

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ ABOUBEKR BELKAID—TLEMCEM

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

Département DE BIOLOGIE

Laboratoire de Chimie Analytique et d'Electrochimie

MEMOIRE

Présenté par

MOUSSA Soumia

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

**Activité de la glutathion peroxydase érythrocytaire
chez des diabétiques de la wilaya de Tlemcen**

Soutenu le 27/09/2020 Devant le jury composé de :

Président	Mme DALI SAHI Majda	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme DENNOUNI-MEDJATI Nouria	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme GUERMOUCHE Baya	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2019/2020

Résumé :

En Algérie, la prévalence du diabète de type-2 est en progression. Le lien entre le diabète de type 2 et le stress oxydatif n'est plus à démontrer. Les enzymes glutathion peroxydases (GPx) font partie du système de protection contre les dommages oxydatifs, elles servent aussi de marqueur antioxydants intervenant dans le diabète.

Cette étude vise à déterminer l'activité de la GPx érythrocytaire chez des patients atteints de diabète de type 2 dans la wilaya de Tlemcen. La population d'étude est à prédominance féminine.

La mesure de l'activité de la GPx érythrocytaire a été faite par la méthode de Gunzler et al. Elle est exprimée en U/g Hb et elle est de $114,17 \pm 51,96$ chez les diabétiques de type 2 et de $117,75 \pm 40,51$ chez les témoins ($p > 0,05$).

Ces résultats ne montrent pas de variation significative de l'expression de la GPx chez les diabétiques par rapport aux témoins.

Il conviendrait de confirmer ce résultat par des études ultérieures.

Mots clés : diabète de type 2, glutathion peroxydase érythrocytaire.

Abstract:

In Algeria, the prevalence of type 2 diabetes is increasing. The link between type 2 diabetes and oxidative stress is no longer to be demonstrated. The antioxidant marker glutathione peroxidase enzymes involved in diabetes.

This study aims to determine the activity of erythrocyte GPx in patients with type 2 diabetes in the wilaya of Tlemcen. The study population is predominantly female.

The activity of erythrocyte glutathione peroxidase was measured by the method of Gunzler et al. It is expressed in U/g Hb and it is $114,17 \pm 51,96$ in type 2 diabetics and $117,75 \pm 40,51$ in controls ($p > 0,05$).

These results do not show a significant variation in the expression of GPx in diabetics compared to controls.

This result should be confirmed by further studies.

Key words: type 2 diabetes, erythrocyte glutathione peroxidase.

المخلص :

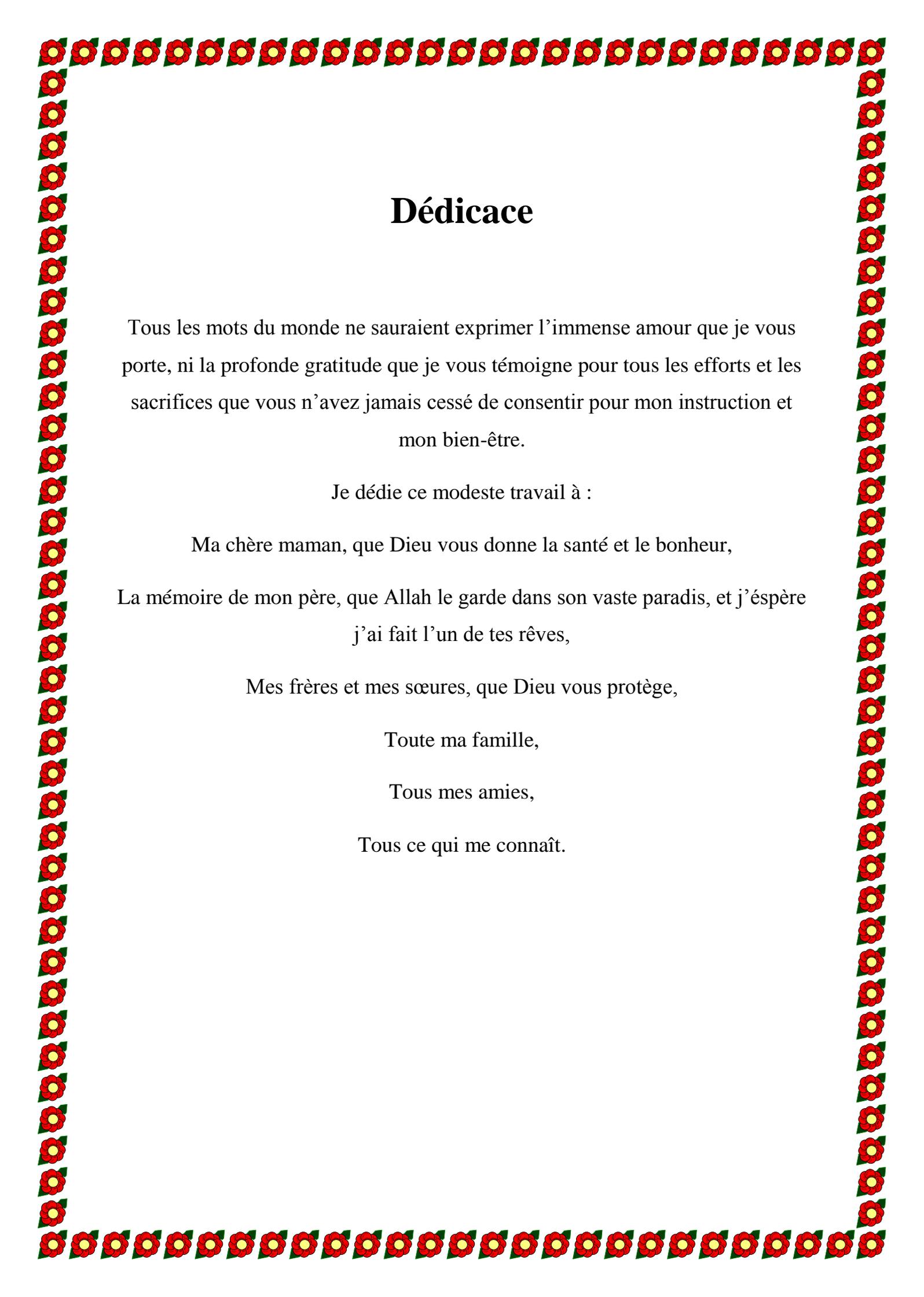
في الجزائر، انتشار مرض السكري من النوع الثاني أخذ في الارتفاع. لم يعد يتم إثبات الصلة بين مرض السكري من النوع 2 و الإجهاض التأكسدي. إنزيمات الجلوتاثيون بيروكسيداز هي جزء من نظام الحماية ضد الأوكسدة، كما أنها تعمل كعلامة مضادة للأوكسدة تشارك في مرض السكري.

