2010). De plus, l'existence d'une insulino-résistance semble corrélée à une plus grande agressivité du cancer et à une mortalité accrue (Godsland, 2010; Ma et al., 2008; Vigneri et al., 2009).

Les liens biologiques potentiels entre les deux maladies sont incomplètement compris. De plus, des études observationnelles suggèrent que certains médicaments utilisés pour traiter l'hyperglycémie sont associés à un risque accru ou réduit de cancer (Giovannucci et al., 2010).

Dans de nombreux modèles de cancers, il a pu être montré une surexpression de 2 à 6 fois des récepteurs de l'insuline par rapport à des cellules non cancéreuses (Frittitta et al., 1993; Godsland, 2010).

Ainsi, il a été suggéré que l'obésité et le surpoids combinée à la résistance à l'insuline pourrait favoriser la cancérogenèse (Giovannucci et al., 2010; Liu et al., 2012; Pisani, 2008).

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'association entre le diabète et les cancers ainsi que l'impact de l'utilisation des antidiabétiques oraux (metformine), de l'insuline et la présence de l'HTA sur le risque de survenue des cancers.

2. Matériel et méthodes

L'étude analytique transversale comprenait 1220 patients répartis en deux groupes: des diabétiques cancéreux, et diabétiques non cancéreux.

Le cancer du sein occupe la première position (40%) suivi du cancer du côlon (33,34%), le cancer du poumon occupe un pourcentage non négligeable (20%) suivi du cancer de l'estomac (6,66%). Considérés comme des cas 256 individus, et les diabétiques non cancéreux considérés comme témoins 964 individus. Les participants étaient admis au niveau du centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen de Mars 2017 à Mars 2019.

Les données avaient été recueillies à partir du dépouillement des dossiers et d'un questionnaire préétabli. Les paramètres étudiés portaient sur l'âge, le sexe, le type de cancer, les antécédents familiaux de diabète ou de cancer, le degré de consanguinité, l'obésité avait été appréciée par le calcul de l'IMC et le type de traitement associé. Pour le diabète la nature du traitement a été notée: Les analogues de l'insuline lente (Glargine et détémir), les mélanges d'insuline analogue rapide et d'insuline lente (Insuline aspartate protamine et insuline lispro protamine), les insulines analogues rapides (insuline aspartate et insuline glulisine). Pour les antidiabétiques oraux, la metformine.

Pour l'HTA essentielle associée, les traitements rapportés étaient majoritairement: Inhibiteur de l'enzyme de conversion en monothérapie.

Toutes les personnes ayant participé à cette recherche avaient été informées du but de l'étude et leur consentement éclairé avait été obtenu.

Cette étude avait été examinée et approuvée par le Comité d’Ethique et de Déontologie de l’Université de Tlemcen.

2.1. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne±écart type et en pourcentage. Le test *t* de Student avait été utilisé pour la comparaison des moyennes, et celui du Khi-deux pour la comparaison des pourcentages.

Nous avons effectué des régressions logistiques binaires pour identifier les patients diabétiques à risque de développer un cancer (cancer du sein, cancer du colon cancer du poumon et cancer de l’estomac) à l’aide des facteurs mesurés (Nakache and Confais, 2003). La variable de réponse est ici notée Y, qui dénombre les sujets diabétiques cancéreux (C) et les témoins (T), (C) étant la valeur de référence.

Nous avons tracé les courbes ROC et calculé l’AUC pour déterminer les capacités prévisionnelles des modèles logistiques formulés. Les résultats étaient considérés statistiquement significatifs à partir d’une valeur de *p*-value<0,05.

Les données avaient été exploitées à l’aide du logiciel Minitab 16.

3. Résultats

Dans cette étude, 1220 sujets de l’extrême ouest Algérien, représentatifs de la population générale des 35 à 70 ans sont colligés.

Les patients traités par la metformine en monothérapie représentait les (42%) le reste des patients étaient traité à l’insuline sans aucunes associations médicamenteuse.

La moyenne de l’IMC des sujets diabétiques cancéreux est de $26,60\pm 4,85$ kg/m² versus $25,51\pm 4,53$ kg/m² chez les diabétiques non cancéreux.

L’HTA est plus fréquente chez les diabétiques cancéreux (60%) par rapport aux non cancéreux (17,64%).

Concernant l’étude analytique les Tableaux 28 et 29 donne un résumé des facteurs retenus effectivement dans le modèle logistique.

En tenant compte du facteur sexe dans le modèle logistique, les femmes sont dix sept fois plus exposées aux cancers par rapport aux hommes (OR=17,26 ; 95% IC=2,88-103,45, *p*<0,01).

Quant à l’étude sur le surpoids et l’obésité estimée par un indice de masse corporel, il apparait que les individus en surpoids ont un risque pratiquement cinq fois plus élevé de développer un des cancers par rapport aux sujets avec d’autres niveaux d’IMC (Normal et obèse) (OR=4,81 ; 95% IC=1,63-14,14, *p*<0,01).

En ce qui concerne les sujets hypertendus diabétiques ils sont pratiquement quatre fois plus exposés aux cancers comparativement aux sujets normotendus (OR=3,82 ; 95% IC=1,39-10,49, *p*<0,01).

Il est intéressant de noter que les sujets diabétiques traités par de l’insuline ont un risque réduit de développer un cancer (OR=0,22 ; 95% IC=0,07-0,67, *p*<0,01). Contrairement aux sujets diabétiques traités par les antidiabétiques oraux, qui présentent un risque quatre fois et demi plus élevé de développer un cancer (OR=4,61 ; 95% IC=1,48-14,37, *p*<0,01) que ceux traités par de l’insuline.

La partie analytique a pour but la présentation deux modèles de prédiction qui vise à étayer les données actuelles qui semblent proposer que le diabète augmente le risque de survenue de plusieurs types de cancers. On se propose aussi d'évaluer l'impact des différents traitements utilisés dans la prise en charge du DT2 et leurs risques potentiels dans la survenue des cancers.

Le premier modèle logistique effectué (Tableau 16) montre une association statistiquement significative entre les cancers (sein, estomac, colon et poumon) d'une part et le sexe, le surpoids, l'HTA, le traitement par l'insuline semble exercé très peu ou pas d'effet sur la survenue des cancers.

Tableau 16: Résultats de l'étude du modèle de régression logistique.

Prédicteur	Coefficients	Z (Wald)	p-value	OR	IC à 95%
Constante	-4,64985	-4,46	0,0001		
Sexe	2,84816	3,12	0,002	17,26	2,88-103,45
Surpoids	1,57004	2,85	0,004	4,81	1,63-14,14
HTA	1,34045	2,60	0,009	3,82	1,39-10,49
Insuline	-1,52920	-2,64	0,008	0,22	0,07-0,67

OR: odds ratio, **IC:** intervalle de confiance, **HTA:** hypertension artérielle.

Le deuxième modèle logistique effectué (Tableau 17) montre une association statistiquement significative entre les cancers (sein, estomac, colon et poumon) d'une part et le sexe, le surpoids, l'HTA, le traitement par les antidiabétiques oraux semble associé à un risque accru de ces types de cancer.

Tableau 17: Résultats de l'étude du modèle de régression logistique.

Prédicteur	Coefficients	Z (Wald)	p-value	OR	IC à 95%
Constante	-6,17905	-5,20	0,0001		
Sexe	2,84816	3,12	0,002	17,26	2,88-103,45
Surpoids	1,57004	2,85	0,004	4,81	1,63-14,14
HTA	1,34045	2,60	0,009	3,82	1,39-10,49
Metformine	1,52920	2,64	0,008	4,61	1,48-14,37

OR: odds ratio, **IC:** intervalle de confiance, **HTA:** hypertension artérielle.

Les traitements semblent influencer de manière divergente la survenue de cancer.

Le test d'adéquation de l'ajustement par la méthode de Pearson, somme des carrés d'écart, Hosmer-Lemeshow et par les deux méthodes de Brown (alternative générale et alternative symétrique) acceptent le modèle logistique avec une p-value supérieure à 0,05 (Tableau 18).

Tableau 18: Tests d'adéquation de l'ajustement.

Méthode	Khi deux	DL	p-value
Pearson	14,2240	23	0,920
Somme des carrés d'écart	17,4663	23	0,786
Hosmer-Lemeshow	2,8982	7	0,894
Brown:			
Alternative générale	2,1157	2	0,347
Alternative symétrique	1,6413	1	0,200

DL: degré de liberté.

Pour les capacités prévisionnelles des deux modèles (Tableau 19). On note un pourcentage très fort de paires concordantes (86,2%). Le D de Somers, le Gamma de Goodman-Kruskal et Tau-a de Kendall sont des résumés du tableau des paires concordantes et discordantes. Les valeurs les plus élevées indiquent que le modèle a de meilleures capacités de prévision. Dans notre cas les deux premières mesures valant 0,75 et 0,78 impliquent une forte capacité de prévision. Le Tau-a de Kendall donne une capacité de prévision relativement basse.

Tableau 19: Mesures d'association: (entre la variable de réponse et les prévisions de probabilité).

Paires	Nombre	Pourcentage	Mesures récapitulatives	
Concordant	2870	86,2	D de Somers	0,75
Discordant	362	10,9	Gamma de Goodman-Kruskal	0,78
Ex aequo	98	2,9	Tau a de Kendall	0,25
Total	3330	100,0		

Dans le premier modèle nous obtenons (Figure 9): AUC=0,78, la valeur de l'AUC nous a permis d'indiquer que ce modèle logistique a une discrimination très acceptable.

Alors que, dans le deuxième modèle (Figure 10): AUC=0,68, donc la discrimination de ce modèle est acceptable.

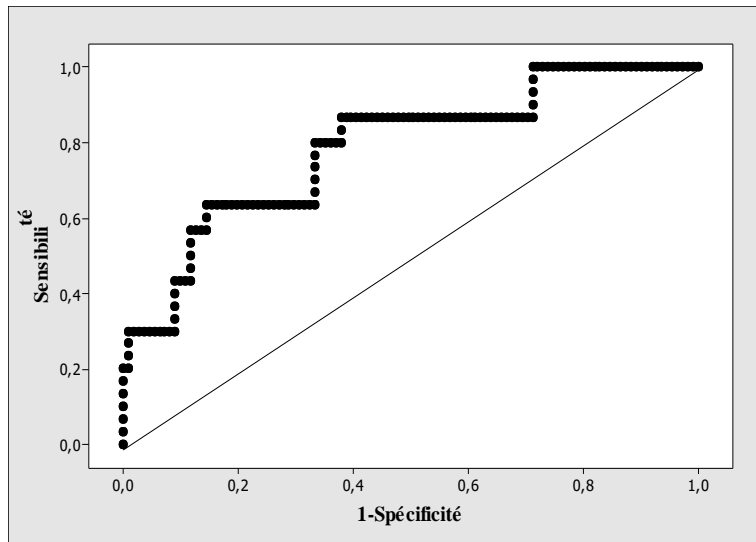


Figure 9: Le premier modèle (insuline).

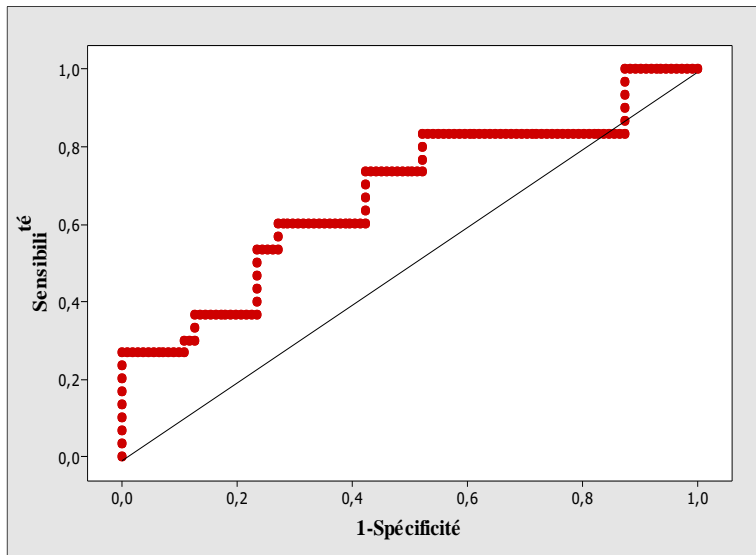


Figure 10: Le deuxième modèle (antidiabétiques oraux).

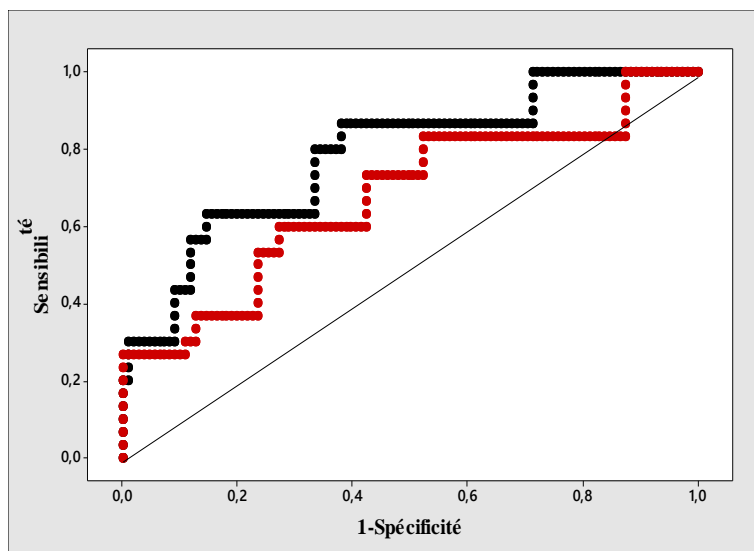


Figure 11: Tracés de courbes: en noir: modèle 1; en rouge: modèle 2.

4. Discussion

L'association entre le DT2 et le cancer (du sein, de l'estomac, du colon et du poumon) apparaît incontestable, une relation de causalité en faisant jouer un rôle essentiel, au sexe, au surpoids à la présence de l'HTA et aux traitements de l'hyperglycémie apparaît lié aux cancers dans notre population d'étude.

Il est bien établi que le cancer du sein est le plus fréquent des cancers féminins dans le monde, il occupe ainsi le premier rang dans la plupart des pays. Il représente 23% des cancers de la femme et 10,9% de tous les cancers humains au monde (Ferlay et al., 2010).

De nombreuses études cliniques ont suggéré l'existence d'un lien entre le diabète et une variété d'autres formes de cancers, y compris les cancers du sein (Michels et al., 2003), colorectal (Hu et al., 1999) endométrial (Bray et al., 2005) et pancréatique (Bao et al., 2011; Pothuraju et al., 2018).

Notre étude montre une association statistiquement significative entre le risque de survenue du cancer chez les individus diabétiques de type 2, de sexe féminin, un risque multiplié par 17 (OR=17,26 ; $p=0,002$).

Par ailleurs, la relation peut être due, en tout ou en partie, au partage d'une relation commune conditions prédisposantes, comme l'obésité (Giovannucci et al., 2010). En fait, le surpoids, et l'obésité sont associés au risque de survenue du DT2 dans la population de l'extrême ouest Algérien (Dali-Sahi et al., 2012). Ce risque est multiplié presque par 5 fois (OR=4,81) et est très significativement lié au cancer ($p=0,004$) dans les deux modèles.

Le lien entre HTA et cancer a fait l'objet de multiples études: il faut dire que ces deux pathologies sont plus fréquentes avec l'âge (Largent et al., 2006).

Plusieurs études ont discuté du risque de cancer du sein associé à l'utilisation à long terme d'antihypertenseurs (Li et al., 2003).

Certaines études ont limité le risque aux hommes, tandis que d'autres ont démontré que l'hypertension est également un facteur de risque de cancer chez les femmes (Battistoni et al., 2019; Hamet et al., 1985).

Dans notre étude, les cancers étudiés révèlent une association statistiquement significative avec l'HTA, quelque soit le type d'hypoglycémiant utilisé. Ce risque se voit multiplié par 4 pratiquement (OR=3,82 ; $p=0,009$) quand les diabétiques hypertendus sont sous insuline. De même ce risque se voit multiplié par deux et demi (OR=2,60 ; $p=0,009$) quand les diabétiques hypertendus sont sous antidiabétiques oraux, tous sexes confondus.

Notre modèle logistique a également retenu de manière significative les antidiabétiques oraux en tant que facteur de risque de survenue des cancers chez les diabétiques. Ce risque se voit multiplié par quatre et demi (OR=4,61 ; $p=0,008$). Tandis que le traitement du diabète par l'insuline semble sans effet dans la survenue des cancers dans notre population d'étude (OR=0,22 ; $p=0,008$). L'insuline semble avoir plutôt un effet protecteur.