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد نشاط GPx في كريات الدم الحمراء لمرضى السكري من النوع 2 في ولاية تلمسان. مجتمع الدراسة هو في الغالب من الإناث.

تم إجراء قياس نشاط الجلوتاثيون بيروكسيداز في كريات الدم الحمراء بواسطة طريقة Gunzler et al. يتم التعبير عنه في U/gHb وهو $114,17 \pm 51,96$ في مرضى السكري من النوع 2 و $117,75 \pm 40,51$ في المجموعة السليمة ($p > 0,05$).

لا تظهر هذه النتائج اختلافا كبيرا في التعبير عن GPx في مرضى السكر مقارنة بالمجموعة السليمة. يجب تأكيد هذه النتيجة من خلال مزيد من الدراسات.

الكلمات المفتاحية : مرض السكري من النوع 2، إنزيم جلوتاثيون بيروكسيداز.



Dédicace

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

Je dédie ce modeste travail à :

Ma chère maman, que Dieu vous donne la santé et le bonheur,

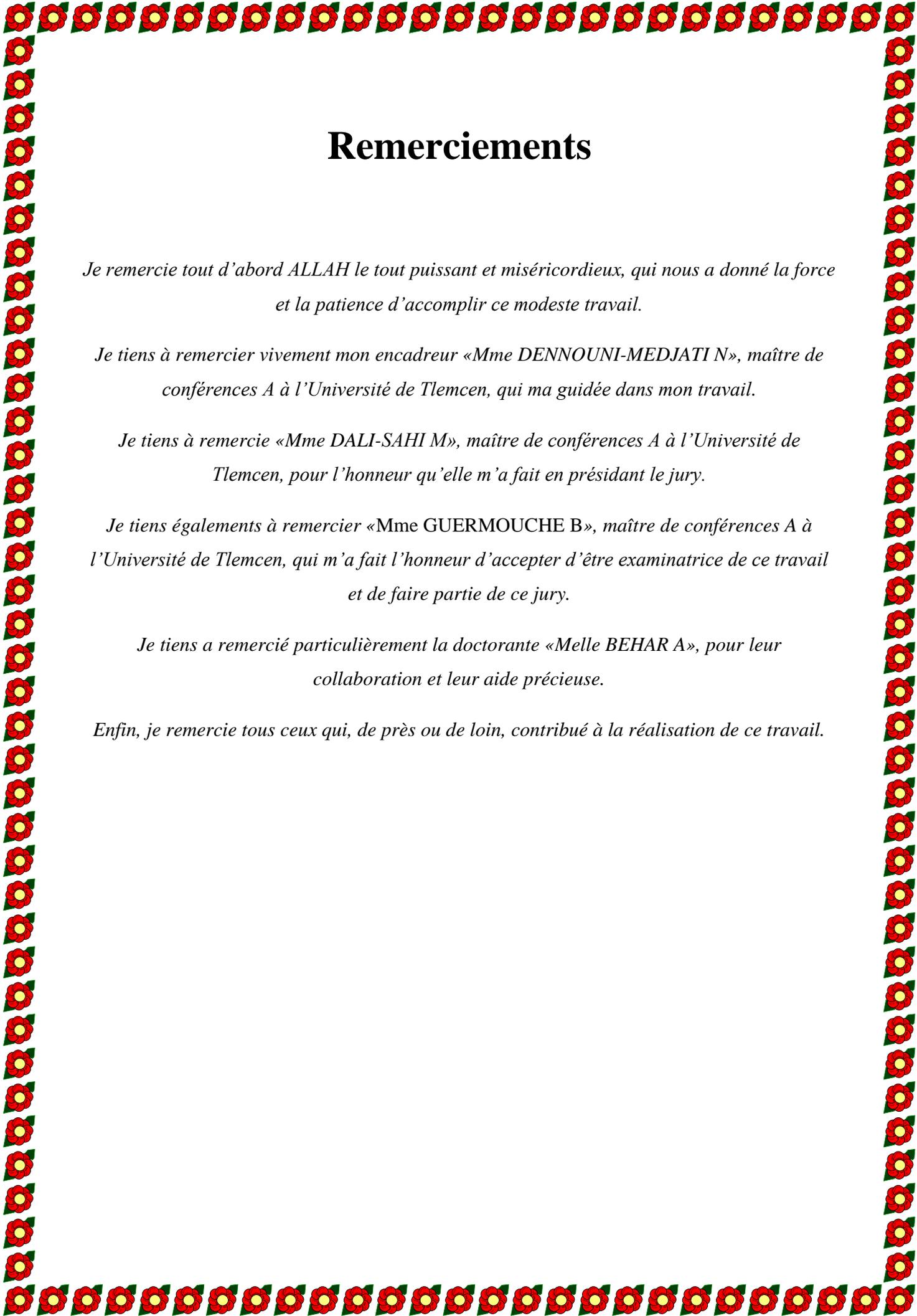
La mémoire de mon père, que Allah le garde dans son vaste paradis, et j'espère j'ai fait l'un de tes rêves,

Mes frères et mes sœurs, que Dieu vous protège,

Toute ma famille,

Tous mes amies,

Tous ce qui me connaît.



Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à remercier vivement mon encadreur «Mme DENNOUNI-MEDJATI N», maître de conférences A à l'Université de Tlemcen, qui ma guidée dans mon travail.

Je tiens à remercier «Mme DALI-SAHI M», maître de conférences A à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait en présidant le jury.

Je tiens également à remercier «Mme GUERMOUCHE B», maître de conférences A à l'Université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être examinatrice de ce travail et de faire partie de ce jury.

Je tiens a remercié particulièrement la doctorante «Melle BEHAR A», pour leur collaboration et leur aide précieuse.

Enfin, je remercie tous ceux qui, de près ou de loin, contribué à la réalisation de ce travail.

Liste des figures

Figure 1 : Relation entre hyperglycémie chronique, stress oxydant, facteurs de transcription redox-sensibles et accroissement du risque cardiovasculaire.....	9
Figure 2 : Mode d'action des GPx.....	13
Figure 3 : Histogramme des moyennes d'âge pour les diabétiques et les témoins.....	20
Figure 4 : Histogramme de l'activité enzymatique de la GPx 1 érythrocytaire chez les cas et les témoins.....	21
Figure 5 : Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et l'IMC des diabétiques.....	22
Figure 6 : Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et l'IMC des témoins.....	23
Figure 7 : Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et l'âge des diabétiques.....	24
Figure 8 : Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et l'âge des témoins.....	24
Figure 9 : Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et l'HbA1c des patients.....	25
Figure 10 : Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et la glycémie des patients.....	26

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taux de l'HbA1c comme critère diagnostique	4
Tableau 2 : Classification étiologique du diabète sucré.....	5
Tableau 3 : Les isoenzymes de glutathion peroxydase.....	13
Tableau 4 : Caractéristiques de la population d'étude.....	19
Tableau 5 : Association entre l'activité de la GPx1 et les paramètres continus..	22

Liste des abréviations

- ADA : American Diabetes Association
- AGE : Advanced Glycation End products
- ARNm: Acide Ribonucléique messenger
- CAT : Catalase
- Cu : Cuivre
- DAG : Diacylglycérol
- DNID : Diabète Non Insulino-Dépendant
- DT2 : Diabète de Type 2
- EAA : Espèce Azotée Active
- EDTA : Acide Éthylène Diamine Tétracétique
- EOA : Espèce Oxygéné Active
- ERO : Espèce Réactive Oxygéné
- FID : Fédération Internationale du Diabète
- GLUT4 : Glucose Transporter type-4
- GPx : Glutathion Peroxydase
- GR : Glutathion Réductase
- GSH : Glutathion réduit
- GSSG : Glutathion oxydé
- HbA1c : Hémoglobine glyquée
- HDL : Lipoprotéine de haute densité
- H₂O : Eau
- H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène
- HTA : Hypertension Artérielle
- ICAM : Intercellular Adhesion Molecule
- IMC : Indice de Masse Corporelle
- LDL : Low Density Lipoprotein

MG : Méthylglyoxal

MAP K : Mitogen-activated protein kinase

Mn : Manganèse

MODY: Maturity Onset Diabetes of the Young

NAD : Nicotinamide Adénine-dinucléotide

NAD⁺/ NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NADPH₂ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit

Na-K-ATPase : la pompe Na/K dépendant de l'ATP

NF_κB : Nuclear transcription Factor _κB

NO : monoxide d'azote

1O₂ : Oxygène singulet

O₂ : Oxygène

O₂⁻ : Anion superoxyde

OH : Radical hydroxyle

OMS : Organisation Mondiale de Diabète

OONO : Peroxynitrite

pH : potentiel hydrogène

PKC : Protéine Kinase C

RAGE : Receptor Advanced Glycation End products

RNS : Reactive Nitrogen Species

ROS : Reactive Oxygen Species

ROO : Radical peroxyde

ROOH : hydroperoxyde organique

Se : Sélénium

SNS : Système Nerveux Sympathique

SOD : Superoxyde Dismutase

tBOOH : terbutyl-hydroperoxyde

VCAM : Vascular Cell Adhesion Molecule

VLDL : Lipoprotéine de très haute densité

Zn : Zenc

Liste des signes :

cm : centimètre

kg/m² : kilogramme par mètre carré

g/l : gramme par litre

mmol/L : milimole par litre

nm : nanomètre

tr/min : tour par minute

U/g Hb : unités d'enzyme par gramme d'hémoglobine

μL : microlitre

Table des matières

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Partie 1 : Synthèse bibliographique

1. Le diabète sucré

1. Définition.....	3
2. Les facteurs de risque associés au diabète.....	3
3. Critères de diagnostic.....	4
4. Classification du diabète.....	4
4.1. Diabète de type 2.....	6
4.1.1. Résistance à l'insuline.....	6
4.1.2. Intolérance au glucose.....	7
4.1.3. Dyslipidémie diabétique.....	7
4.1.4. Hypertension artérielle.....	7
5. La glucotoxicité.....	7
5.1. Protéine kinase C.....	8
5.2. Voie des polyols.....	8
5.3. La glycosylation non enzymatique ou glycation.....	8
6. Complications du diabète.....	9

2. Stress oxydant et système antioxydant

1. Définition.....	10
2. Les espèces réactives oxygénées.....	10
2.1. Les radicaux libres.....	10

2.2. Les espèces non radicalaires.....	11
3. Systèmes de défenses antioxydants.....	11
3.1. Le glutathion réduit.....	11
3.2. Les superoxydes dismutases.....	11
3.3. La catalase.....	12
3.4. Les glutathions peroxydases.....	12
3.4.1. Les GPxs séléno-dépendantes.....	12
3.4.2. Les GPxs séléno-indépendantes.....	13
3.5. La glutathion réductase.....	14
3. Diabète et stress oxydant.....	14

Partie 2 : Matériel et méthodes

1. Population d'étude.....	16
2. Facteurs d'inclusion et d'exclusion.....	16
2.1. Facteurs d'inclusion.....	16
2.2. Facteurs d'exclusion.....	16
3. Sources des données.....	16
4. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons.....	16
5. Dosage glycémique et enzymatique.....	17
5.1. Dosage du glucose et l'HbA1c.....	17
5.2. Dosage des glutathion peroxydases.....	17
a. Principe du dosage.....	17
b. Dosage de la GSH-Px érythrocytaire.....	18
c. Dosage de l'hémoglobine.....	18