Le risque potentiel accru de cancer associé aux médicaments antidiabétiques peut résulter d'effets directs ou indirects sur l'insuline et les niveaux d'insuline circulante ou d'autres mécanismes (Hemkens et al., 2009; Jonasson et al., 2009).

Toutefois, les données restent contradictoires (Bánhegyi et al., 2010; Boyle, 2012). La metformine, le traitement le plus couramment utilisé chez les personnes atteintes du DT2 peut avoir un effet protecteur contre le cancer, peut être en raison d'une réduction des taux de glucose et d'insuline (Evans et al., 2005). Ce qui n'est pas le cas dans la présente étude.

5. Conclusion

Bien que les cancers et le diabète aient de nombreux facteurs de risques en commun à savoir l'obésité et le surpoids ainsi que la présence de l'hypertension, notre étude cas témoins suppose que le traitement à la metformine peut potentialiser la survenue des cancers.

La courbe ROC justifie que le modèle logistique dispose d'une prévision de très forte capacité.

Chapitre 7

Le catabolisme du tryptophane par l'indoleamine 2,3 dioxygénase 1 est un facteur de risque de l'infarctus du myocarde chez des diabétiques de type 2

Chapitre 7: Le catabolisme du tryptophane par l'indoleamine 2,3 dioxygénase 1 est un facteur de risque de l'infarctus du myocarde chez des diabétiques de type 2

1. Introduction

Le Trp, un acide aminé essentiel, est catabolisé selon 2 voies: celle des kynurénines, majoritaire et impliquée dans les cardiopathies, le processus inflammatoire et la cancérogénèse, et celle de la sérotonine, impliquée dans la dépression et les maladies neurodégénératives (Baumgartner et al., 2019; Veenstra-VanderWeele et al., 2000).

L'IDO1 est l'enzyme responsable du catabolisme du Trp, en N-formylkynurénine, conduisant à la production de métabolites dérivés de la kynurénine (Kyn).

L'activité de cette enzyme clé, augmente proportionnellement à la taille des plaques d'athérosclérose, facteur de risque cardiovasculaire (Niinisalo et al., 2008; Pertovaara et al., 2007).

De plus, plusieurs molécules de cette voie possèdent des concentrations qui varient dans certains désordres cardiovasculaires (IDM, AVC, dysfonctionnement endothélial) et métaboliques (insulinorésistance, obésité) (Song et al., 2017).

Jusqu'à présent, il était admis que l'IDO1 exerçait des activités ayant des effets immunosuppresseurs, notamment via l'induction de lymphocytes T (Mellor and Munn, 2004; Puccetti and Grohmann, 2007). Cependant, des résultats publiés dans *Cell Metabolism* en 2015 (Metghalchi et al., 2015) ont montré que, contrairement à ce qui était attendu, quand elle est surexprimée, elle précipite la survenue de troubles métaboliques. A savoir obésité ou encore DT2.

Il existe donc une relation étroite entre le métabolisme du Trp et les risques cardiovasculaires chez les diabétiques de type 2

L'objectif de ce travail vise à tester l'hypothèse selon laquelle l'activité de l'IDO1 exprimée par le ratio K/T joue un rôle pathogène dans la survenue de l'IDM chez les diabétiques de type 2.

Les résultats de cette étude permettront de relier le catabolisme du Trp via la voie des kynurénines avec le risque de survenue de l'IDM chez les diabétiques de type 2.

2. Matériel et Méthodes

Au niveau du Centre Hospitalo Universitaire de Tlemcen (Algérie), une étude descriptive observationnelle a été menée d'Octobre 2017 à Octobre 2018. Cent vingt sujets diabétiques de type 2 ont été recrutés. 58 patients ayant un antécédent d'IDM et 62 sans IDM (atteints d'autres antécédents d'événements cardiovasculaires). Un consentement éclairé écrit de tous les patients, ainsi que l'approbation du comité d'éthique, ont été obtenus avant le début de l'étude. Un questionnaire a été administré à tous les participants. Il comprenait l'âge du patient, le sexe, le niveau d'instruction, la profession, le degré de consanguinité, la consommation actuelle de tabac, le nombre d'années atteintes de DT2 et de MCV, et enfin les antécédents familiaux connus de DT2 et de MCV.

Le DT2 a été diagnostiqué sur la base d'une glycémie plasmatique, mesurée après un minimum de 8 heures de jeûne, supérieure à 1,26 g/L ou 7,0 mmol/L, conformément à la classification et au diagnostic du diabète de l'Association Américaine du Diabète (ADA, 2018).

Les MCV ont été définies selon la classification de l'Association Américaine de Cardiologie (Austen et al., 1975).

Tous les individus ont été physiquement évalués au départ afin de saisir des mesures anthropométriques de taille et de poids. La taille a été mesurée à l'aide d'un stadiomètre en position debout, les chaussures enlevées, les épaules relâchées, la tête vers l'avant, avec une précision de l'ordre de 0,05 m. Le poids a été mesuré avec un minimum de vêtements, sur une balance stable (SECA), avec une précision de l'ordre de 0,1 kg. L'IMC a été calculé en divisant le poids (kg) par le carré de la taille (m²).

Pour les analyses biochimiques, 5 mL de sang veineux ont été prélevés sur tube hépariné après un jeûne d'au moins 12 heures. La glycémie, le cholestérol total, le HDL-C, le LDL-C, les triglycérides, l'urée et la créatinine ont été dosés en utilisant les procédures enzymatiques standards (recommandations SFBC ou IFCC) sur un automate Beckman CX7® (Beckman-Coulter®, NY, États-Unis). Le plasma été congelé à - 80°C, en vue du dosage du Trp et de la Kyn.

2.1. Détermination des concentrations plasmatiques de Trp et de Kyn

Les concentrations plasmatiques du Trp et de la Kyn ont été mesurées par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) selon une méthode déjà décrite (Scheffold et al., 2009; Yamada et al., 2008). 50 µL de sérum sont mélangés et centrifugés (11800 tr/min, à + 4°C, pendant 8 min) après addition de 50 µL d'acétonitrile, pour la précipitation des protéines, contenant du Trp D5 à 50 µM (isotopes CDN, Pointe-Claire, Canada), comme étalon interne. 50 µL de surnageant sont repris et ajoutés en vial à de l'eau désionisée (600 µL). 10 µL de ce mélange sont enfin injectés dans un système UPLC®-MS/MS (Acquity TQ-XS Detector, Waters, Milford, États-Unis) équipé d'une colonne CSH Phenyl-Hexy 12,1x100 mm-1,7 µm (Waters, Milford, États-Unis). Les modes *positive electrospray ionization* (ESI+) et *Multiple Reaction Monitoring* (MRM) sont utilisés respectivement pour l'ionisation et la détection de chaque transition des molécules à quantifier. Le logiciel MassLinks (Waters) est utilisé pour l'acquisition et le traitement des données.

2.2. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne±écart-type et en pourcentage. Le test *t* de *student* a été effectué pour la comparaison des moyennes. Le test du Khi-deux a été utilisé pour la comparaison des pourcentages.

Une corrélation de *pearson* a été effectuée pour vérifier la liaison entre le ratio K/T et l'ancienneté dans le DT2. Des régressions multiples ont été réalisées afin de tester la liaison entre le ratio K/T et les autres paramètres étudiés (sexe, âge, IMC, consanguinité, ancienneté dans le DT2, antécédents familiaux des MCV, antécédents médicaux personnels, PAS, PAD, triglycéridémie, glycémie, cholestérolémie, urémie, créatininémie, concentrations plasmatiques du Trp et de la Kyn). Le seuil de significativité a été fixé à $p < 0,05$.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Minitab 18.

3. Résultats

Dans notre population d'étude (Tableau 20) il y a plus de femmes diabétiques de type 2 avec IDM (56,66%) que d'hommes. Sans que cette différence ne soit significative ($p=0,078$).

La fréquence de la consanguinité dans notre population d'étude est de 30%. IL y a plus d'individus diabétiques consanguins sans IDM (34,38%) que d'individus diabétiques consanguins avec IDM (26,66%). Sans que pour autant cette différence ne soit significative.

La moyenne de l'IMC est de $27,19\pm 3,96$ Kg/m², inscrivant la population d'étude dans un contexte de surpoids mais sans obésité morbide.

La moyenne de la triglycéridémie chez les sujets diabétiques atteints de l'IDM ($1,67\pm 0,65$ g/L) est significativement ($p=0,034$) plus élevée que celle des diabétiques non atteints ($1,27\pm 0,80$ g/L).

La concentration plasmatique moyenne de Trp de notre population est de 5525 ± 1668 nM, elle est significativement différente ($p=0,0001$) en fonction du sexe, ou Les hommes présentent une concentration moyenne de Trp (6307 ± 1774 nM) plus élevée que celle des femmes (4744 ± 1563 nM).

Les patients sans IDM présentent une concentration moyenne du Trp (6058 ± 1653 nM) significativement ($p=0,015$) plus élevée que celle de la concentration moyenne du Trp chez les patients avec IDM (4992 ± 1683 nM).

De même la concentration plasmatique moyenne de la Kyn chez les sujets atteints de l'IDM (4768 ± 1986 nM) est significativement ($p=0,007$) plus élevée que celle chez les patients sans IDM (3539 ± 1460 nM).

La moyenne de l'activité de l'IDO1 exprimée par K/T ($\times 100$), est significativement ($p=0,008$) plus élevée chez les sujets diabétiques atteints d'IDM ($10,48\pm 4,84$) que les sujets diabétiques non atteints ($6,85\pm 5,51$) (Tableau 20).

Les moyennes et les pourcentages des variables âge, sexe, IMC, consanguinité, tabac, antécédents familiaux des MCV, ancienneté dans le DT2, glycémie, cholestérol, urée, créatinine, ne diffèrent pas selon la présence ou absence de l'IDM ($p>0,05$).

Tableau 20: Caractéristiques anthropométriques, cliniques et biologiques de la population étudiée.

Paramètres	Population totale	IDM (n=58)	Sans IDM (n=62)	p-value
Age (ans)	62,3±12,6	64,3±11,3	60,5±13,7	0,247
Sexe (%)				
Hommes	55	43,33	65,62	0,078
Femmes	45	56,66	34,38	
IMC	27,19±3,96	27,11±3,95	27,28±4,06	0,868
Consanguinité (%)	30	26,66	34,38	0,511
Tabac (%)	35	33,33	37,5	0,732
Antécédents familiaux des MCV (%)	53,33	53,33	53,13	0,987
Ancienneté dans le DT2 (ans)	11,03±9,96	13,4±11,2	8,67±8,72	0,140
Glycémie (g/L)	2,64±0,97	2,71±0,95	2,62±0,99	0,736
Triglycéridémie (g/L)	1,47±0,72	1,67±0,65	1,27±0,80	0,034
Cholestérolémie (g/L)	1,58±0,40	1,55±0,39	1,61±0,41	0,532
Urémie (g/L)	0,34±0,20	0,34±0,18	0,34±0,22	0,921
Créatininémie (mg/L)	10,31±3,14	10,41±3,15	11,20±3,12	0,320
Trp (nM)	5525±1668	4992±1683	6058±1653	0,015
Kyn (nM)	4154±1723	4768±1986	3539±1460	0,007
K/T (×100)	8,66±5,17	10,48±4,84	6,85±5,51	0,008

mmHg: millimètre de mercure, **g/L:** gramme/litre, **mg/L:** milligramme/litre, **nM:** nanomolaire.

Évalués par le sexe la concentration du Trp circulant, le niveau de la Kyn et l'activité de l'IDO1 consignés dans le tableau suivant (Tableau 21), montre que tous les patients hommes avec IDM avaient un Trp significativement ($p=0,003$) plus bas que les hommes DT2 sans antécédent d'IDM. Pour les femmes cette différence est la même mais elle est non significative. La concentration plasmatique de la Kyn augmente significativement ($p<0,01$) chez les patients avec IDM de deux sexe que ceux sans IDM, l'activité de l'IDO1 exprimée par K/T (×100) est significativement élevée chez les sujets atteints de l'IDM de sexe masculin par rapport aux hommes sans IDM ($p=0,0001$).

Tableau 21: Distribution des paramètres de catabolisme du Trp selon le sexe.

Paramètres	IDM (n=58)	Sans IDM (n=62)	p-value
Trp (nM)			
Hommes	5814±2169	6799±1380	0,003
Femmes	4525±1251	4963±1875	0,138
Kyn (nM)			
Hommes	4914±2084	3476±1009	0,0001
Femmes	4710±1879	3517±1921	0,001
K/T (×100)			
Hommes	9,79±6,41	5,21±3,81	0,0001
Femmes	10,69±3,18	8,93±7,29	0,092

nM: nanomolaire.

Dans notre population, l'activité de l'IDO1, exprimée par K/T (×100), est positivement corrélée à l'ancienneté dans le DT2 (Figure 12) avec un coefficient de corrélation (r) égal à 0,439 et une p-value égale à 0,0001.

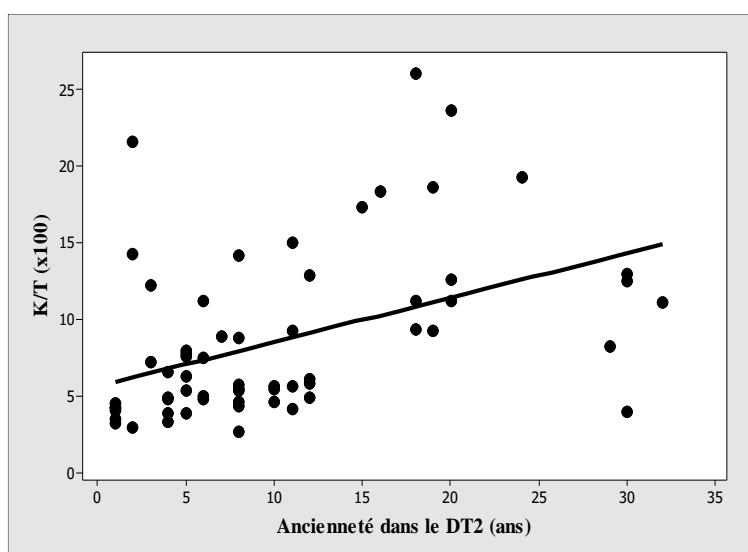


Figure 12: Corrélation entre l'activité de l'IDO1 exprimée par K/T (×100) et l'ancienneté dans le DT2 chez la population étudiée.

De même l'étude de liaison par régression multiple montre dans la population étudiée, l'activité de l'IDO1 exprimée par K/T (×100) est significativement ($p < 0,05$) et linéairement, très fortement liée à la concentration plasmatique du Trp et à la concentration plasmatique de la Kyn ainsi qu'au cholestérol total (Tableau 22), avec un coefficient de détermination (R^2) égal à 90,3%. L'équation de régression:

$$K/T (\times 100) = 8,54 - 0,000173 \text{ Trp (nM)} + 0,00207 \text{ Kyn (nM)} - 0,384 \text{ Glycémie (g/L)} + 1,33 \text{ Cholestérol total (g/L)}.$$

Tableau 22: Résultats de la régression multiple chez la population totale.

Prédicteur	Coefficients	Coefficients Erreur Type	p-value
Constante	8,538	1,672	0,0001
Trp (nM)	-0,00017261	0,00001399	0,0001
Kyn (nM)	0,0020697	0,0001286	0,0001
Glycémie (g/L)	-0,3840	0,2492	0,129
Cholestérol total (g/L)	1,3275	0,5743	0,024

nM: nanomolaire, **g/L:** gramme/litre.

Les régressions multiples dans les deux groupes de patients (diabétiques de type 2 avec IDM et sans IDM) montrent que l'activité de l'IDO1 exprimée par K/T ($\times 100$) des patients diabétiques de type 2 atteints de l'IDM est significativement ($p < 0,05$) et linéairement, très fortement ($R^2 = 91\%$) liée à la concentration plasmatique du Trp et à la concentration plasmatique de la Kyn, à la glycémie et au cholestérol total (Tableau 23). L'équation de régression est : $K/T (\times 100) = 9,08 - 0,000186 \text{ Trp (nM)} + 0,00192 \text{ Kyn (nM)} - 0,758 \text{ Glycémie (g/L)} + 2,33 \text{ Cholestérol total (g/L)}$.

Tableau 23: Résultats de la régression multiple chez les patients diabétiques de type 2 avec IDM.

Prédicteur	Coefficients	Coefficients Erreur Type	p-value
Constante	9,078	2,190	0,0001
Trp (nM)	-0,00018644	0,00002029	0,0001
Kyn (nM)	0,0019206	0,0001534	0,0001
Glycémie (g/L)	-0,7580	0,3652	0,048
Cholestérol total (g/L)	2,3250	0,7583	0,005

nM: nanomolaire, **g/L:** gramme/litre.