6. Analyse statistique.....	18
-----------------------------	----

Partie 3 : Résultats et Discussion

1. Caractéristiques de la population étudiée.....	19
1.1. L'âge.....	19
1.2. Sexe.....	20
1.3. IMC.....	20
1.4. Glycémie.....	20
1.5. HbA1c.....	21
1.6. Niveau d'instruction.....	21
1.7. L'activité enzymatique de la GPx1.....	21
2. Analyse multivariée.....	22
2.1. Degré d'association entre les différents paramètres étudiés.....	22
Discussion.....	27
Conclusion.....	29
Références bibliographiques.....	30

Annexes

Introduction

Introduction

Le diabète est une maladie chronique qui constitue un problème majeur de santé publique tant par sa prévalence en forte augmentation que par la gravité de ses complications et par son impact sur la qualité de vie des personnes atteintes (Fédération Internationale du Diabète, **FID, 2017**). Selon la FID, la prévalence mondiale du diabète en 2017 était de 425 millions, soit 17,5% de la population adulte du globe dont 221,0 millions d'hommes diabétiques pour 203,9 millions de femmes diabétiques. Elle estime que cette prévalence passera de un adulte sur onze en 2017 à un adulte sur dix en 2045 soit 628,6 millions de diabétiques dans le monde. Ainsi la prévalence du diabète devrait augmenter à 9,7% chez les femmes et 10,0% chez les hommes (**FID, 2017**).

En Algérie, le nombre estimé de personnes adultes (20-79 ans) atteintes de diabète selon la 7^{ème} édition de l'atlas du diabète de la FID (2015) est de 2,37 millions.

Le diabète sucré est un désordre métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique et une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique. Il résulte d'une déficience de la sécrétion et/ou de l'activité de l'insuline. On distingue quatre types de diabète : type 1, type 2, diabète gestationnel et les autres types (parmi lesquels des déficiences génétique conduisant à un déficit en insuline, des altérations génétiques des cellules bêta pancréatique, des diabètes mitochondriaux, et plusieurs endocrinopathies ou maladies du pancréas). La majorité des cas de diabète sont représentés par le diabète de type 1 et de type 2 (respectivement environ 15% et 80% des cas), le reste étant constitué par des formes plus rares, telles que les diabètes MODY « maturity-onset diabetes of the young » représentant moins de 5% des cas (**Bonnefont-Rousselot et al, 2004**).

De nombreuses études suggèrent que le diabète s'accompagne d'un stress oxydant qui favorise le développement de la maladie en perturbant l'insulino-sécrétion, en favorisant l'insulino-résistance et les complications cardiovasculaires qui y sont associées. Ce stress oxydant est dû à une rupture de l'équilibre physiologique qui existe dans l'organisme entre les molécules oxydantes et les systèmes de défenses antioxydants (**Grassi et al, 2005**).

Le stress oxydant peut être étudié soit par la mesure des oxydants comme les radicaux libres et les peroxydes ou soit par la mesure des défenses antioxydantes. Le système glutathion fait partie des antioxydants les plus communs de l'organisme et permet de métaboliser le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), lequel est généré continuellement par les mitochondries (**Santini et al, 1997 ; Sies, 1993**). Des concentrations circulantes faibles de glutathion ont été

Introduction

rapportés chez des individus obèses et obèses diabétiques de type 2 comparativement à des sujets non obèses en santé (**Di Renzo et al, 2010 ; Kocic et al, 2007**).

La glutathion peroxydases (GPx) est une famille d'enzymes antioxydantes, leur principale fonction est de neutraliser le peroxyde d'hydrogène ainsi que les hydroperoxydes organiques à l'aide d'un cofacteur qu'est le glutathion aux niveaux intracellulaire et extracellulaire (**Brigelius, 1994**).

L'objectif de cette étude analytique est d'évaluer la situation de stress oxydant chez des diabétiques de type 2 de la Wilaya de Tlemcen, par la mesure de l'activité de la GPx1 qui semble avoir une valeur prédictive pour le diabète afin de mieux comprendre son étiologie et prévenir ses complications.

Synthèse bibliographique

I. Le diabète sucré

1. Définition :

Le diabète est défini comme une affection métabolique d'étiologie diverses, caractérisé par une hyperglycémie liée à une déficience soit de la sécrétion, soit de l'action de l'insuline sur les tissus cibles, ou l'association des deux. L'insuline est une hormone produite par le pancréas, indispensable à la pénétration du glucose sanguin dans les cellules. Lorsqu'elle fait défaut, le taux de sucre augmente dans le sang, or l'organisme est très sensible à ces variations (**Fédération Internationale du Diabète, 2011**). La chronicité de l'hyperglycémie est responsable de complications à long terme touchant de nombreux organes notamment les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (**Fédération Internationale du Diabète, 2011**).

Le diabète de type 2 dû à une perte progressive de la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas fréquemment dans le contexte de la résistance à l'insuline (**Kalra et Ruder, 2018**).

2. Les facteurs de risque associés au DT2 :

Ces facteurs reposent sur une prédisposition génétique aggravée par des facteurs d'environnement.

L'hérédité : Dans la plupart des cas de diabète de type 2, on retrouve un antécédent de diabète familial. De nombreuses études convergent pour affirmer que le diabète de type 2 est une maladie polygénique, cependant les gènes de susceptibilité ne sont pas clairement définis (**I Coulibaly, 2010**).

L'obésité : La majorité des auteurs sont unanimes sur le rôle joué par l'obésité dans l'apparition du diabète de la maturité. Un IMC (l'indice de masse corporelle selon Quételet) supérieur ou égal à 30 kg/m^2 et surtout l'obésité abdominale définie par un tour de taille supérieur ou égal à 94 cm chez l'homme et 80 cm chez la femme constituent un facteur de risque de DT2 (**Bagbila, 2019**).

La sédentarité : est un facteur de risque de l'environnement permet de prévenir et/ou retarder l'évolution vers un DT2, comme le mode de vie malsain et l'inactivité physique (**Fery et Paquot, 2005 ; Faraj, 2019**).

L'âge : L'âge aussi est un facteur de risque important de survenue du diabète de type 2 à partir de 40 ans, du fait de l'augmentation de la masse de graisse et de l'insulinorésistance (Camara, 2010).

3. Critères de diagnostic :

Selon les recommandations de l'OMS et l'ADA le diagnostic du diabète peut être établi de trois façons différentes, qui, en l'absence d'une hyperglycémie évidente devront être confirmées par une deuxième mesure :

- Symptômes du diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement inexplicé, somnolence voire coma) et glycémie quelle que soit l'heure >ou égale à 2,00 g/l (11,00 mmol/l).
- Deux glycémies à jeun supérieures ou égales à 1,26 g/l (7,00 mmol/l), le jeûne étant défini comme l'absence de prise calorique depuis au moins 8 heures.
- Glycémie 2h après une charge de 75 g de glucose lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale supérieur ou égale à 2,00 g/l (11,1 mmol/l), et comme diagnostic de l'intolérance au glucose un niveau compris entre 1,40 (7,8 mmol/L) et 2 g/L.
- L'hémoglobine glyquée est proposée comme test diagnostique quand c'est la glycémie qui jusqu'à présent était le critère admis de tous (Tableau 1).

Tableau 1. Taux de l'HbA1c comme critère diagnostique.

Taux HbA1c	Interprétation
< 6%	Valeur normale
6 – 6,5	Population à haute risque de devenir diabétique
> 6,5	Diagnostic de diabète

4. Classification du diabète :

La majorité des cas de diabète peuvent être classés en 2 catégories : le diabète de type 1 et le diabète de type 2, bien que dans certains cas sont difficiles à classer. La classification du diabète proposé par l'OMS tient compte à la fois de l'étiologie de la pathologie diabétique et de la nécessité vitale ou non du traitement insulinaire (Tournant et al, 1998 ; Maloney et al,

2017 ; Punthakee et al, 2018). Le diabète sucré est divisé en 4 classes qui sont résumés par le tableau 2 :

Tableau 2. Classification étiologique du diabète sucré (Rodier, 2001).

Diabète sucré de type 1 a-Auto-immun (trouble des cellules β) b- Idiopathique (rare, sans élément pour facteur auto-immune)
Diabète sucré de type 2 a-Résistance à l'insuline b-Défaut de sécrétion d'insuline
Types spécifiques de diabète a-Défaut génétique de la fonction des cellules β (Maturity Onset Diabetes of the Young: MODY). b-Défaut génétique dans l'action de l'insuline c-Diabètes pancréatiques d-Endocrinopathies (acromégalie, syndrome de Cushing, phéochromocytome, syndrome de Conn, autres) e-Induit par les médicaments (stéroïdes, pentamidine, acide nicotinique, diazoxyde, thiazides, inhibiteurs de la protéase, autres) f-Infections (rougeole congénitale, oreillons, virus Cocksackie, cytomégalovirus) g-Formes rares de diabète immunogène (syndrome de Stiff-Man, anticorps antiinsuline-récepteurs, autres) h-Autres syndromes génétiques associés au diabète (trisomie 21, syndrome de Klinefelter, syndrome de Turner, dystrophie myotonique, autres)
Diabète gestationnel

4.1. Diabète de type 2 (DT2):

Le diabète de Type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID) est de loin la forme de la maladie la plus fréquente puisqu'elle présente 90% des cas mondiaux. Il est aussi appelé « diabète mature ou diabète gras » car il survient le plus souvent chez l'adulte, autour de la cinquantaine, sa prévalence augmente avec l'âge (**Peter-Riesch et al, 2002**).

Le diabète de type 2 est caractérisé par l'association d'une insulino-résistance et d'une carence relative en insuline. Ces deux composantes contribuant à l'hyperglycémie dans une proportion variable selon les patients et le stade évolutif de la maladie, essentiellement en raison du tarissement progressif de l'insulinosécrétion, ce qui impose une stratégie thérapeutique dynamique en fonction de la progression de l'affection (**Scheen et Paquot, 2009**).

Les diabétiques de type 2 présentant au départ des concentrations élevées d'insuline circulante, conséquence de l'insulino-résistance. Cette hyperinsulinémie n'est toutefois pas suffisante pour maintenir une norme glycémie (la diminution de la sensibilité tissulaire à l'action de l'insuline touchant le foie et le muscle, ainsi que le tissu adipeux ; excès de lipolyse avec taux élevés d'acides gras libres circulants, qui contribuent à accentuer l'insulino-résistance hépatique et musculaire et aggravent le défaut de la sécrétion d'insuline). La sécrétion d'insuline diminue généralement de manière progressive, conduisant, dans un délai plus ou moins long, à une insulino-pénie sévère (insulinoréquérance) à cause des pertes quantitatives de cellule β (**Didier et al, 2011; Halimi et al, 2008**).

4.1.1. Résistance à l'insuline :

Les mécanismes actuellement reconnus à l'origine de la résistance à l'insuline sont, d'une part, la diminution de phosphorylation de la tyrosine kinase du récepteur à l'insuline au niveau du foie ou sa forte dégradation au niveau des muscles et des tissus adipeux, d'autre part, les anomalies des transporteurs spécifiques du glucose (GLUT 4) au sein du tissu adipeux et du muscle squelettique. Elles portent sur la synthèse, la translocation ou la fonction de ces transporteurs (**Zhand, 2002 ; Cohen, 1996**). Ces anomalies portent également sur le métabolisme intracellulaire du glucose, avec notamment une diminution marquée de la capacité de l'insuline à stimuler la glycogène synthase musculaire, enzyme limitante de la synthèse du glycogène (**Groop, 1993**).

4.1.2. Intolérance au glucose :

Les défauts d'action de l'insuline dans le métabolisme du glucose entraînent des déficiences de la capacité de l'hormone d'une part à supprimer la production hépatique de glucose, et d'autre part à induire la capture et l'utilisation du glucose dans les tissus insulinosensibles. La relation entre insulino-résistance et intolérance au glucose est bien connue : afin de compenser ses défauts d'action, l'organisme est capable de modifier la sécrétion et/ou la clairance de l'insuline (**Paneni et al, 2014**) pour maintenir une glycémie normale. Lorsque la sécrétion d'insuline commence à diminuer et devient insuffisante pour maintenir l'équilibre glycémique, l'organisme devient intolérant au glucose et des phases d'hyperglycémie apparaissent, notamment en périodes postprandiales.