Chez les patients diabétiques de type 2 sans IDM (Tableau 24), l'activité de l'IDO1 exprimée par K/T ($\times 100$) est corrélée de façon significative ($p < 0,05$) et linéaire très forte ($R^2 = 93\%$) uniquement avec les concentrations plasmatiques du Trp et de la Kyn. L'équation de régression est:

$K/T (\times 100) = 8,46 - 0,000178 \text{ Trp (nM)} + 0,00261 \text{ Kyn (nM)} - 0,035 \text{ Glycémie (g/L)} + 0,006 \text{ Cholestérol total (g/L)}$.

Tableau 24: Résultats de la régression multiple chez les patients diabétiques de type 2 sans IDM.

Prédicteur	Coefficients	Coefficients Erreur Type	p-value
Constante	8,457	2,140	0,001
Trp (nM)	-0,00017800	0,00001814	0,0001
Kyn (nM)	0,0026144	0,0001982	0,0001
Glycémie (g/L)	-0,0346	0,2922	0,907
Cholestérol total (g/L)	0,0065	0,7156	0,993

nM: nanomolaire, g/L: gramme/litre.

4. Discussion

Dans la littérature, il y a très peu d'études qui ont évalué l'activité de l'IDO1 chez des patients diabétiques de type 2 atteints d'IDM (Rebnord et al., 2017). Notre étude rapporte les premières données sur l'évaluation de l'activité de l'IDO1 comme prédicteur d'un IDM associée aux facteurs de risques classiques (âge, sexe, IMC, consanguinité, tabac, antécédents familiaux des MCV, ancienneté dans le DT2, glycémie, cholestérol total, triglycéride, urée et créatinine).

Dans notre population d'étude il y a plus de femmes diabétiques de type 2 avec IDM que d'hommes. Elles présentent aussi une concentration de Trp circulant inférieure à celle des hommes.

Selon les recommandations Française, la concentration moyenne de Trp dans le sang est de 5000 à 6000 nM (Favennec, 2015). Cela montre que la concentration plasmatique moyenne de Trp de notre population est dans les normes, avec une différence significative ($p=0,0001$) selon sexe. La concentration moyenne de Trp des hommes est plus élevée que celle des femmes. Des études précédentes retrouvent des résultats similaires aux nôtres (Niinisalo et al., 2008; Ulvik et al., 2020).

Ces études plaident aussi en faveur d'une concentration de Trp circulant chez les femmes diabétiques inférieure à celle des hommes (Niinisalo et al., 2008; Ulvik et al., 2020). Notamment chez les femmes ménopausées âgées de plus de 55 ans (Onesti et al., 2019). Une diminution dans la concentration du Trp circulant peut prédire la mortalité chez des individus atteints de pathologies cardiovasculaires (Murr et al., 2015).

De plus les femmes diabétiques perdent leur protection naturelle vis-à-vis des complications cardiovasculaires (Schramm et al., 2008).

On note aussi que l'activité de l'IDO1 est plus élevée chez les femmes diabétiques de notre étude. Cependant d'autres études ne rapportent pas de différences concernant l'activité de l'IDO1 selon le sexe (Niinisalo et al., 2008; Pertovaara et al., 2007). On suppose que nos résultats pourraient plaider en faveur d'une implication de l'activité de l'IDO1 dans la survenue de l'IDM chez les DT2 et particulièrement chez la femme.

Les patients diabétiques atteints d'IDM ont une concentration plasmatique moyenne de la Kyn significativement élevée ($p=0,007$) par rapport aux diabétiques sans antécédents d'IDM. Les sujets de sexe masculin présentent une concentration moyenne de la Kyn plus élevée que les femmes selon des études précédentes (Niinisalo et al., 2008; Pertovaara et al., 2007).

Les résultats de nos dosages montrent que l'activité de l'IDO1 exprimée par le rapport K/T est significativement plus élevée chez les diabétiques de type 2 avec IDM par rapport aux diabétiques de type 2 sans IDM.

On note qu'au cours du DT2, le rapport K/T qui reflète l'activité enzymatique de l'IDO1 est retrouvé associé à l'augmentation de la résistance à l'insuline qui est aussi lié au risque cardiovasculaire (Yu et al., 2018), ce rapport est plus élevé chez les patients atteints de maladies coronariennes (Ozkan et al., 2014; Swardfager et al., 2009) et d'angine de la poitrine (Pedersen et al., 2011), cela suggère que le rapport K/T est un prédicteur d'évènements coronariens y compris à l'IDM (Eussen et al., 2015; Sulo et al., 2013).

Nos résultats montrent que l'activité de l'IDO1, exprimée par le ratio K/T ($\times 100$), est corrélée de façon significative à l'ancienneté dans le DT2.

Dans, de nombreuses études une expression nettement plus élevée de l'activité de l'IDO1 a été observée chez les diabétiques de type 2 par rapport aux témoins sains, plus particulièrement chez les patients diabétiques avec rétinopathie (Hussain, 2017; Munipally et al., 2011).

Les résultats de notre étude sont en faveur d'un rôle potentiel de la voie des kynurénines dans la survenue de l'IDM chez les DT2 enquêtés.

L'étude analytique par régressions multiples effectuées sur les données de la population totale ainsi que celles des sujets de deux groupes (diabétiques de type 2 atteints de l'IDM et diabétiques de type 2 non atteints de l'IDM) séparément a montré que de la concentration plasmatique du Trp et celle de la Kyn représentent les principaux facteurs liés à la variable réponse, à savoir l'activité de l'IDO1 exprimée par le rapport K/T ($\times 100$) chez les patients de deux groupes, alors que le rapport K/T ($\times 100$) est associé à la la glycémie et au cholestérol total chez les patients diabétiques de type 2 atteints d'IDM.

Cela peut expliquer une éventuelle interaction entre la concentration plasmatique du Trp, celle de la Kyn, la glycémie et le cholestérol total qui affecte l'activité enzymatique de l'IDO1 chez les sujets diabétiques de type 2 atteints d'IDM.

Les résultats de Wang et ces collaborateurs rapportent une association positive entre la concentration plasmatique de Trp et l'incidence du DT2 (Wang et al., 2011), cependant elle est inversement associée au risque des pathologies cardiovasculaires (Yu et al., 2017).

Dans un modèle statistique ajusté sur glycémie, la concentration de Trp est positivement associée au DT2, peut être en raison de l'effet de la glycémie sur l'activité de l'IDO1 (Murr et al., 2015).

Par contre, Niinisalo et al ont montré que le rapport K/T est négativement corrélé au cholestérol total chez les hommes diabétiques avec maladie cardiovasculaire (Niinisalo et al., 2008).

Evaluer par le bilan lipidique la moyenne des triglycérides chez les patients diabétiques atteints de d'IDM est significativement ($p=0,034$) plus élevée que celle des patients diabétiques sans IDM. Dans d'autres populations les moyennes des triglycérides

étaient plus élevées chez les hommes que les femmes (Niinisalo et al., 2008; Pertovaara et al., 2007).

5. Conclusion

Nos résultats montrent que l'activité de l'IDO1, exprimée par le ratio K/T ($\times 100$) est corrélée de façon significative à l'ancienneté dans le DT2.

L'étude analytique par régressions multiples montre que de la concentration plasmatique du Trp et celle de la Kyn représentent les principaux facteurs liés à l'activité de l'IDO1 exprimée par le rapport K/T ($\times 100$) chez les tous patients diabétiques de type 2 de notre étude. Alors que le rapport K/T ($\times 100$) est associé à la la glycémie et au cholestérol total chez les patients diabétiques de type 2 atteints d'IDM.

Chapitre 8

Approche génétique pour l'identification de polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1 prédisposant au risque cardiovasculaire chez des diabétiques de type 2 de l'extrême ouest Algérien

Chapitre 8: Approche génétique pour l'identification de polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1 prédisposant au risque cardiovasculaire chez des diabétiques de type 2 de l'extrême ouest Algérien

1. Introduction

L'une des complications du DT2 est la survenue des pathologies cardiovasculaires (Largay, 2012). Plusieurs études antérieures ont démontré que les métabolites résultant de la voie des Kynurénines sont associés au DT2 (Ahmadou and JOHA, 2015; Koopmans et al., 2009) et aux pathologies cardiovasculaires (Eussen et al., 2015; Ozkan et al., 2014).

L'IDO1 est l'enzyme clé de la voie de Kynurénines, l'activité de cette enzyme exprimée par le ratio K/T est corrélée au risque du DT2 ainsi qu'aux risques des MCV (Balkau, 1996; Swardfager et al., 2009).

L'enzyme IDO1 c'est une protéine de 45 KDa, elle comporte 403 acides aminés. Le gène qui est codé est situé sur le bras court du chromosome 2 (région 8p11.21) (Mándi and Vécsei, 2012).

Les altérations génétiques qui affectent le gène de l'IDO1 ont été trouvées associées principalement à certaines pathologies (Boros et al., 2018).

Parmi les variants génétiques du gène IDO1 est le *single nucleotide polymorphism* (SNP) C4325T de l'exon 3 (rs35099072), c'est une mutation faux sens où l'acide aminé Arginine en position 77 est changé par de l'Histidine (Arefayene et al., 2009).

Cette modification structurale touche l'activité enzymatique de l'IDO1 (Boros et al., 2018), et donc les concentrations de Trp et celle de la Kyn.

Très rares ou inexistantes sont les études qui ont explorées ce polymorphisme dans le DT2 et dans les MCV

Dans une étude antérieure, Nous avons étudié l'activité enzymatique de l'IDO1 chez des patients diabétiques de type 2 associant une cardiopathie, ici l'association de polymorphisme rs35099072 de l'IDO1 a été analysé chez cette population.

2. Matériel et Méthodes

Nous avons inclus 48 sujets diabétiques de type 2 associant des cardiopathies (IDM et d'autres maladies coronariennes: AVC, embolies pulmonaires) et 48 témoins dans notre étude cas témoins. Les sujets de cette étude ont été recrutés au niveau du Centre Hospitalo Universitaire de Tlemcen dans la période allant d'Octobre 2017 à Octobre 2018. Après avoir un consentement éclairé et l'approbation du comité d'éthique, un questionnaire comprenait l'âge du patient, le sexe, l'IMC, le niveau d'instruction, la profession, le degré de consanguinité, la consommation actuelle de tabac, l'ancienneté dans le DT2 et dans les MCV, et enfin les antécédents familiaux connus de DT2 et de pathologies cardiovasculaires a été administré à tous les participants. Les mesures physiques (poids et taille ont été pris au départ à l'aide d'un salinomètre et une balance stable.

Les patients ont été diagnostiqués en temps que diabétiques de type 2 conformément aux critères de classification et de diagnostic de l'Association Américaine du Diabète (ADA, 2018).

Le diagnostic des MCV a été effectuée selon la classification de l'Association Américaine de Cardiologie (Austen et al., 1975).

Cinq mL de sang ont été prélevés sur des tubes héparinés après un jeûne de 12 heures au minimum et réservés pour les analyses biochimiques. La glycémie, le cholestérol total, le HDL-C, le LDL-C, les triglycérides, l'urée et la créatinine ont été dosés en utilisant les procédures enzymatiques standards (recommandations SFBC ou IFCC) sur un automate Beckman CX7® (Beckman-Coulter®, NY, États-Unis).

2.1. Génotypage

L'ADN génomique a été extrait à partir de 5 mL de sang total prélevé sur des tubes EDTA en utilisant la technique de NaCl (*salting out*) (Miller et al., 1988). Le polymorphisme rs35099072 de l'IDO1 localisé dans le site de restriction de l'enzyme *Hae II* (Takara Bio Europe S.A.S. SD2869) a été recherché par la technique PCR-RFLP. L'amplification a été réalisée dans une concentration de MgCl₂ égale à 2 mM commence par une dénaturation initiale à 95° C pendant 3 min suivie par 30 cycle de: dénaturation à 95° C pendant 30 sec, hybridation à 51° C durant 30 sec et élongation à 72° pendant 30 sec, et finalement une élongation finale à 72° C qui dure 5 min. la séquence des amorces utilisée est: l'amorce sens (5' AGAGTAGTCAGGAGGATT 3') alors que l'amorce anti-sens (5' TGCATGATGCAGTTATAATGC 3'). La conception des séquences des amorces utilisées a été basée sur une étude précédente (Tardito et al., 2013).

2.2. Analyses statistiques

Les données ont été analysées sur le logiciel SPSS pour Windows (version 23.0).

Les moyennes et les écarts type des variables quantitatives dans les deux groupes ont été calculés et comparés par le test *t* de *student*. Les pourcentages des paramètres qualitatifs ont été calculés et comparés entre les deux groupes par le test Khi-deux.

Une valeur de *p*-value inférieur à 0,05 a été considérée significative.

3. Résultats

L'âge de notre population varie entre 39 et 90 ans. Les sujets diabétiques avec maladies coronariennes (AVC et embolies pulmonaires) sont majoritaires (58,33%) que les sujets diabétiques atteints de l'IDM (41,66%). L'âge moyen de la révélation du DT2 est de 51,65±10,91 ans, et celui de la révélation des MCV est de 60,81±9,15 ans.

L'essentiel des caractéristiques anthropométriques et cliniques de la population étudiée sont présentées dans le tableau 25. Dans notre population, le pourcentage des sujets de sexe masculin est de 76,5% et celui des patientes est de 23,5%, par contre chez les témoins 88,2% sont des femmes et 11,8% sont des hommes, cette différence est statistiquement significative ($p=0,0001$). La moyenne de l'IMC est significativement ($p=0,033$) élevée chez les patients diabétiques avec cardiopathie ($27,71\pm 3,52$ kg/m²) que les témoins ($24,58\pm 4,58$ kg/m²). Le groupe des patients comporte un pourcentage très élevé de fumeurs (52,9%) par rapport aux témoins (11,8%) avec *p*-value égale à 0,010.

Pour les autres paramètres: l'âge, la consanguinité, les antécédents familiaux du diabète, l'alcool, la PAS et la PAD, aucune différence significative n'a été observée ($p>0,05$).

Tableau 25: Données anthropométriques et cliniques de la population étudiée.

Paramètres	Patients (n=48)	Témoins (n=48)	p-value
Age (ans)	62,30±12,80	58,00±9,94	0,283
Sexe (%)			
Hommes	76,5	11,8	0,0001
Femmes	23,5	88,2	
IMC (Kg/m ²)	27,71±3,52	24,58±4,58	0,033
Consanguinité (%)	35,3	35,3	1,000
Antécédents Familiaux (%)	52,9	47,1	0,732
Tabagisme (%)	52,9	11,8	0,010
Alcool (%)	17,6	0	0,070
PAS (mmHg)	126,47±14,97	120,00±14,58	0,211
PAD (mmHg)	77,65± 8,31	74,11±13,71	0,371

mmHg: millimètre de mercure.

Les caractéristiques biochimiques sont données dans le tableau 26. Les sujets diabétiques ont une moyenne de glycémie (2,23±1,07 g/L) significativement plus élevée ($p=0,001$) que les témoins (1,18±0,56 g/L). De même, on remarque une augmentation de façon significative ($p=0,017$) de la moyenne de l'urée chez les patients (0,56±0,32 g/L) comparativement aux témoins (0,33±0,21 g/L).

Les moyennes des lipides sanguins (triglycéride, cholestérol total, HDL-C et LDL-C) et de la créatinine chez sujets atteints est celles chez les sujets sains sont pratiquement égales ($p>0,05$).

Tableau 26: Caractéristiques biochimiques de la population étudiée.

Paramètres	Patients (n=48)	Témoins (n=48)	p-value
Triglycéride (g/L)	1,32±0,65	1,14±0,48	0,372
Glycémie (g/L)	2,23±1,07	1,18±0,56	0,001
Cholestérol total (g/L)	1,91±0,40	1,67±0,41	0,093
HDL-C (g/L)	0,36±0,073	0,40±0,10	0,256
LDL-C (g/L)	1,17±0,38	1,18±0,35	0,967
Urée (g/L)	0,56±0,32g/l	0,33±0,21	0,017
Créatinine (mg/L)	11,37±3,41	10,29±7,54	0,593

g/L: gramme/litre, **mg/L:** milligramme.

3.1. Le polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1

3.1.1. Résultats de la PCR

Après optimisation, le contrôle de la PCR a révélé une qualité relativement bonne ainsi qu'une spécificité d'amplification pour le polymorphisme étudié au niveau de puit contenant le produit de la PCR avec une concentration de MgCl₂ égale à 2 mM (Figure 13). L'ADN d'un témoin a été utilisé.

La figure 13 montre le profil électrophorétique du produit de la PCR après optimisation.

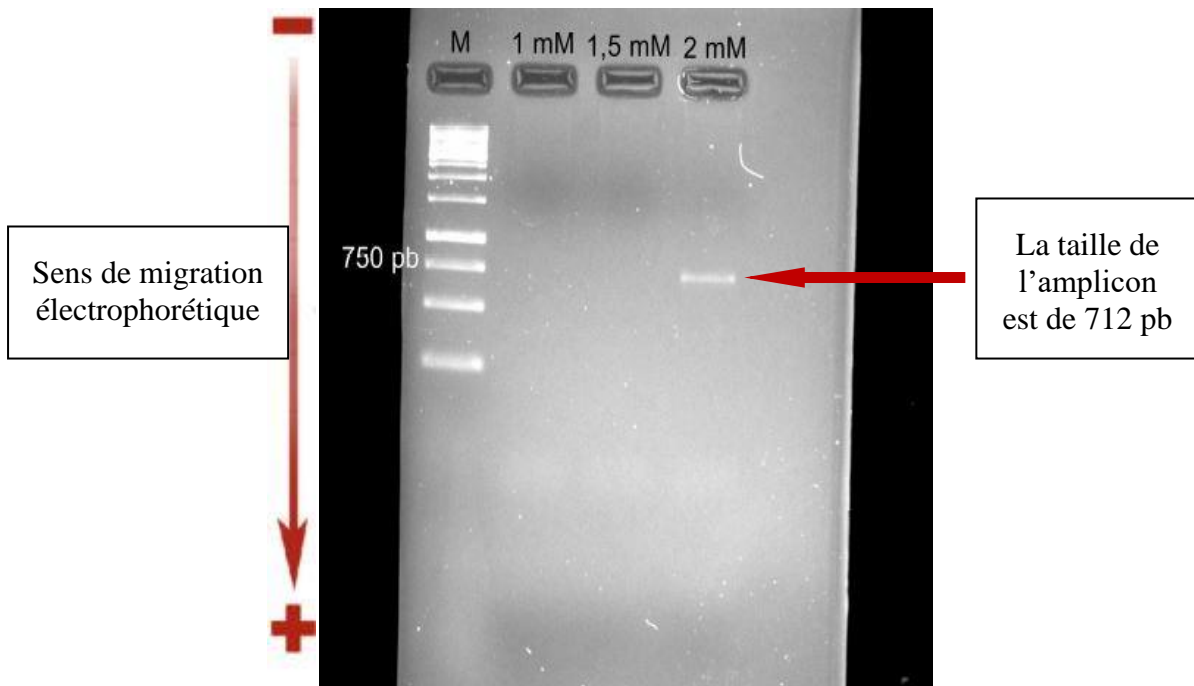


Figure 13: Profil de migration électrophorétique des produits de PCR.

M: marqueur de taille.

1 mM: [MgCl₂]=1 mM.

1,5 mM: [MgCl₂]=1,5 mM.

2 mM: [MgCl₂]=2 mM.

3.1.2. Digestion enzymatique

Après la digestion enzymatique un seul profil de migration sur gel d'agarose 2% a été obtenu (Figure 14). C'est le profil homozygote sauvage CC avec deux bandes de 176 et 536 pb.

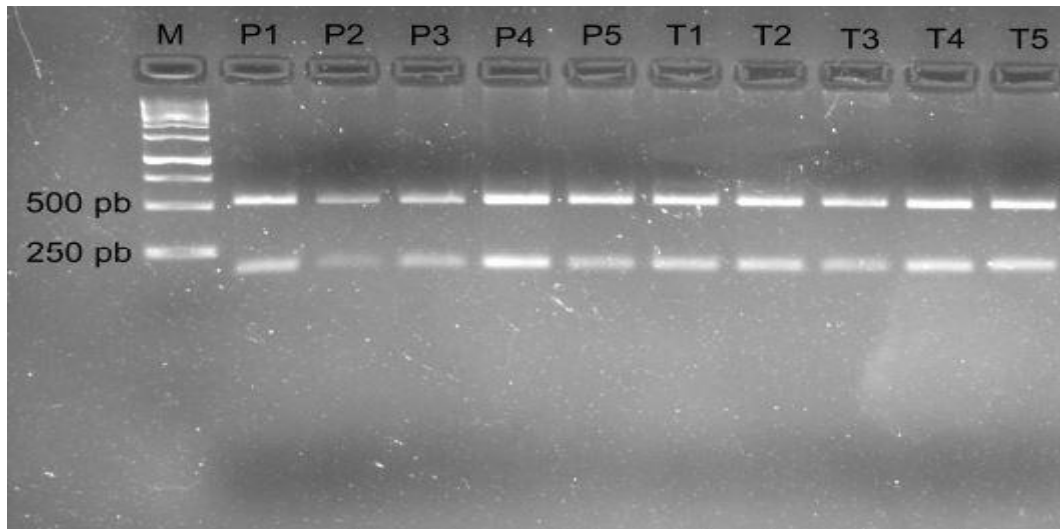


Figure 14: Profil de migration électrophorétique sur gel d'agarose 2% après digestion enzymatique par *Hae II*.

M: marqueur de taille.

P: patients.

T: témoins.

3.2. Fréquences alléliques et génotypiques

Les fréquences alléliques et la distribution génotypique sont données dans le tableau 27.

Deux allèles caractérisent le polymorphisme rs35099072 de l'IDO1: l'allèle sauvage C (présence de site de restriction) de fréquences de 100% chez les patients diabétiques avec cardiopathie ainsi que chez les témoins, et l'allèle muté (absence de site de restriction) totalement absent (0%) chez la population étudiée.

Un seul génotype CC avec une fréquence de 100% chez les patients et chez les témoins. Cependant, une absence totale avec 0% des fréquences des deux autres génotypes (CT et TT) chez les patients comme chez les témoins.

Tableau 27: Distribution génotypique et fréquences alléliques du polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1.

	Fréquences génotypiques			Fréquences alléliques	
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	C	T
Patients (n=48)	100	0	0	1	0
Témoins (n=48)	100	0	0	1	0

4. Discussion

Des facteurs de risque environnementaux et génétique interviennent dans la pathogénèse de DT2 ainsi que celle des MCV, ce qui rentre ces deux pathologies dans le groupe des maladies multifactorielles.

Parmi ces facteurs on retrouve le métabolisme de Trp, il a été bien établi l'association entre un groupe de dérivés de Trp et quelques enzymes intervenant dans ce métabolisme d'une part et le DT2 et les maladies cardiovasculaires d'autre part (Song et al., 2017).

Dans notre population, le rapport K/T est associé à l'ancienneté dans le DT2, à la glycémie et au cholestérol total.

Pour confirmer ou infirmer cette association, nous avons étudié le polymorphisme rs35099072 de l'IDO1.

Le choix de ce polymorphisme est basé sur son potentiel de réduction des propriétés fonctionnelle de l'enzyme IDO1 (Arefayene et al., 2009).

D'autres variants de ce gène ont été étudié au cours d'une autre forme de diabète (diabète de type 1) (Orabona et al., 2018) et dans une classe des pathologie cardiovasculaires (AVC) (Wigner et al., 2019).

Quant au DT2 et maladies cardiovasculaires, notre contribution se veut de rapporter des données non encore enregistrées sur ce polymorphisme.

Nos résultats montrent une absence totale de l'allèle muté T aussi bien chez les patients diabétiques avec cardiopathies (0%) que chez les témoins (0%), et donc une dominance totale de l'allèle sauvage C dans notre population.

Les études précédentes de polymorphisme rs35099072 de l'IDO1 mais sur d'autres pathologies avaient montré également la rareté de cet allèle. Dans une étude réalisée sur 277 patients brésiliens atteints de l'hépatite C, la fréquence de l'allèle muté T chez les patients traités par de l'INF- α plus la ribavirine est de 0%, alors que celle chez les patients non traités par de l'INF- α plus la ribavirine est de 0,5% (Galvão-de Almeida et al., 2011).

De plus, le polymorphisme rs35099072 de l'IDO1 n'était pas détecté chez une population Italienne composée de 31 sujets atteints de la sclérose en plaque et 37 témoins (Tardito et al., 2013).

Sur 734 patients américains atteints de la maladie de Crohn et 354 témoins, la fréquence de l'allèle muté T est 0,14% et 0% chez les patients et chez les témoins respectivement (Lee et al., 2014).

L'absence totale de l'allèle muté T dans notre population nous a permis d'infirmer l'association probable entre ce polymorphisme et la survenue du DT2 ainsi que les MCV.

Dans l'étude de Galvao de Almeida et ses collaborateurs, le polymorphisme rs35099072 de l'IDO1 n'est pas associé ($p=1,000$) au traitement par de l'INF- α plus la ribavirine chez les patients atteints d'hépatite C (Galvão-de Almeida et al., 2011).

Similaires à nos résultats et à cause de l'absence de polymorphisme rs35099072 de l'IDO1 chez la population Italienne, aucune association n'a été observée entre ce polymorphisme et la sclérose en plaque (Tardito et al., 2013).

Cependant, Lee et al ont montré l'association de ce polymorphisme à la diminution de l'activité enzymatique de l'IDO1 chez les patients atteints de maladie de Crohn (Lee et al., 2014).

La particularité commune entre le DT2 et de pathologies cardiovasculaires d'une part et l'hépatite C, la sclérose en plaque et la maladie de Crohn est l'existence d'un processus inflammatoire.

Le manque de l'allèle muté T chez notre population nous a empêché de calculer l'odds ratio et donc d'estimer le risque de la survenue du DT2 et des pathologies cardiovasculaires chez les individus porteurs de cet allèle.

5. Conclusion

Notre étude montre que le polymorphisme rs35099072 du gène de l'IDO1 n'est pas associé au DT2 et aux MCV. L'allèle T est totalement absent aussi bien chez les patients que chez les témoins dans la population de l'ouest Algérien. Pour confirmer nos résultats, d'autres études à grande échelle sont nécessaires.

Discussion générale et Conclusion

1. Discussion générale

Médiatisé à l'extrême depuis près de quatre décennies, le diabète rassemble sous une même appellation une constellation d'anomalies clinicobiologiques, mineures lorsqu'elles sont considérées individuellement, mais significatives en termes de risque cardiovasculaire lorsqu'elles sont associées.

Le devoir du biologiste est de s'investir dans l'élaboration de modèles de médecine prédictive. Par chance cela est particulièrement possible. Son action se déploie, notamment, grâce à l'acquisition massive de données biologiques, comportementales et sociologiques, permettant d'établir des prédictions sur la base d'informations génétiques et environnementales.

Mais pour ce faire nous devons désormais, disposer d'informations populationnelles, afin que nous puissions proposer des modèles de prédictions qui nous donneront la possibilité d'identifier les prédispositions au diabète avant l'apparition des signes cliniques et de considérer le risque cardiovasculaires ou autres lorsqu'ils sont associés.

Le diabète entraîne des complications graves à long terme, pouvant survenir après plusieurs années de déséquilibre glycémique. La maladie prédispose en effet à l'athérosclérose, à l'origine d'IDM, d'AVC et au cancer. Il peut aussi participer à une neurodégénérescence.

Il existe une importante variabilité clinique, biologique et génétique des individus et de leur forme de diabète.

Les études génétiques démontrent qu'il est extrêmement rare que le DT2 soit dû à la mutation d'un seul gène.

Développer un modèle de prédiction simple de diagnostic du DT2 basé sur les différents aspects biologiques permet d'améliorer les performances de prédictions et de diagnostic du diabète dans nos populations de l'extrême ouest Algérien.

Dans le débat en cours, autour du DT2 dans l'extrême ouest algérien, le défi est d'identifier les facteurs susceptibles d'être impliqués dans le diagnostic est le pronostic, du DT2 cela par le biais, d'analyses multivariées.

L'objectif principal de cette modeste recherche est d'explorer et d'exploiter cette variabilité. Les variables intégrées dans les modèles sont à l'issue d'un raisonnement biologique clinique, épidémiologique et génétique incluant les particularités culturelles, historique et géographique ainsi que les facteurs qui font l'originalité de nos populations de l'ouest Algérien.

Les différents chapitres sont consacrés à l'étude des dérèglements biologiques aboutissant au DT2. La population testée est un échantillon représentatif, non biaisé, quantitativement suffisant.

Au regard des résultats obtenus, nous avons pu révéler le profil hématologique, génétique et métabolique des diabétiques de type 2 de l'ouest Algérien associant ou non des cardiopathies.

Trois pathologies ont été retrouvées associées au DT2 dans notre population, les MCV (l'IDM, les embolies pulmonaires et les AVC) occupent la première place avec une fréquence de 19,45%, suivi l'HTA et les cancers (du sein, d'estomac, de colon et celui de poumon) avec des fréquences de 15,52%, 13,42% respectivement.

La disparité géographique montre que la région de Maghnia regroupe le pourcentage le plus élevé des sujets diabétiques de type 2 (39,13%), par contre les patients issus de la région de Sebdo ne représentent que 4,87% de la population étudiée. Pour cela l'étude de la régression logistique indique que la région de Maghnia est la zone la plus exposée au DT2 contrairement aux deux autres régions (Sidi Djilali, Ghazaouet et Sebdo).

La moyenne d'âge des patients diabétiques de notre population d'étude est de $60,59 \pm 12,47$, avec une dominance féminine (65,50%), le modèle logistique montre aussi un risque élevé du DT2 chez le sexe féminin plutôt que le sexe masculin.

L'histoire familiale du diabète et des MCV nous a permis d'expliquer l'implication du facteur hérédité du diabète chez la population étudiée.

La fréquence des antécédents familiaux du diabète dans notre population est de 43,18%, alors que celle des antécédents familiaux des MCV est 24,95%, les résultats de la régression logistique indiquent également que le risque d'exposition au DT2 est plus élevé chez les sujets qui ont des antécédents familiaux du diabète et des pathologies cardiovasculaires.

Pour le niveau d'instruction, les sujets analphabètes représentent pratiquement la moitié (52,63%) de notre population diabétique, ces sujets présentent un risque accru de développement du DT2, par contre, ceux qui ont un niveau secondaire et plus sont moins exposés au DT2.

Concernant le statut marital, la grande majorité de notre population diabétique sont des mariés, nos résultats montrent que les mariés et les veufs sont plus exposés au DT2.

Concernant l'évaluation des principaux facteurs de risque hématologiques associés au DT2, nos résultats ont montré une association statistiquement significative entre le DT2 d'une part et la glycémie, l'âge, les basophiles, le VGM, la CCMH, les plaquettes et la vitesse de sédimentation d'autre part.

Le risque d'exposition au DT2 chez les sujets qui présentent une hyperglycémie était de 226,37 fois plus élevée par rapport aux sujets avec un taux de glycémie normal, les sujets de la tranche d'âge [50-61 ans] étaient deux fois plus exposés au DT2 que les sujets âgés au-dessous de 50 ans, le risque d'exposition au DT2 chez les sujets âgés de plus de 61 ans était le double par rapport aux sujets de la tranche d'âge [50-61 ans].

L'étude a montré également que des niveaux élevés de basophiles, CCMH et vitesse de sédimentation augmentent le risque de la survenue du DT2 de l'ordre de deux fois, six fois et demi et huit fois respectivement, cependant un faible taux de plaquettes augmente cinq fois le risque d'exposition au DT2.

Les indices hématologiques permettent d'évaluer les variations dans la taille, le nombre et la maturité des différentes composantes sanguines, les anomalies dans les indices hématologiques comportant les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes ont été observées au cours du DT2 (Gkrania-Klotsas et al., 2010; Kakouros et al., 2011).

Nous nous sommes proposés dans ce même ordre d'idée de déterminer le profil lipidique spécifique, caractérisé par une augmentation dans les concentrations des triglycérides, du cholestérol total et du LDL-C.

Nous avons aussi vérifié si le non HDL-C peut contribuer au développement du DT2, cette étude a montré que les sujets avec des niveaux très élevés de non HDL-C (non HDL-C > 1,90 g/L) étaient deux fois plus exposés au DT2 que les sujets qui avaient des niveaux de non HDL-C entre 1,60 g/L et 1,90 g/L.

Par contre les sujets qui avaient présenté des niveaux de non HDL-C proche de l'idéal ($1,30 \text{ g/L} < \text{non HDL-C} \leq 1,60 \text{ g/L}$) étaient moins exposés au DT2, cela montre qu'une élévation dans le taux du non HDL-C était un facteur de risque du DT2 dans notre population.