4.1.3. Dyslipidémie diabétique :

L'insulinorésistance est un facteur majeur en cause dans la dyslipidémie du DT2. La dyslipidémie du DT2 est caractérisée par des anomalies quantitatives ; l'hypertriglycéridémie et la diminution du HDL-cholestérol et des anomalies qualitatives comprennent une augmentation des VLDL de grande taille enrichies en cholestérol estérifié et des LDL petites et denses, ainsi qu'une augmentation des triglycérides au sein des LDL et des HDL, une glycation des apolipoprotéines, et une augmentation de la susceptibilité des LDL à l'oxydation (**Vergès, 2019**).

4.1.4. Hypertension artérielle :

La prévalence de l'HTA était corrélée au degré d'insulinorésistance et à l'insulinémie. L'effet hypertenseur de l'insuline peut relever d'une action de l'hormone sur le SNS, une diminution de la stimulation de la Na-K-ATPase par l'insuline qui conduit à la diminution de l'activité de la Na-K-ATPase des cellules musculaires lisses vasculaires peut donc augmenter le tonus vasculaire et conduire à une HTA. De plus, l'insuline stimule la réabsorption rénale du sodium. Elle pourrait être à l'origine d'une inflation hydrosodée (**Feraille et al, 1990**).

5. La glucotoxicité :

Plusieurs mécanismes peuvent être impliqués dans la genèse d'un stress oxydant dans des conditions d'hyperglycémie chronique : surproduction mitochondriale des radicaux superoxydes par activation de la protéine kinase C, voie des polyols, et formation de produits de glycation avancée.

5.1. Protéine kinase C :

L'hyperglycémie intracellulaire augmente la synthèse de DAG qui active des isoformes de la PKC. Par cette voie, les cellules vasculaires sont capables de produire des ERO via l'activation des NAD(P)H oxydases (**Bonnefont-Rousselot et al, 2004**).

5.2. Voie des polyols :

L'augmentation de glucose intracellulaire active la voie des polyols et contribue à la diminution des défenses antioxydantes. En présence du NADPH₂ et sous l'effet de l'aldose-réductase, le glucose est réduit en sorbitol qui provoque un déficit intra-cellulaire de NADPH a pour conséquence une faible régénération du glutathion réduit à partir du glutathion oxydé. De plus, le sorbitol, en présence de la polyol-déshydrogénase et de NAD, peut être oxydé en fructose. La diminution du rapport NAD⁺/NADH conduit par ailleurs à une chute de l'activité glycolytique (**Sow et al, 2019 ; Brogard, 1992**).

5.3. La glycosylation non enzymatique ou glycation :

C'est une condensation entre la fonction réductrice d'un ose simple et les fonctions aminées libres portées par les groupements aminés des protéines tissulaires et circulantes pour former les produits de glycation avancées (AGE). Ces AGE proviennent d'un ensemble complexe de réarrangements et de réactions d'oxydation ultérieures. Ils s'accumulent notamment au niveau du collagène et de la membrane basale glomérulaire, ce phénomène augmentant en fonction de l'âge et du niveau de glycémie (**Chauveau, 2019**).

- **Formation des AGE :**

La réaction de glycation a été découverte par Maillard en 1912. Elle consiste en une réaction non enzymatique du glucose avec les protéines, généralement au niveau des fonctions aminées des résidus lysyls des chaînes polypeptidiques pour la formation précoce de produits d'Amadori, suivie de la production d'intermédiaires réactifs : glyoxal, méthylglyoxal (MG) et 3-déoxyglucosone, qui se lient à leur tour réagir avec des amines des protéines pour former de manière irréversible des composés complexes AGEs ou produits de Maillard.

Les AGE sont capables de produire des radicaux libres oxygénés par des mécanismes biochimiques complexes. Ils interagissent avec des récepteurs spécifiques (RAGE) et induisent un stress oxydant, en conduisant notamment à l'expression de molécules d'adhésion et d'adhésivité de l'endothélium vasculaire ainsi que les AGE circulent dans le sang et sont

éliminés par voie rénale qui provoque une insuffisance rénale. Toutefois, des polymorphismes ont été récemment identifiés dans le gène RAGE. Donc, ils semblent être l'un des facteurs génétiques capables d'influencer la susceptibilité interindividuelle au stress oxydant dans le diabète. À ce jour, près de 25 structures d'AGEs ont été identifiées dans l'organisme humain (Bonnefont-Rousselot et al, 2004).

6. Complications du diabète :

Malgré le développement des molécules normalisant la glycémie et l'amélioration de schémas thérapeutiques, le diabète sucré induit fréquemment l'apparition des complications aiguës ou chroniques (Jakuš, 2004). Les deux complications aiguës du diabète sont l'acidocétose et coma hyperosmolaire (Kitabchi et al, 2006 ; English, 2004). En outre des complications chroniques micro-vasculaire (microangiopathie) est en cause dans la néphropathie, rétinopathie et neuropathie diabétiques tandis que le macro-vasculaire (macroangiopathie) qui se manifeste par une atteinte cardio-vasculaires et une artérite des membres inférieurs. Ces effets délétères sont en grande partie liés à l'hyperglycémie (Poitout, 2008 ; Baron, 2002).