Le non HDL-C augmente d'une manière très significative chez les patients diabétiques de type 2 (Contreras et al., 2010; Zabeen et al., 2012)

On note également lors de cette exploration que, la consanguinité augmente le risque du DT2 de l'ordre de 1,71.

Concernant l'âge, les sujets de la tranche d'âge [60-70 ans] avaient un risque multiplié par deux de développer le DT2 que les sujets âgés de moins de 60 ans, de même les sujets âgés de 71 ans et plus avaient un risque d'exposition au DT2 deux fois plus élevé par rapport à la tranche d'âge [60-70 ans].

Dans cet ordre d'idée, nous avons évalué l'impact du non HDL-C dans la survenue des MCV chez la population diabétique de type 2.

Nous avons pu montrer qu'un niveau de non HDL-C proche de l'idéal ($1,30 \text{ g/L} < \text{non HDL-C} \leq 1,60 \text{ g/L}$) diminue le risque des MCV et du DT2, cependant un taux élevé de non-HDL-C ($1,60 \text{ g/L} < \text{non HDL-C} \leq 1,90 \text{ g/L}$) augmente cinq fois ce risque.

La plupart des études précédentes ont mis en évidence le rôle du non HDL-C comme prédicteur majeur de risque cardiovasculaire chez les populations diabétiques (Eliasson et al., 2013; Pischon et al., 2005; Zeng et al., 2014).

Les résultats de cette étude fournissent également des données concernant le tabagisme. Ce dernier est un facteur de risque principal des MCV ou les diabétiques fumeurs avaient présenté un risque multiplié par 19, 27 de développer une cardiopathie.

On note aussi que la consanguinité reste un facteur de risque des MCV essentiel dans notre population, les sujets qui avaient un ou des parents apparentés avaient un risque d'exposition aux MCV et au DT2 trois fois et demi plus élevé par rapport aux sujets issus des mariages non consanguins.

Les patients des deux tranches d'âge [60-70 ans] et ≥ 71 ans] sont pratiquement deux fois plus exposés aux MCV et au DT2 comparativement aux patients des deux tranches d'âge ≤ 60 ans] et [60-70 ans] respectivement.

Concernant l'évaluation du risque cardiovasculaire absolu dans la population diabétique de l'extrême ouest Algérien, les résultats obtenus peuvent être considérés comme le point de départ d'une enquête épidémiologique prospective cardiovasculaire.

Nous avons pour cet effet étudié l'intérêt du dosage de l'insuline et les fractions lipidiques dans le risque de l'HTA chez les diabétiques de type 2. Il ressort que 53% de notre population avaient présenté une insulino-pénie, alors que 30% étaient insulino-résistants et 17% étaient hyperinsulinismes. Notre étude analytique a montré que le niveau d'insuline chez notre population était lié au HOMA-IR, IMC et au tour de taille.

Similaire à notre résultat, la position de l'HOMA-IR et l'obésité comme révélateurs de l'insulino-résistance est bien connue (Abdeselem et al., 2018; Wang et al., 2017).

L'étude analytique a été effectuée en fonction des niveaux de sécrétion de l'insuline c'est-à-dire dans les trois groupes, le niveau d'insuline chez patients avec une insulino-pénie était lié au non HDL-C et au LDL-C, chez les insulino-résistants le taux d'insuline était lié à la PAS, PAD et au HOMA-IR, dans le troisième groupe (hyperinsulinisme) on note une très forte liaison entre le niveau de sécrétion de l'insuline et l'âge, le non HDL-C et le LDL-C.

L'insuline par son action sur métabolisme des lipides (Vergès, 2001) augmente le non HDL-C (Slama and Picard, 2003) et particulièrement la fraction du LDL-C (Magis et al., 2002).

Les niveaux élevés de l'insuline peuvent contribuer au développement d'une HTA (Chiasson et al., 2003; Suematsu et al., 1999).

Aucune donnée épidémiologique exhaustive n'existe concernant les patients diabétiques à risques de cancers (sein, colon, estomac et poumon), ni sur l'estimation de l'effet des traitements du diabète sur le risque du cancer.

Il ressort de notre étude que le surpoids et l'HTA augmente le risque de la survenue des cancers (sein, colon, estomac et poumon) de l'ordre de cinq et quatre fois respectivement. Cependant nous avons révélé des effets opposés des antidiabétiques oraux et de l'insuline sur la survenue du cancer chez les diabétiques de type 2, le premier traitement est retenu en tant que facteur de risque alors que le deuxième traitement exerce un effet protecteur, cela reste complètement différent à la bibliographie documentée.

L'âge, l'utilisation des antihypotenseurs pour une durée assez longue et les perturbations hormonales chez la femme sont en cause de l'association du cancer à l'HTA (Battistoni et al., 2019; Largent et al., 2006; Li et al., 2003).

Le risque de cancer associé aux traitements antidiabétiques peut être expliqué par les niveaux et la signalisation de l'insuline (Escribano et al., 2017; Giovannucci et al., 2010).

Nous avons eu la chance de décrypter l'équilibre complexe qui existe entre le métabolisme du Trp et le risque de survenue du DT2 ainsi que des pathologies cardiovasculaires associées grâce à une collaboration avec une équipe de l'Unité Fonctionnelle de Toxicologie de CHU de Lille.

Cette collaboration révèle que la concentration plasmatique moyenne du Trp de notre population est dans les normes. La concentration moyenne de Trp chez les hommes est significativement plus élevée que celle des femmes.

La voie des Kynurénines est considérée maintenant comme un acteur majeur de la physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques. Le DT2 est aussi associé à une activation chronique de l'immunité innée qui installe une inflammation chronique à bas bruit au niveau des îlots pancréatiques.

Les cellules bêta pancréatiques représentent un nouveau tissu au sein duquel la voie des kynurénines pourrait agir.

Dans la première partie, nous avons évalué le taux de l'expression de l'enzyme IDO1 chez les diabétiques de type 2 avec risque D'IDM.

On note que l'activité de l'IDO1 est plus élevée chez les femmes diabétiques. On suppose que nos résultats pourraient plaider en faveur d'une implication de l'activité de l'IDO1 dans la survenue de l'IDM chez les DT2 et particulièrement chez la femme.

Les patients diabétiques atteints d'IDM ont une concentration plasmatique moyenne de la Kyn significativement élevée par rapport aux diabétiques non atteints de l'IDM.

Nos résultats montrent que l'activité de l'IDO1 est corrélée de façon significative à l'ancienneté dans le DT2, l'IDO1 est surexprimé au cours du diabète et de ces complications (Hussain, 2017; Muniyally et al., 2011).

L'étude analytique par régressions multiples effectuées sur l'ensemble des diabétiques de type 2 atteints d'IDM et non atteint a montré que de la concentration plasmatique du Trp

et celle de la Kyn représentent les principaux facteurs liés à l'activité de l'IDO1 exprimée par le rapport K/T ($\times 100$) chez les patients de deux groupes. Cependant l'activité de l'IDO1 chez les patients diabétiques de type 2 atteints d'IDM est liée à la glycémie et au cholestérol total.

Cela peut expliquer une éventuelle interaction entre la concentration plasmatique du Trp, celle de la Kyn, de la glycémie et le cholestérol total qui augmente l'activité enzymatique de l'IDO1 chez les sujets diabétiques de type 2 atteints d'IDM.

Le Trp circulant s'associe positivement avec le DT2 (Wang et al., 2011) et négativement avec les pathologies cardiovasculaires (Yu et al., 2017). Cependant, le taux circulant des Kyn circulante est associé de façon négative avec le DT2 (Ho et al., 2016) et d'une manière positive avec l'évènement coronarien (Lund et al., 2020).

Il est important de noter que la glycémie peut affecter l'activité de l'IDO1 (Murr et al., 2015), comme le cholestérol est inversement lié à l'activité de cette enzyme (Niinisalo et al., 2008).

Nous avons aussi évalué les facteurs classiques de risque de survenue de l'IDM chez les diabétiques de type 2.

Le bilan lipidique montre que la moyenne des triglycérides chez les patients diabétiques atteints d'IDM est significativement plus élevée chez ces patients. Ce résultat est similaire à celui retrouvé dans l'étude de Pertovaara et al (Pertovaara et al., 2007).

Nous avons étudié l'activité enzymatique de l'IDO1 chez des patients diabétiques de type 2 associant une cardiopathie, ici l'association de SNP rs35099072 a été analysé chez cette population dans le laboratoire de génétique humaine de la faculté de médecine de Tunis El Manar.

Enfin, le polymorphisme rs35099072 peut altérer l'activité enzymatique de l'IDO1 nous avons analysé et testé l'association génétique de ce polymorphisme dans une population diabétique de type 2 avec pathologies cardiovasculaires de l'extrême ouest Algérien.

L'allèle muté T est complètement absent, tandis qu'une dominance totale de l'allèle sauvage C chez la population génotypée pour ce SNP.

Nos résultats montrent une absence totale de l'allèle muté T aussi bien chez les patients diabétiques avec cardiopathies (0%) que chez les témoins (0%), et donc une dominance totale de l'allèle sauvage C dans notre population.

La bibliographie montre que ce polymorphisme est très rare (Galvão-de Almeida et al., 2011; Lee et al., 2014) ou inexistant (Tardito et al., 2013).

L'absence totale de l'allèle muté T dans notre population nous a permis d'infirmer l'association probable entre ce polymorphisme et la survenue du DT2 ainsi que les MCV.

2. Conclusion et perspectives

Les complications du DT2 ne cessent de se développer parallèlement avec la progression de la pathologie.

L'enquête menée durant le travail de thèse au niveau des cinq régions de la Wilaya de Tlemcen (Ghazaouet, Maghnia, Tlemcen, Sebdou et Sidi Djilali) nous a permis de confirmer ou d'infirmer l'association de certains facteurs de risque classiques et d'autres biomarqueurs chez des sujets diabétiques de type 2 avec ou sans pathologies cardiovasculaires de l'ouest Algérien.

Des facteurs démographiques, anthropométriques, socioculturelles ainsi que l'histoire familiale du diabète et celle des pathologies cardiovasculaires peuvent être impliqués dans l'apparition du DT2.

Le profil hématologique des diabétiques de type 2 donne une association des basophiles, de VGM, de CCMH, des plaquettes et de la vitesse de sédimentation à une heure.

Sur le plan métabolique, Le non HDL-C est facteur de risque puissant pour la survenue du DT2, comme il contribue aussi à l'association entre le DT2 et les pathologies cardiovasculaires.

L'augmentation de non HDL-C et en particulier la fraction LDL-C résulte de l'altération de la sécrétion de l'insuline, d'autre part, nous avons pu conclure que les diabétiques de type 2 qui associent une baisse significative de la sensibilité à l'insuline, sont à risque de développer l'HTA.

L'évaluation de l'impact du traitement antidiabétique sur le risque du cancer chez le sujet diabétique de type 2 suppose que le traitement à la metformine peut potentialiser la survenue du cancer.

Nous avons pu déterminer la concentration plasmatique de Trp et celle de la Kyn et par la suite nous évalué l'activité enzymatique de l'IDO1. L'activité de l'IDO1 est associée à la glycémie et au cholestérol total chez les patients diabétiques de type 2 atteints d'IDM.

La caractérisation génétique de l'IDO1 montre une absence totale de l'allèle muté T et donc le polymorphisme rs35099072 n'est pas associé au DT2 et aux MCV.

L'ensemble des résultats obtenus doivent être confirmé sur d'autres populations à large échelle.

Notre étude rapporte des résultats qui sert à mieux comprendre le profil hématologique, métabolique et génétique des diabétiques de type 2 avec ou sans pathologies cardiovasculaires de l'ouest Algérien.

Les modèles statistiques établis offrent une meilleure prédiction du DT2 et des MCV associées.

Nous devons par la suite explorer d'autres acteurs intervenant dans les variations hématologiques, dans le métabolisme lipidique ainsi que dans le métabolisme des acides aminés au regard du Trp.

Les dysbioses peuvent aussi faire l'objet d'investigation dans notre population. Les déséquilibres du microbiote intestinal pourraient constituer une bonne empreinte. Le screening du microbiote intestinal à l'interface de l'alimentation peut dégager de bons résultats.

Nous pourrions corrélérer l'activité du microbiote et notamment son implication dans la mise en place de la résistance à l'insuline pour établir un modèle de prédiction.

Vérifier aussi l'impact des traitements antidiabétiques actuels comme les antidiabétiques oraux et l'insuline sur l'équilibre de la flore intestinale.

C'est pourquoi, le ciblage direct du microbiote apparaît comme une nouvelle piste de recherche.

Il existe aussi un diabète moins bien documenté aussi bien sur le plan national qu'international, il s'agit du dépistage et du diagnostic du diabète gestationnel vu son retentissement maternel et fœtal. Il serait intéressant de faire une analyse des critères diagnostiques et pronostiques, à l'aide des nouvelles données populationnelles.

Références bibliographiques

Abdeselem, H., Sebai, I., Jemal, M., Ounaissa, K., Kandara, H., Kammoun, I., Amrouche, C., Ben Salem, L., 2018. Étude de la corrélation entre la sensibilité à l'insuline et les paramètres anthropométriques et métaboliques dans le diabète de type 2. *Ann. Cardiol.* 67, 167–173.

AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), 2008. Apport en protéines: consommation, qualité, besoins et recommandations.

Agardh, E.E., Ahlbom, A., Andersson, T., Efendic, S., Grill, V., Hallqvist, J., Östenson, C.G., 2007. Socio-economic position at three points in life in association with type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in middle-aged Swedish men and women. *Int. J. Epidemiol.* 36, 84–92.

Ahlqvist, E., Storm, P., Käräjämäki, A., Martinell, M., Dorkhan, M., Carlsson, A., Vikman, P., Prasad, R.B., Aly, D.M., Almgren, P., Wessman, Y., Shaat, N., Spégel, P., Mulder, H., Lindholm, E., Melander, O., Hansson, O., Malmqvist, U., Lernmark, Å., Lahti, K., Forsén, T., Tuomi, T., Rosengren, A.H., Groop, L., 2018. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 6, 361–369.

Ahmadou, M.A., JOHA, M.S., 2015. Kynurenine-modified serum proteins are a new marker of cardiovascular disorders developing in type 2 diabetes. *Int J Acad Sci Res* 3, 101–105.

Alameer, F.E.A., 2016. Synthesis of Mechanism Probes and Potential Inhibitors for Tryptophan 2, 3-dioxygenase and Indoleamine 2, 3-dioxygenase Enzymes (PhD Thesis). University of Leicester.

Allani, R., Saidi, O., Mrabet, A., Bennelhammami, K., Romdhane, H.B., 2012. Le diabète type 2: prévalence et facteurs de risque en Tunisie. *Rev. DÉpidémiologie Santé Publique* 60, S45.

ADA (American Diabetes Association), 2018. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes Care* 41, S13–S27.

ADA (American Diabetes Association), A.D., 2011. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 34, S62–S69.

ADA (American Diabetes Association)-Position Statement, 1997. Aspirin therapy in diabetes. *Diabetes Care* 20, 1772–1773.

Antwi, J., Lavin, R., Sullivan, S., Bellavia, M., 2020. Perception of and risk factors for type 2 diabetes among students attending an upstate New York college: a pilot study. *Diabetol. Metab. Syndr.* 12, 1–8.

Arefayene, M., Philips, S., Cao, D., Mamidipalli, S., Desta, Z., Flockhart, D.A., Wilkes, D.S., Skaar, T.C., 2009. Identification of genetic variants in the human indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO1) gene, which have altered enzyme activity. *Pharmacogenet. Genomics* 19, 464–476.

Atouf, F., Czernichow, P., Scharfmann, R., 1997. Expression of neuronal traits in pancreatic beta cells. Implication of neuron-restrictive silencing factor/repressor element silencing transcription factor, a neuron-restrictive silencer. *J. Biol. Chem.* 272, 1929–1934.

- Austen, W.G., Edwards, J.E., Frye, R.L., Gensini, G.G., Gott, V.L., Griffith, L.S., Murphy, M.L., Roe, B.B., 1975. A reporting system on patients evaluated for coronary artery disease. Report of the Ad Hoc Committee for Grading of Coronary Artery Disease, Council on Cardiovascular Surgery, American Heart Association. *Circulation* 51, 5–40.
- Austin, C.J.D., Mailu, B.M., Maghzal, G.J., Sanchez-Perez, A., Rahlfs, S., Zocher, K., Yuasa, H.J., Arthur, J.W., Becker, K., Stocker, R., Hunt, N.H., Ball, H.J., 2010. Biochemical characteristics and inhibitor selectivity of mouse indoleamine 2,3-dioxygenase-2. *Amino Acids* 39, 565–578.
- Babic, T., Browning, K.N., Kawaguchi, Y., Tang, X., Travagli, R.A., 2012. Pancreatic insulin and exocrine secretion are under the modulatory control of distinct subpopulations of vagal motoneurons in the rat. *J. Physiol.* 590, 3611–3622.
- Balkau, B., 1996. An epidemiologic survey from a network of French Health Examination Centres,(DESIR): epidemiologic data on the insulin resistance syndrome. *Rev. Epidemiol. Sante Publique* 44, 373.
- Ball, H.J., Sanchez-Perez, A., Weiser, S., Austin, C.J.D., Astelbauer, F., Miu, J., McQuillan, J.A., Stocker, R., Jermini, L.S., Hunt, N.H., 2007. Characterization of an indoleamine 2,3-dioxygenase-like protein found in humans and mice. *Gene* 396, 203–213.
- Bánhegyi, R.J., Rus-Gal, P.O., Nagy, A.K., Martyn, T., Wágner, R., Varga, R., Pikó, B., 2010. Antidiabetic therapy—a new possibility in the complex therapy of cancer? *Magy. Onkol.* 54, 315–323.
- Bao, B., Wang, Z., Li, Y., Kong, D., Ali, S., Banerjee, S., Ahmad, A., Sarkar, F.H., 2011. The complexities of obesity and diabetes with the development and progression of pancreatic cancer. *Biochim. Biophys. Acta BBA-Rev. Cancer* 1815, 135–146.
- Barkas, F., Liberopoulos, E.N., Kostapanos, M.S., Liamis, G., Tziallas, D., Elisaf, M., 2015. Lipid target achievement among patients with very high and high cardiovascular risk in a lipid clinic. *Angiology* 66, 346–353.
- Barth, M.C., Ahluwalia, N., Anderson, T.J.T., Hardy, G.J., Sinha, S., Alvarez-Cardona, J.A., Pruitt, I.E., Rhee, E.P., Colvin, R.A., Gerszten, R.E., 2009. Kynurenic acid triggers firm arrest of leukocytes to vascular endothelium under flow conditions. *J. Biol. Chem.* 284, 19189–19195.
- Battistoni, A., Tocci, G., Presta, V., Volpe, M., 2019. Antihypertensive drugs and the risks of cancer: More fakes than facts. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2047487319884823.
- Baumgartner, R., Forteza, M.J., Ketelhuth, D.F.J., 2019. The interplay between cytokines and the Kynurenine pathway in inflammation and atherosclerosis. *Cytokine* 122, 154148.
- Bauters, C., 2000. *Physiopathologie de l'athérosclérose*. Hôp. Cardiol. Lille.
- Beaglehole, R., Lefèbvre, P., 2009. Agissons contre le diabète. *Initiat. Organ. Mond. Santé Fédération Int. Diabète* 1–3.
- Bi, Y., Wang, T., Xu, M., Xu, Y., Li, M., Lu, J., Zhu, X., Ning, G., 2012. Advanced research on risk factors of type 2 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 28 Suppl 2, 32–39.

- Böni-Schnetzler, M., Thorne, J., Parnaud, G., Marselli, L., Ehses, J.A., Kerr-Conte, J., Pattou, F., Halban, P.A., Weir, G.C., Donath, M.Y., 2008. Increased interleukin (IL)-1beta messenger ribonucleic acid expression in beta -cells of individuals with type 2 diabetes and regulation of IL-1beta in human islets by glucose and autostimulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 93, 4065–4074.
- Boros, F.A., Bohár, Z., Vécsei, L., 2018. Genetic alterations affecting the genes encoding the enzymes of the kynurenine pathway and their association with human diseases. *Mutat. Res. Mutat. Res.* 776, 32–45.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32, 314.
- Bourne, R.R.A., Stevens, G.A., White, R.A., Smith, J.L., Flaxman, S.R., Price, H., Jonas, J.B., Keeffe, J., Leasher, J., Naidoo, K., Pesudovs, K., Resnikoff, S., Taylor, H.R., Vision Loss Expert Group, 2013. Causes of vision loss worldwide, 1990-2010: a systematic analysis. *Lancet Glob. Health* 1, e339-349.
- Boyle, P., 2012. Northern European database study of insulin and cancer risk. 72nd Sci. Sess. Am. Diabetes Assoc.
- Bray, F., dos Santos Silva, I., Moller, H., Weiderpass, E., 2005. Endometrial cancer incidence trends in Europe: underlying determinants and prospects for prevention. *Cancer Epidemiol. Prev. Biomark.* 14, 1132–1142.
- Caballero, A.E., Arora, S., Saouaf, R., Lim, S.C., Smakowski, P., Park, J.Y., King, G.L., LoGerfo, F.W., Horton, E.S., Veves, A., 1999. Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes* 48, 1856–1862.
- Campbell, B.M., Charych, E., Lee, A.W., Möller, T., 2014. Kynurenines in CNS disease: regulation by inflammatory cytokines. *Front. Neurosci.* 8, 12.
- Cerasi, E., Ktorza, A., 2007. Anatomical and functional plasticity of pancreatic beta-cells and type 2 diabetes. *Med. Sci. MS* 23, 885–894.
- Chiasson, J.-L., Josse, R.G., Gomis, R., Hanefeld, M., Karasik, A., Laakso, M., STOP-NIDDM Trial Research Group, 2003. Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance: the STOP-NIDDM trial. *JAMA* 290, 486–494.
- Cho, Y.I., Mooney, M.P., Cho, D.J., 2008. Hemorheological disorders in diabetes mellitus. *J. Diabetes Sci. Technol.* 2, 1130–1138.
- Choi, D.-J., Yoon, C.-H., Lee, H., Ahn, S.-Y., Oh, K.J., Park, H.-Y., Lee, H.Y., Cho, M.C., Chung, I.-M., Shin, M.-S., Park, S.-J., Shim, C.Y., Han, S.W., Chae, I.-H., 2016. The Association of Family History of Premature Cardiovascular Disease or Diabetes Mellitus on the Occurrence of Gestational Hypertensive Disease and Diabetes. *PLoS ONE* 11.
- Christensen, K.H., Grove, E.L., Würtz, M., Kristensen, S.D., Hvas, A.-M., 2015. Reduced antiplatelet effect of aspirin during 24 hours in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes. *Platelets* 26, 230–235.

Coban, E., Kucuktag, S., Basyigit, S., 2007. Platelet activation in subjects with impaired glucose tolerance. *Platelets* 18, 591–594.

Contreras, F., Lares, M., Castro, J., Velasco, M., Rojas, J., Guerra, X., Chacín, M., Dowling, V., Bermúdez, V., 2010. Determination of non-HDL cholesterol in diabetic and hypertensive patients. *Am. J. Ther.* 17, 337–340.

Copeland, C.S., Neale, S.A., Salt, T.E., 2013. Actions of Xanthurenic acid, a putative endogenous Group II metabotropic glutamate receptor agonist, on sensory transmission in the thalamus. *Neuropharmacology* 66, 133–142.

Cuffy, M.C., Silverio, A.M., Qin, L., Wang, Y., Eid, R., Brandacher, G., Lakkis, F.G., Fuchs, D., Pober, J.S., Tellides, G., 2007. Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase in vascular smooth muscle cells by interferon-gamma contributes to medial immunoprivilege. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 179, 5246–5254.

Dali-Sahi, M., 2012. Effets modulaires de l'hérédité et des facteurs de risques environnementaux sur le diabète de type 2 dans des populations de l'extrême Ouest Algérien (PhD Thesis).

Dali-Sahi, M., Benmansour, D., 2014. Évaluation du risque de survenue du diabète de type 1 dans une population consanguine de l'ouest algérien. *Leban. Sci. J.* 15, 25.

Dali-Sahi, M., Benmansour, D., Aouar, A., Karam, N., 2012. Etude de l'épidémiologie du diabète de type 2 dans des populations endogames de l'ouest Algérien. *Leban Sci J* 13.

Demirtas, L., Degirmenci, H., Akbas, E.M., Ozcicek, A., Timuroglu, A., Gurel, A., Ozcicek, F., 2015. Association of hematological indices with diabetes, impaired glucose regulation and microvascular complications of diabetes. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 8, 11420–11427.

Dolusić, E., Larrieu, P., Moineaux, L., Stroobant, V., Pilotte, L., Colau, D., Pochet, L., Van den Eynde, B., Masereel, B., Wouters, J., Frédérick, R., 2011. Tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) inhibitors. 3-(2-(pyridyl)ethenyl)indoles as potential anticancer immunomodulators. *J. Med. Chem.* 54, 5320–5334.

Donath, M.Y., Shoelson, S.E., 2011. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 98–107.

Eliasson, B., Gudbjörnsdottir, S., Zethelius, B., Eeg-Olofsson, K., Cederholm, J., 2013. LDL-cholesterol versus non-HDL-to-HDL-cholesterol ratio and risk for coronary heart disease in type 2 diabetes: *Eur. J. Prev. Cardiol.*

Escribano, O., Beneit, N., Rubio-Longás, C., López-Pastor, A.R., Gómez-Hernández, A., 2017. The Role of Insulin Receptor Isoforms in Diabetes and Its Metabolic and Vascular Complications. *J. Diabetes Res.* 2017, 1403206.

EACPR (European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation), Reiner, Z., Catapano, A.L., De Backer, G., Graham, I., Taskinen, M.-R., Wiklund, O., Agewall, S., Alegria, E., Chapman, M.J., Durrington, P., Erdine, S., Halcox, J., Hobbs, R., Kjekshus, J., Filardi, P.P., Riccardi, G., Storey, R.F., Wood, D., ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2008-2010 and 2010-2012 Committees, 2011. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the

European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur. Heart J.* 32, 1769–1818.

Eussen, S.J., Ueland, P.M., Vollset, S.E., Nygård, O., Midttun, Ø., Sulo, G., Ulvik, A., Meyer, K., Pedersen, E.R., Tell, G.S., 2015. Kynurenines as predictors of acute coronary events in the Hordaland Health Study. *Int. J. Cardiol.* 189, 18–24.

Evans, J.M., Donnelly, L.A., Emslie-Smith, A.M., Alessi, D.R., Morris, A.D., 2005. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *Bmj* 330, 1304–1305.

Favennec, M., 2015. Etude de la voie des kynurénines dans l'obésité humaine (PhD Thesis).

Feng, B., Yao, P.M., Li, Y., Devlin, C.M., Zhang, D., Harding, H.P., Sweeney, M., Rong, J.X., Kuriakose, G., Fisher, E.A., Marks, A.R., Ron, D., Tabas, I., 2003. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. *Nat. Cell*

Ferlay, J., Shin, H.-R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., Parkin, D.M., 2010. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int. J. Cancer* 127, 2893–2917.

FNB/IOM (Food and Nutrition Board/Institute Of Medicine), 2002. Protein and amino acids, in: *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*. Washington DC.

Folsom, A.R., Yao, L., Alonso, A., Lutsey, P.L., Missov, E., Lederle, F.A., Ballantyne, C.M., Tang, W., 2015. Circulating Biomarkers and Abdominal Aortic Aneurysm Incidence: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 132, 578–585.

Fox, C.S., Coady, S., Sorlie, P.D., Levy, D., Meigs, J.B., D'Agostino, R.B., Wilson, P.W.F., Savage, P.J., 2004. Trends in Cardiovascular Complications of Diabetes. *JAMA* 292, 2495–2499.

Frittitta, L., Vigneri, R., Papa, V., Goldfine, I.D., Grasso, G., Trischitta, V., 1993. Structural and functional studies of insulin receptors in human breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 25, 73–82.

Fujigaki, H., Yamamoto, Y., Saito, K., 2017. L-Tryptophan-kynurenine pathway enzymes are therapeutic target for neuropsychiatric diseases: Focus on cell type differences. *Neuropharmacology* 112, 264–274.

Gallagher, E.J., LeRoith, D., 2015. Obesity and Diabetes: The Increased Risk of Cancer and Cancer-Related Mortality. *Physiol. Rev.* 95, 727–748.

Galvão-de Almeida, A., Quarantini, L.C., Sampaio, A.S., Lyra, A.C., Parise, C.L., Paraná, R., de Oliveira, I.R., Koenen, K.C., Miranda-Scippa, Â., Guindalini, C., 2011. Lack of association of indoleamine 2, 3-dioxygenase polymorphisms with interferon-alpha-related depression in hepatitis C. *Brain. Behav. Immun.* 25, 1491–1497.

Garavaglia, S., Perozzi, S., Galeazzi, L., Raffaelli, N., Rizzi, M., 2009. The crystal structure of human alpha-amino-beta-carboxymuconate-epsilon-semialdehyde decarboxylase in complex with 1,3-dihydroxyacetonephosphate suggests a regulatory link between NAD synthesis and glycolysis. *FEBS J.* 276, 6615–6623.

- Gariani, K., Tran, C., Philippe, J., 2010. Diabète et cancer: une association pernicieuse. *Rev. Médicale Suisse* 6, 1193–1194.
- Gillum, R.F., Mussolino, M.E., Madans, J.H., 2005. Counts of neutrophils, lymphocytes, and monocytes, cause-specific mortality and coronary heart disease: the NHANES-I epidemiologic follow-up study. *Ann. Epidemiol.* 15, 266–271.
- Giovannucci, E., Harlan, D.M., Archer, M.C., Bergenstal, R.M., Gapstur, S.M., Habel, L.A., Pollak, M., Regensteiner, J.G., Yee, D., 2010. Diabetes and cancer: a consensus report. *Diabetes Care* 33, 1674–1685.
- Gkrania-Klotsas, E., Ye, Z., Cooper, A.J., Sharp, S.J., Luben, R., Biggs, M.L., Chen, L.-K., Gokulakrishnan, K., Hanefeld, M., Ingelsson, E., Lai, W.-A., Lin, S.-Y., Lind, L., Lohsoonthorn, V., Mohan, V., Muscari, A., Nilsson, G., Ohrvik, J., Chao Qiang, J., Jenny, N.S., Tamakoshi, K., Temelkova-Kurktschiev, T., Wang, Y.-Y., Yajnik, C.S., Zoli, M., Khaw, K.-T., Forouhi, N.G., Wareham, N.J., Langenberg, C., 2010. Differential white blood cell count and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of cross-sectional and prospective studies. *PloS One* 5, e13405.
- Godsland, I.F., 2010. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in the development and progression of cancer. *Clin. Sci.* 118, 315–332.
- Gori, T., 2011. Viscosity, platelet activation, and hematocrit: progress in understanding their relationship with clinical and subclinical vascular disease. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 49, 37–42.
- Hamet, P., Tremblay, J., Pang, S.C., Walter, S.V., Wen, Y.-I., 1985. Primary versus secondary events in hypertension. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 63, 380–386.
- Hansson, G.K., 2005. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *N. Engl. J. Med.* 352, 1685–1695.
- Hansson, G.K., Robertson, A.-K.L., Söderberg-Nauclér, C., 2006. Inflammation and atherosclerosis. *Annu. Rev. Pathol.* 1, 297–329.
- Hemkens, L.G., Grouven, U., Bender, R., Günster, C., Gutschmidt, S., Selke, G.W., Sawicki, P.T., 2009. Risk of malignancies in patients with diabetes treated with human insulin or insulin analogues: a cohort study. *Diabetologia* 52, 1732–1744.
- Hermans, M.P., Sacks, F.M., Ahn, S.A., Rousseau, M.F., 2011. Non-HDL-cholesterol as valid surrogate to apolipoprotein B100 measurement in diabetes: Discriminant Ratio and unbiased equivalence. *Cardiovasc. Diabetol.* 10, 20.
- Ho, J.E., Larson, M.G., Ghorbani, A., Cheng, S., Chen, M.-H., Keyes, M., Rhee, E.P., Clish, C.B., Vasan, R.S., Gerszten, R.E., Wang, T.J., 2016. Metabolomic Profiles of Body Mass Index in the Framingham Heart Study Reveal Distinct Cardiometabolic Phenotypes. *PloS One* 11, e0148361.
- Hu, F.B., Manson, J.E., Liu, S., Hunter, D., Colditz, G.A., Michels, K.B., Speizer, F.E., Giovannucci, E., 1999. Prospective study of adult onset diabetes mellitus (type 2) and risk of colorectal cancer in women. *J. Natl. Cancer Inst.* 91, 542–547.