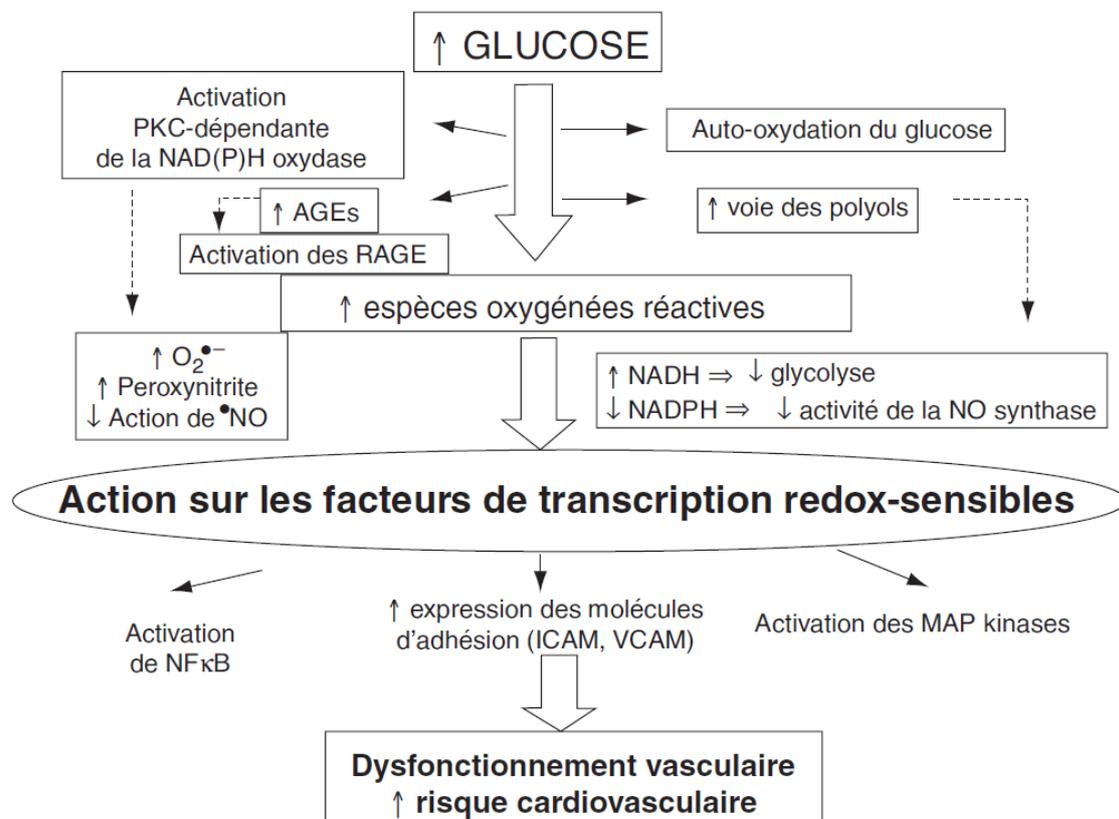


Figure 1 : Relation entre hyperglycémie chronique, stress oxydant, facteurs de transcription redox-sensibles et accroissement du risque cardiovasculaire.

II. Stress oxydant et système antioxydant

1. Définition:

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production d'oxydants, ou ROS, et les molécules antioxydantes en faveur des oxydants (**Wolin et al, 2005 ; Wiseman et al, 1996**), ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec une perturbation des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation (**Sergent et al, 2001**).

2. Les espèces réactives oxygénées (ERO) :

Les espèces oxygénées actives (EOA ou ROS ; Reactive Oxygen Species) sont également désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l'oxygène ou substances oxygénées réactives (**Robertson et al, 2007**). Les Espèces Oxygénées Activées (EOA) sont des molécules contenant de l'oxygène et qui ont une grande réactivité dans les réactions biochimiques des compartiments subcellulaire. Ce sont des molécules dotées de propriétés oxydantes et requièrent la présence des métaux de transition (**Favier, 2003**).

On distingue deux catégories d'EOA : les Radicaux Libres ou Espèces Radicalaires et les Espèces Non-Radicalaires.

2.1. Les radicaux libres :

Un radical libre est une substance chimique (atome, molécule, fragment de molécule) très réactive avec un ou plusieurs électrons solitaires sur leur couche externe qui recherche un partenaire pour sa stabilité selon un phénomène d'oxydation, il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (ex : $\bullet\text{OH}$). Plus récemment, les espèces azotées actives (EAA ou RNS ; Reactive Nitrogen Species) ont été définies comme un sous-groupe d'oxydants (**Benzie, 2003 ; Robertson et al, 2007**).

Les différents radicaux libres sont (**Favier, 2003**) :

- Anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$)
- Radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$)

- Radical peroxyde ($\text{ROO}\cdot$)
- Monoxyde d'azote ($\cdot\text{NO}$)
- Peroxynitrite ($\cdot\text{OONO}$)

Ces molécules se lient rapidement aux molécules non radicalaires à proximité, résultant généralement en la formation de nouveaux radicaux (Yu, 1994).

2.2. Les espèces non radicalaires:

Ces molécules sont généralement les précurseurs des radicaux libres. Ce sont des molécules d'une toxicité importante (Favier, 2003). Les espèces non-radicalaires sont :

- Oxygène singulet (1O_2)
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

3. Systèmes de défenses antioxydants :

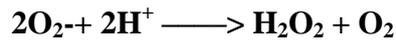
Les moyens de défenses de l'organisme contre les oxydants sont multiples. On peut les classer en 2 groupes : il y a les défenses enzymatiques avec le superoxyde dismutase, la catalase, ou la glutathion peroxydase et les mécanismes non-enzymatiques tel que le glutathion (Kilic et al, 2004).

3.1. Le glutathion réduit (GSH) :

C'est un tripeptide (L-y-glutamyl-L-cystéinyglycine) qui contient un groupement thiol libre apporté par la cystéine (Lushchak, 2011). La forme réduite du glutathion (GSH) est le régulateur majeur du redox intracellulaire et se trouve en abondance dans les cellules. Le glutathion agit comme un capteur direct des radicaux libres, un co-substrat pour l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase et de plusieurs autres enzymes (Meister, 1983 ; Josephy, 1997).

3.2. Les superoxydes dismutases (SOD) :

La SOD est une métalloprotéine qui intervenir dans la défense contre les dérivés toxiques de l'oxygène et induit par l'anion superoxyde selon la réaction suivante :

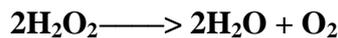


Il existe 03 isoformes décrites chez les mammifères (**Grégori, 1974 ; Crapo, 1974**) :

- Une forme cytosolique associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD)
- Une forme mitochondriale à manganèse (Mn-SOD)
- Une forme extracellulaire est aussi pourvu des ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD).