- Huang, X., Powell-Coffman, J.A., Jin, Y., 2004. The AHR-1 aryl hydrocarbon receptor and its co-factor the AHA-1 aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator specify GABAergic neuron cell fate in *C. elegans*. *Dev. Camb. Engl.* 131, 819–828.
- Hussain, S.H., 2017. Activity of Indoleamine 2, 3 Dioxygenase (IDO) in Type 2 Diabetes Mellitus Patients in Pakistan. *J. Rawalpindi Med. Coll.* 21, 136–140.
- IDF (International Diabetes Federation), 2017. *IDF Diabetes Atlas 8th Edition (2017)*.
- Jonasson, J., Ljung, R., Talbäck, M., Haglund, B., Gudbjörnsdóttir, S., Steineck, G., 2009. Insulin glargine use and short-term incidence of malignancies—a population-based follow-up study in Sweden. *Diabetologia* 52, 1745–1754.
- Juvonen, J., Surcel, H.M., Satta, J., Teppo, A.M., Bloigu, A., Syrjälä, H., Airaksinen, J., Leinonen, M., Saikku, P., Juvonen, T., 1997. Elevated circulating levels of inflammatory cytokines in patients with abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17, 2843–2847.
- Kakouros, N, Rade, J., Kourliouros, A., Resar, J., 2011. Platelet function in patients with diabetes mellitus: from a theoretical to a practical perspective. *Int J Endocrinol.* 2011, 719–742.
- Koopmans, S.J., Ruis, M., Dekker, R., Korte, M., 2009. Surplus dietary tryptophan inhibits stress hormone kinetics and induces insulin resistance in pigs. *Physiol. Behav.* 98, 402–410.
- Krettek, A., Sukhova, G.K., Libby, P., 2003. Elastogenesis in human arterial disease: a role for macrophages in disordered elastin synthesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23, 582–587.
- Largay, J., 2012. Case study: new-onset diabetes: how to tell the difference between type 1 and type 2 diabetes. *Clin. Diabetes* 30, 25–26.
- Largent, J.A., McEligot, A.J., Ziogas, A., Reid, C., Hess, J., Leighton, N., Peel, D., Anton-Culver, H., 2006. Hypertension, diuretics and breast cancer risk. *J. Hum. Hypertens.* 20, 727–732.
- Lee, A., Kanuri, N., Zhang, Y., Sayuk, G.S., Li, E., Ciorba, M.A., 2014. IDO1 and IDO2 non-synonymous gene variants: correlation with crohn’s disease risk and clinical phenotype. *PloS One* 9.
- Leroux, G., Lemieux, I., Lamarche, B., Cantin, B., Dagenais, G.R., Lupien, P.J., Després, J.P., 2000. Influence of triglyceride concentration on the relationship between lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B and A-I levels. *Metabolism.* 49, 53–61.
- Li, C.I., Malone, K.E., Weiss, N.S., Boudreau, D.M., Cushing-Haugen, K.L., Daling, J.R., 2003. Relation between use of antihypertensive medications and risk of breast carcinoma among women ages 65–79 years. *Cancer Interdiscip. Int. J. Am. Cancer Soc.* 98, 1504–1513.
- Libby, P., 2001. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 104, 365–372.

- Liu, J.J., Raynal, S., Bailbé, D., Gausseres, B., Carbonne, C., Autier, V., Movassat, J., Kergoat, M., Portha, B., 2015. Expression of the kynurenine pathway enzymes in the pancreatic islet cells. Activation by cytokines and glucolipototoxicity. *Biochim. Biophys. Acta* 1852, 980–991.
- Liu, X., Ji, J., Sundquist, K., Sundquist, J., Hemminki, K., 2012. The impact of type 2 diabetes mellitus on cancer-specific survival: a follow-up study in Sweden. *Cancer* 118, 1353–1361.
- Lu, W., Resnick, H.E., Jablonski, K.A., Jones, K.L., Jain, A.K., Howard, W.J., Robbins, D.C., Howard, B.V., 2003. Non-HDL cholesterol as a predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetes: the strong heart study. *Diabetes Care* 26, 16–23.
- Lund, A., Nordrehaug, J.E., Slettom, G., Solvang, S.-E.H., Pedersen, E.K.R., Midttun, Ø., Ulvik, A., Ueland, P.M., Nygård, O., Giil, L.M., 2020. Plasma kynurenines and prognosis in patients with heart failure. *PloS One* 15, e0227365.
- Ma, J., Li, H., Giovannucci, E., Mucci, L., Qiu, W., Nguyen, P.L., Gaziano, J.M., Pollak, M., Stampfer, M.J., 2008. Prediagnostic body-mass index, plasma C-peptide concentration, and prostate cancer-specific mortality in men with prostate cancer: a long-term survival analysis. *Lancet Oncol.* 9, 1039–1047.
- Maedler, K., Schumann, D.M., Sauter, N., Ellingsgaard, H., Bosco, D., Baertschiger, R., Iwakura, Y., Oberholzer, J., Wollheim, C.B., Gauthier, B.R., Donath, M.Y., 2006. Low concentration of interleukin-1beta induces FLICE-inhibitory protein-mediated beta-cell proliferation in human pancreatic islets. *Diabetes* 55, 2713–2722.
- Maghzal, G.J., Thomas, S.R., Hunt, N.H., Stocker, R., 2008. Cytochrome b5, not superoxide anion radical, is a major reductant of indoleamine 2,3-dioxygenase in human cells. *J. Biol. Chem.* 283, 12014–12025.
- Magis, D., Geronooz, I., Scheen, A.J., 2002. [Smoking, insulin resistance and type 2 diabetes]. *Rev. Med. Liege* 57, 575–581.
- Maitra, A., 2010. The endocrine system, in: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition e-Book. elsevier, New Delhi, pp. 1097–1164.
- Mándi, Y., Vécsei, L., 2012. The kynurenine system and immunoregulation. *J. Neural Transm.* 119, 197–209.
- Marquard, J., Otter, S., Welters, A., Stirban, A., Fischer, A., Eglinger, J., Herebian, D., Kletke, O., Klemen, M.S., Stožer, A., Wnendt, S., Piemonti, L., Köhler, M., Ferrer, J., Thorens, B., Schliess, F., Rupnik, M.S., Heise, T., Berggren, P.-O., Klöcker, N., Meissner, T., Mayatepek, E., Eberhard, D., Kragl, M., Lammert, E., 2015. Characterization of pancreatic NMDA receptors as possible drug targets for diabetes treatment. *Nat. Med.* 21, 363–372.
- Matino, D., Gargaro, M., Santagostino, E., Di Minno, M.N.D., Castaman, G., Morfini, M., Rocino, A., Mancuso, M.E., Di Minno, G., Coppola, A., Talesa, V.N., Volpi, C., Vacca, C., Orabona, C., Iannitti, R., Mazzucconi, M.G., Santoro, C., Tosti, A., Chiappalupi, S., Sorci, G., Tagariello, G., Belvini, D., Radossi, P., Landolfi, R., Fuchs, D., Boon, L., Pirro, M., Marchesini, E., Grohmann, U., Puccetti, P., Iorio, A., Fallarino, F., 2015. IDO1 suppresses

inhibitor development in hemophilia A treated with factor VIII. *J. Clin. Invest.* 125, 3766–3781.

McKinney, J., Knappskog, P.M., Haavik, J., 2005. Different properties of the central and peripheral forms of human tryptophan hydroxylase. *J. Neurochem.* 92, 311–320.

McQueen, M.J., Hawken, S., Wang, X., Ounpuu, S., Sniderman, A., Probstfield, J., Steyn, K., Sanderson, J.E., Hasani, M., Volkova, E., 2008. INTERHEART study investigators Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins as risk markers of myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): a case-control study. *Lancet* 372, 224–233.

Mellor, A.L., Munn, D.H., 2004. IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. *Nat. Rev. Immunol.* 4, 762–774.

Meng, B., Wu, D., Gu, J., Ouyang, S., Ding, W., Liu, Z.-J., 2014. Structural and functional analyses of human tryptophan 2,3-dioxygenase. *Proteins* 82, 3210–3216.

Metghalchi, S., Ponnuswamy, P., Simon, T., Haddad, Y., Laurans, L., Clément, M., Dalloz, M., Romain, M., Esposito, B., Koropoulis, V., Lamas, B., Paul, J.-L., Cottin, Y., Kotti, S., Bruneval, P., Callebert, J., den Ruijter, H., Launay, J.-M., Danchin, N., Sokol, H., Tedgui, A., Taleb, S., Mallat, Z., 2015. Indoleamine 2,3-Dioxygenase Fine-Tunes Immune Homeostasis in Atherosclerosis and Colitis through Repression of Interleukin-10 Production. *Cell Metab.* 22, 460–471.

Methe, H., Weis, M., 2007. Atherogenesis and inflammation--was Virchow right? *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc. - Eur. Ren. Assoc.* 22, 1823–1827.

Metz, R., DuHadaway, J.B., Kamasani, U., Laury-Kleintop, L., Muller, A.J., Prendergast, G.C., 2007. Novel tryptophan catabolic enzyme IDO2 is the preferred biochemical target of the antitumor indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitory compound D-1-methyl-tryptophan. *Cancer Res.* 67, 7082–7087.

Metz, R., Smith, C., DuHadaway, J.B., Chandler, P., Baban, B., Merlo, L.M.F., Pigott, E., Keough, M.P., Rust, S., Mellor, A.L., Mandik-Nayak, L., Muller, A.J., Prendergast, G.C., 2014. IDO2 is critical for IDO1-mediated T-cell regulation and exerts a non-redundant function in inflammation. *Int. Immunol.* 26, 357–367.

Meyramov, G., Korchin, V., Kocheryzkina, N., 1998. Diabetogenic activity of xanturenic acid determined by its chelating properties? *Transplant. Proc.* 30, 2682–2684.

Michels, K.B., Solomon, C.G., Hu, F.B., Rosner, B.A., Hankinson, S.E., Colditz, G.A., Manson, J.E., 2003. Type 2 diabetes and subsequent incidence of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Diabetes Care* 26, 1752–1758.

Miller, S.A., Dykes, D.D., Polesky, H.F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 16, 1215.

Mullick, A.E., Fu, W., Graham, M.J., Lee, R.G., Witchell, D., Bell, T.A., Whipple, C.P., Crooke, R.M., 2011. Antisense oligonucleotide reduction of apoB-ameliorated atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J. Lipid Res.* 52, 885–896.

- Munipally, P.K., Agraharm, S.G., Valavala, V.K., Gundae, S., Turlapati, N.R., 2011. Evaluation of indoleamine 2,3-dioxygenase expression and kynurenine pathway metabolites levels in serum samples of diabetic retinopathy patients. *Arch. Physiol. Biochem.* 117, 254–258.
- Murr, C., Grammer, T.B., Kleber, M.E., Meinitzer, A., März, W., Fuchs, D., 2015. Low serum tryptophan predicts higher mortality in cardiovascular disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 45, 247–254.
- Nakache, J.-P., Confais, J., 2003. *Statistique explicative appliquée: analyse discriminante, modèle logistique, segmentation par arbre.* Editions TECHNIP.
- NCD-RisC (NCD Risk Factor Collaboration), 2016. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet Lond. Engl.* 387, 1513–1530.
- Niinisalo, P., Raitala, A., Pertovaara, M., Oja, S.S., Lehtimäki, T., Kähönen, M., Reunanen, A., Jula, A., Moilanen, L., Kesäniemi, Y.A., Nieminen, M.S., Hurme, M., 2008. Indoleamine 2,3-dioxygenase activity associates with cardiovascular risk factors: the Health 2000 study. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 68, 767–770.
- Onesti, C.E., Boemer, F., Josse, C., Leduc, S., Bours, V., Jerusalem, G., 2019. Tryptophan catabolism increases in breast cancer patients compared to healthy controls without affecting the cancer outcome or response to chemotherapy. *J. Transl. Med.* 17, 239.
- Orabona, C., Mondanelli, G., Pallotta, M.T., Carvalho, A., Albini, E., Fallarino, F., Vacca, C., Volpi, C., Belladonna, M.L., Berlioli, M.G., 2018. Deficiency of immunoregulatory indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 in juvenile diabetes. *JCI Insight* 3.
- Oxenkrug, G.F., Turski, W.A., Zgrajka, W., Weinstock, J.V., Summergrad, P., 2013. Tryptophan-kynurenine metabolism and insulin resistance in hepatitis C patients. *Hepat. Res. Treat.* 2013, 149247.
- Ozkan, Y., Sukuroglu, M.K., Tulmac, M., Kisa, U., Simsek, B., 2014. Relation of kynurenine/tryptophan with immune and inflammatory markers in coronary artery disease. *Clin Lab* 60, 391–396.
- Packard, R.R.S., Libby, P., 2008. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin. Chem.* 54, 24–38.
- Pantouris, G., Mowat, C.G., 2014. Antitumour agents as inhibitors of tryptophan 2,3-dioxygenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 443, 28–31.
- Paquot, N., Scheen, A., 2003. Prevention cardio-vasculaire chez le patient diabétique de type 2. *Rev. Médicale Liège* 58, 271–4.
- Paul, J.-L., Baudin, B., 2009. Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. *Rev. Francoph. Lab.* 2009, 41–50.
- Pawlak, K., Myśliwiec, M., Pawlak, D., 2010. Kynurenine pathway - a new link between endothelial dysfunction and carotid atherosclerosis in chronic kidney disease patients. *Adv. Med. Sci.* 55, 196–203.

- Pearson, J.T., Siu, S., Meininger, D.P., Wienkers, L.C., Rock, D.A., 2010. In vitro modulation of cytochrome P450 reductase supported indoleamine 2,3-dioxygenase activity by allosteric effectors cytochrome b(5) and methylene blue. *Biochemistry* 49, 2647–2656.
- Pedersen, E.R., Midttun, Ø., Ueland, P.M., Schartum-Hansen, H., Seifert, R., Igland, J., Nordrehaug, J.E., Ebbing, M., Svingen, G., Bleie, Ø., Berge, R., Nygård, O., 2011. Systemic markers of interferon- γ -mediated immune activation and long-term prognosis in patients with stable coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31, 698–704.
- Pedersen, E.R., Svingen, G.F.T., Schartum-Hansen, H., Ueland, P.M., Ebbing, M., Nordrehaug, J.E., Igland, J., Seifert, R., Nilsen, R.M., Nygård, O., 2013. Urinary excretion of kynurenine and tryptophan, cardiovascular events, and mortality after elective coronary angiography. *Eur. Heart J.* 34, 2689–2696.
- Pedersen, E.R., Tuseth, N., Eussen, S.J.P.M., Ueland, P.M., Strand, E., Svingen, G.F.T., Midttun, Ø., Meyer, K., Mellgren, G., Ulvik, A., Nordrehaug, J.E., Nilsen, D.W., Nygård, O., 2015. Associations of plasma kynurenines with risk of acute myocardial infarction in patients with stable angina pectoris. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 35, 455–462.
- Pertovaara, M., Raitala, A., Juonala, M., Lehtimäki, T., Huhtala, H., Oja, S.S., Jokinen, E., Viikari, J.S.A., Raitakari, O.T., Hurme, M., 2007. Indoleamine 2,3-dioxygenase enzyme activity correlates with risk factors for atherosclerosis: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Clin. Exp. Immunol.* 148, 106–111.
- Petermann, F., Diaz-Martinez, X., Garrido-Méndez, A., Leiva, A., Martínez, M., Salas, C., Poblete-Valderrama, F., Celis-Morales, C., 2017. [Association between type 2 diabetes and physical activity in individuals with family history of diabetes]. *Gac. Sanit.* 32, 230–235.
- Pinget, M., Boullu-Sanchis, S., 2002. Physiological basis of insulin secretion abnormalities. *Diabetes Metab.* 28, 4S21-32.
- Pisani, P., 2008. Hyper-insulinaemia and cancer, meta-analyses of epidemiological studies. *Arch. Physiol. Biochem.* 114, 63–70.
- Pischon, T., Girman, C.J., Sacks, F.M., Rifai, N., Stampfer, M.J., Rimm, E.B., 2005. Non-high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men. *Circulation* 112, 3375–3383.
- Player, M.S., Iii, A.G.M., Diaz, V.A., Everett, C.J., 2007. Prehypertension and Insulin Resistance in a Nationally Representative Adult Population. *J. Clin. Hypertens.* 9, 424–429.
- Polyzos, K.A., Ketelhuth, D.F.J., 2015. The role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in cardiovascular disease. An emerging field. *Hamostaseologie* 35, 128–136.
- Pothuraju, R., Rachagani, S., Junker, W.M., Chaudhary, S., Saraswathi, V., Kaur, S., Batra, S.K., 2018. Pancreatic cancer associated with obesity and diabetes: an alternative approach for its targeting. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 37, 1–15.
- Puccetti, P., Grohmann, U., 2007. IDO and regulatory T cells: a role for reverse signalling and non-canonical NF-kappaB activation. *Nat. Rev. Immunol.* 7, 817–823.

- Rafice, S.A., Chauhan, N., Efimov, I., Basran, J., Raven, E.L., 2009. Oxidation of L-tryptophan in biology: a comparison between tryptophan 2,3-dioxygenase and indoleamine 2,3-dioxygenase. *Biochem. Soc. Trans.* 37, 408–412.
- Ramjee, V., Sperling, L.S., Jacobson, T.A., 2011. Non-high-density lipoprotein cholesterol versus apolipoprotein B in cardiovascular risk stratification: do the math. *J. Am. Coll. Cardiol.* 58, 457–463.
- Rebnord, E.W., Strand, E., Midttun, Ø., Svingen, G.F.T., Christensen, M.H.E., Ueland, P.M., Mellgren, G., Njølstad, P.R., Tell, G.S., Nygård, O.K., Pedersen, E.R., 2017. The kynurenine:tryptophan ratio as a predictor of incident type 2 diabetes mellitus in individuals with coronary artery disease. *Diabetologia* 60, 1712–1721.
- Saporta, G., 2006. Probabilités, analyse des données et statistique. Editions TECHNIP.
- Scheen, A., Luyckx, F., Lefebvre, P., 2006. Comment j'explore... le syndrome métabolique par sa nouvelle définition dite de "consensus". *Rev. Médicale Liège* 61, 48–52.
- Schefold, J.C., Zeden, J.-P., Fotopoulou, C., von Haehling, S., Pschowski, R., Hasper, D., Volk, H.-D., Schuett, C., Reinke, P., 2009. Increased indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) activity and elevated serum levels of tryptophan catabolites in patients with chronic kidney disease: a possible link between chronic inflammation and uraemic symptoms. *Nephrol. Dial. Transplant.* 24, 1901–1908.
- Schlienger, J.-L., 2013. Complications du diabète de type 2. *Presse Médicale, Prise en charge du diabète de type 2* 42, 839–848.
- Schramm, T.K., Gislason, G.H., Køber, L., Rasmussen, S., Rasmussen, J.N., Abildstrøm, S.Z., Hansen, M.L., Folke, F., Buch, P., Madsen, M., Vaag, A., Torp-Pedersen, C., 2008. Diabetes patients requiring glucose-lowering therapy and nondiabetics with a prior myocardial infarction carry the same cardiovascular risk: a population study of 3.3 million people. *Circulation* 117, 1945–1954.
- Schwarcz, R., Bruno, J.P., Muchowski, P.J., Wu, H.-Q., 2012. Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 465–477.
- Shah, P.K., 2007. Molecular mechanisms of plaque instability. *Curr. Opin. Lipidol.* 18, 492–499.
- Shimizu, T., Nomiyama, S., Hirata, F., Hayaishi, O., 1978. Indoleamine 2,3-dioxygenase. Purification and some properties. *J. Biol. Chem.* 253, 4700–4706.
- Silverstein, M.D., Pitts, S.R., Chaikof, E.L., Ballard, D.J., 2005. Abdominal aortic aneurysm (AAA): cost-effectiveness of screening, surveillance of intermediate-sized AAA, and management of symptomatic AAA. *Proc. Bayl. Univ. Med. Cent.* 18, 345–367.
- Simionescu, M., Gafencu, A., Antohe, F., 2002. Transcytosis of plasma macromolecules in endothelial cells: a cell biological survey. *Microsc. Res. Tech.* 57, 269–288.
- Soichot, M., Vaast, A., Vignau, J., Guillemin, G.J., Lhermitte, M., Broly, F., Allorge, D., 2013. Characterization of functional polymorphisms and glucocorticoid-responsive elements

in the promoter of TDO2, a candidate gene for ethanol-induced behavioural disorders. *Alcohol Alcohol. Oxf. Oxf.* 48, 415–425.

Sondermeijer, B.M., Rana, J.S., Arsenault, B.J., Shah, P.K., Kastelein, J.J.P., Wareham, N.J., Boekholdt, S.M., Khaw, K.-T., 2013. Non-HDL cholesterol vs. Apo B for risk of coronary heart disease in healthy individuals: the EPIC-Norfolk prospective population study. *Eur. J. Clin. Invest.* 43, 1009–1015.

Song, P., Ramprasath, T., Wang, H., Zou, M.-H., 2017. Abnormal kynurenine pathway of tryptophan catabolism in cardiovascular diseases. *Cell. Mol. Life Sci.* 74, 2899–2916.

Steele, C.J., Schöttker, B., Marshall, A.H., Kouvonon, A., O’Doherty, M.G., Mons, U., Saum, K.-U., Boffetta, P., Trichopoulou, A., Brenner, H., 2017. Education achievement and type 2 diabetes—what mediates the relationship in older adults? Data from the ESTHER study: a population-based cohort study. *BMJ Open* 7, e013569.

Steinberg, D., 1997. Lewis A. Conner Memorial Lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation* 95, 1062–1071.

Suematsu, C., Hayashi, T., Fujii, S., Endo, G., Tsumura, K., Okada, K., Morii, H., 1999. Impaired fasting glucose and the risk of hypertension in Japanese men between the 1980s and the 1990s. The Osaka Health Survey. *Diabetes Care* 22, 228–232.

Sulo, G., Vollset, S.E., Nygård, O., Midttun, Ø., Ueland, P.M., Eussen, S.J.P.M., Pedersen, E.R., Tell, G.S., 2013. Neopterin and kynurenine-tryptophan ratio as predictors of coronary events in older adults, the Hordaland Health Study. *Int. J. Cardiol.* 168, 1435–1440.

Swardfager, W., Herrmann, N., Dowlati, Y., Oh, P.I., Kiss, A., Walker, S.E., Lanctôt, K.L., 2009. Indoleamine 2, 3-dioxygenase activation and depressive symptoms in patients with coronary artery disease. *Psychoneuroendocrinology* 34, 1560–1566.

Tanabe, A., Egashira, Y., Fukuoka, S.-I., Shibata, K., Sanada, H., 2002. Expression of rat hepatic 2-amino-3-carboxymuconate-6-semialdehyde decarboxylase is affected by a high protein diet and by streptozotocin-induced diabetes. *J. Nutr.* 132, 1153–1159.

Tardito, S., Negrini, S., Conteduca, G., Ferrera, F., Parodi, A., Battaglia, F., Kalli, F., Fenoglio, D., Cutolo, M., Filaci, G., 2013. Indoleamine 2, 3 dioxygenase gene polymorphisms correlate with CD8⁺ Treg impairment in systemic sclerosis. *Hum. Immunol.* 74, 166–169.

Taskinen, M.-R., Borén, J., 2015. New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 239, 483–495.

Tsimikas, S., 2008. In vivo markers of oxidative stress and therapeutic interventions. *Am. J. Cardiol.* 101, S34–S42.

Ulvik, A., Midttun, Ø., McCann, A., Meyer, K., Tell, G., Nygård, O., Ueland, P.M., 2020. Tryptophan catabolites as metabolic markers of vitamin B-6 status evaluated in cohorts of healthy adults and cardiovascular patients. *Am. J. Clin. Nutr.* 111, 178–186.

Vainio, H., Bianchini, F., 2002. International Agency for Research on Cancer Working Group on the Evaluation of Cancer-Preventive Agents. *Weight Control Phys. Act. Lyon Fr. Int. Agency Res. Cancer.*

- van Berkel, T.J.C., Out, R., Hoekstra, M., Kuiper, J., Biessen, E., van Eck, M., 2005. Scavenger receptors: friend or foe in atherosclerosis? *Curr. Opin. Lipidol.* 16, 525–535.
- Veenstra-VanderWeele, J., Anderson, G.M., Cook, E.H., 2000. Pharmacogenetics and the serotonin system: initial studies and future directions. *Eur. J. Pharmacol.* 410, 165–181.
- Vergès, B., 2001. Insulin sensitivity and lipids. *Diabetes Metab.* 27, 223–227.
- Vigneri, P., Frasca, F., Sciacca, L., Pandini, G., Vigneri, R., 2009. Diabetes and cancer. *Endocr. Relat. Cancer* 16, 1103–1123.
- Virani, S.S., 2011. Non-HDL cholesterol as a metric of good quality of care: opportunities and challenges. *Tex. Heart Inst. J.* 38, 160–162.
- Walther, D.J., Bader, M., 2003. A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem. Pharmacol.* 66, 1673–1680.
- Wang, F., Lu, H., Liu, F., Cai, H., Xia, H., Guo, F., Xie, Y., Huang, G., Miao, M., Shu, G., Sun, G., 2017. Consumption of a liquid high-fat meal increases triglycerides but decreases high-density lipoprotein cholesterol in abdominally obese subjects with high postprandial insulin resistance. *Nutr. Res. N. Y.* 43, 82–88.
- Wang, Qiongxin, Zhang, M., Ding, Y., Wang, Qilong, Zhang, W., Song, P., Zou, M.-H., 2014. Activation of NAD(P)H oxidase by tryptophan-derived 3-hydroxykynurenine accelerates endothelial apoptosis and dysfunction in vivo. *Circ. Res.* 114, 480–492.
- Wang, T.J., Larson, M.G., Vasan, R.S., Cheng, S., Rhee, E.P., McCabe, E., Lewis, G.D., Fox, C.S., Jacques, P.F., Fernandez, C., O'Donnell, C.J., Carr, S.A., Mootha, V.K., Florez, J.C., Souza, A., Melander, O., Clish, C.B., Gerszten, R.E., 2011. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat. Med.* 17, 448–453.
- Weksler-Zangen, S., Raz, I., Lenzen, S., Jörns, A., Ehrenfeld, S., Amir, G., Oprescu, A., Yagil, Y., Yagil, C., Zangen, D.H., Kaiser, N., 2008. Impaired Glucose-Stimulated Insulin Secretion Is Coupled With Exocrine Pancreatic Lesions in the Cohen Diabetic Rat. *Diabetes* 57, 279–287.
- Wigner, P., Saluk-Bijak, J., Synowiec, E., Miller, E., Sliwinski, T., Cichon, N., Bijak, M., 2019. Variation of Genes Encoding Tryptophan Catabolites Pathway Enzymes in Stroke. *J. Clin. Med.* 8, 2133.
- Wongcharoen, W., Sutthiwutthichai, S., Gunaparn, S., Phrommintikul, A., 2017. Is non-HDL-cholesterol a better predictor of long-term outcome in patients after acute myocardial infarction compared to LDL-cholesterol? : a retrospective study. *BMC Cardiovasc. Disord.* 17, 10.
- WHO (World Health Organization), 2017. Cardiovascular diseases. Geneva.
- WHO (World Health Organization), 2016. Rapport mondiale sur le diabète. Genève.
- WHO (World Health Organization), United Nations University, 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition. World Health Organization.

- Yahia-Berrouiguet, A., Benyoucef, M., Meguenni, K., Brouri, M., 2011. Enquête sur la prévalence des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires à Tlemcen (Algérie). *Médecine Mal. Métaboliques* 5, 42–48.
- Yamada, K., Miyazaki, T., Shibata, T., Hara, N., Tsuchiya, M., 2008. Simultaneous measurement of tryptophan and related compounds by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 867, 57–61.
- Yamamoto-Honda, R., Takahashi, Y., Mori, Y., Yamashita, S., Yoshida, Y., Kawazu, S., Iwamoto, Y., Kajio, H., Yanai, H., Mishima, S., 2017. A positive family history of hypertension might be associated with an accelerated onset of type 2 diabetes: Results from the National Center Diabetes Database (NCDD-02). *Endocr. J.* 64, 515–520.
- Yeung, A.W.S., Terentis, A.C., King, N.J.C., Thomas, S.R., 2015. Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in health and disease. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 1979 129, 601–672.
- Yu, E., Papandreou, C., Ruiz-Canela, M., Guasch-Ferre, M., Clish, C.B., Dennis, C., Liang, L., Corella, D., Fitó, M., Razquin, C., Lapetra, J., Estruch, R., Ros, E., Cofán, M., Arós, F., Toledo, E., Serra-Majem, L., Sorlí, J.V., Hu, F.B., Martinez-Gonzalez, M.A., Salas-Salvado, J., 2018. Association of Tryptophan Metabolites with Incident Type 2 Diabetes in the PREDIMED Trial: A Case-Cohort Study. *Clin. Chem.* 64, 1211–1220.
- Yu, E., Ruiz-Canela, M., Guasch-Ferré, M., Zheng, Y., Toledo, E., Clish, C.B., Salas-Salvadó, J., Liang, L., Wang, D.D., Corella, D., Fitó, M., Gómez-Gracia, E., Lapetra, J., Estruch, R., Ros, E., Cofán, M., Arós, F., Romaguera, D., Serra-Majem, L., Sorlí, J.V., Hu, F.B., Martinez-Gonzalez, M.A., 2017. Increases in Plasma Tryptophan Are Inversely Associated with Incident Cardiovascular Disease in the Prevención con Dieta Mediterránea (PREDIMED) Study. *J. Nutr.* 147, 314–322.
- Zabeen, S., Rahman, M.R., Mustafa, T.G., Eusufzai, N.H., Shermin, S., 2012. Non-HDL Cholesterol and Type 2 Diabetes Mellitus. *Anwer Khan Mod. Med. Coll. J.* 3, 15–18.
- Zaoui, S., Biémont, C., Meguenni, K., 2007. Approche épidémiologique du diabète en milieux urbain et rural dans la région de Tlemcen (Ouest algérien). *Cah. D'études Rech. Francoph.* 17, 15–21.
- Zeng, R.-X., Li, X.-L., Zhang, M.-Z., Guo, Y.-L., Zhu, C.-G., Guo, L.-H., Li, S., Zhang, Y., Li, J.-J., 2014. Non-HDL cholesterol is a better target for predicting periprocedural myocardial injury following percutaneous coronary intervention in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 237, 536–543.
- Zuo, H., Ueland, P.M., Ulvik, A., Eussen, S.J.P.M., Vollset, S.E., Nygård, O., Midttun, Ø., Theofylaktopoulou, D., Meyer, K., Tell, G.S., 2016. Plasma Biomarkers of Inflammation, the Kynurenine Pathway, and Risks of All-Cause, Cancer, and Cardiovascular Disease Mortality: The Hordaland Health Study. *Am. J. Epidemiol.* 183, 249–258.

Annexe

Questionnaire

Paramètres anthropométriques

Nom et prénom :

Age:.....ans

Sexe: Masculin Féminin

Poids :.....Kg Taille:.....m IMC:.....Kg/m²

Tour de taille:.....m Tour de hanche:.....m

PAS :.....mmHg PAD:.....mmHg

Paramètres anthro-sociologiques

Niveau d'instruction : Analphabète Primaire Secondaire Universitaire

Activité professionnelle: Sans profession Avec profession Retraité

Type d'Habitat : Individuel Collectif

Situation familiale: Marié Célibataire Autre

ATCD personnel

Cardiopathie :

HTA: Oui Non

Diabète: Oui Non

Dyslipidémie: Oui Non

Consanguinité : 1er degré Oui Non 2ème degré Oui Non

Facteurs de risque

HTA: Oui Non

Diabète: Oui Non

Dyslipidémie: Oui Non

Obésité: Oui Non

Tabac: Oui Non Alcool: Oui Non ATCD Familiaux: Oui Non

Examen Biochimique

Troponine:..... Asat (TGO) :..... Alat (TGP):.....

Myoglobine:..... LDH:..... CK MB:.....

Glycémie:..... Créatinine:..... Urée:.....

Cholestérol total:..... Triglycérides :..... CRP:.....

HDL cholestérol:..... LDL cholestérol :.....

Traitement: Oui Non

Formulaire de consentement

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou-Bekr-Belkaid Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la

Terre de l'Univers

Département de biologie

Madame, Monsieur,

Vous participez à un projet de recherche sur le diabète de type 2 et ses facteurs de risque sur la santé. Dans le cadre de ce projet, un prélèvement d'échantillon de sang est proposé. Le volume de ce prélèvement est de 5 ml de sang.

La conservation de vos échantillons de sang s'effectuera dans des conditions strictes de confidentialité des données médicales sans que votre nom, votre prénom ou d'autres données directement nominatives ne soient transmises avec le prélèvement.

Conformément à la loi du 6 juillet 1992 portant code de la déontologie médicale. Le protocole est lu et approuvé par le conseil régional de déontologie médicale.

Après avoir lu cette information et pu poser toutes les questions que je jugeais utiles au médecin qui me suit.

J'accepte qu'un prélèvement de sang soit effectué conformément aux objectifs et aux méthodes décrits ci-dessus.

Prénom et nom du patient:

Date:

1. Signature:

2. Signature:

Un exemplaire original signé de ce formulaire de consentement doit être conservé par le patient.