3.3. La catalase (CAT) :

C'est un tétramère qui comporte chacun un groupe hème comportant les sites actifs de cette enzyme et agit dans la détoxification cellulaire. Elle est localisée dans les peroxysomes et fortement exprimée dans les hématies, les hépatocytes et les cellules rénales. Cette enzyme est surtout active lorsqu'on trouve de fortes concentrations de H_2O_2 , selon l'équation :



3.4. Les glutathion peroxydases (GPxs) :

La glutathion peroxydase est une famille d'enzymes antioxydantes localisée dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcool. Lors de cette réaction, qui demande intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion disulfure (GSSG). La glutathion peroxydase est la seule enzyme à pouvoir neutraliser de très faibles concentrations de H_2O_2 .

Il existe 8 isoenzymes chez l'homme (**Tableau 3**) caractérisées par des fonctions similaires mais avec des modes d'action et des sites d'action différents (**Muller et al, 2007**).

Elles peuvent être classées en deux grands groupes :

3.4.1. Les GPxs séléno-dépendantes :

Les GPxs séléno-dépendantes sont caractérisées par la présence d'un atome de sélénium au niveau de leur site actif. Ce résidu sélénium est lié à une cystéine et forme le 21^{ème} acide aminé (**Mullenbach et al, 1987**).

Synthèse bibliographique

Des glutathion peroxydases à sélénium sont retrouvées dans le plasma (pGPx), le cytosol (cGPx), au niveau de la membrane cellulaire (phGPx), et une isoenzyme est spécifique aux cellules digestives (giGPx) ; (Ganther, 1999) qui les protègent du stress oxydant. On a cinq GPx séléno-dépendantes sont : GPx1-4, GPx6 (Alexander, 2015 ; Kryukov et al, 2003).

3.4.2. Les GPxs séléno-indépendantes :

Caractérisées par l'absence de Se au niveau de leur site actif. Les ARNm de ces enzymes ne possèdent pas de codon UGA codant pour une séléno-cystéine mais un codon UGC codant une simple cystéine. Les trois GPxs séléno-indépendantes sont : GPx5, GPx7, GPx8 (Tang et al, 1995).

Tableau 3. Les isoenzymes de glutathion peroxydase (Muller et al, 2007).

Gène	Locus	Enzyme
GPx1	Ch.3p21.3	Glutathion Peroxydase 1
GPx 2	Ch. 14q24.1	Glutathion Peroxydase 2
GPx 3	Ch. 5q32	Glutathion Peroxydase 3
GPx 4	Ch. 19p13.3	Glutathion Peroxydase 4
GPx5	Ch. 6p21.32	Glutathion Peroxydase 5
GPx6	Ch. 6p23	Glutathion Peroxydase 6
GPx7	Ch. 1p32	Glutathion Peroxydase 7
GPx8	Ch. 5q11. 2	Glutathion Peroxydase 8

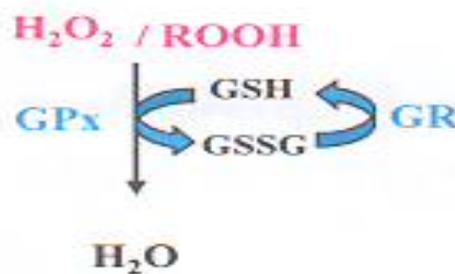


Figure 2. Mode d'action des GPx.

GR : glutathion réductase / GSH : glutathion réduit / GSSG : glutathion oxydé

3.5. La glutathion réductase (GSH-S-Transférerase) :

La glutathion réductase est une enzyme dépendante de NAD(P)H présents dans les globules rouges. L'enzyme catalyse la réduction du glutathion oxydé (GS-SG) sous sa forme réduite (GSH) (Medart, 2005).

En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction (Srinivason et al, 2012).

III. Diabète et stress oxydant

Le stress oxydant peut jouer un rôle important dans l'évolution du diabète et peut contribuer à la survenue des complications chroniques.

Le stress oxydant est une altération de l'homéostasie redox cellulaire. Elle est induite soit par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou de l'azote (ERA), soit par une déplétion des capacités de défense antioxydante (Sow et al, 2019).

Les études de biologie moléculaire indiquent que le stress oxydant altère les voies de signalisation intracellulaire menant à la résistance à l'insuline. L'oxydation du glucose et des acides gras dans le cycle de Krebs génère du NADH mitochondrial et des ROS. Dans le contexte de l'obésité, le NADH en excès est transformé en radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène, lequel altère la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques et interfère avec la voie de signalisation intracellulaire de l'insuline (Hansen et al, 1999), contribuant ainsi au développement de la résistance à l'insuline (Bruce et al, 2003).

L'hyperglycémie augmente l'intensité de la glycation non enzymatique. Cette réaction conduit à la formation des produits de glycation avancés (AGE), qui modifient la structure et les fonctions des protéines. Les liens entre glycation et stress oxydant sont très étroits. Plusieurs axes de recherche ont examiné le rôle du stress oxydatif sur l'apparition et le développement des troubles diabétiques éventuellement via la formation des radicaux libres oxygénés (Sow et al, 2019).

Les études montrent que les patients diabétiques ont une protection antioxydante significativement déficiente susceptible d'augmenter leur vulnérabilité aux dommages oxydatifs et de favoriser le développement de complications diabétiques (Nourooz-Zadeh et al, 1997).

Synthèse bibliographique

Par rapport aux autres cellules de l'organisme, les cellules β sont plus sensibles au stress oxydatif pour trois raisons :

- Une activité métabolique élevée ;
- Une activité anti-oxydante faiblement exprimée: faible concentration en Cu/Zn superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase ;
- Un faible contenu en glutathion réduit.

Cette fragilité des cellules β au stress oxydatif est suggérée d'être impliquée, par effet d'apoptose, dans l'apparition des troubles de l'insulinosécrétion et de la sensibilité à l'insuline qui caractérisent le pré-diabète, la progression du DT2 et la destruction des cellules β (**Lenzen, 2008**).

Matériel et Méthodes

1. Population d'étude :

Il s'agit d'une étude cas/témoins, la population cible était composée de 15 diabétiques de type 2 ainsi que 29 témoins en bonnes santé.

Les prélèvements du sang avaient eu lieu au niveau du laboratoire d'analyse de l'hôpital de Remchi.

Les dosages sont réalisés dans le laboratoire Chimie Analytique et Electrochimie, au sein du département de Biologie, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, Terre et Univers, Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen.

2. Facteurs d'inclusion et d'exclusion :

2.1. Facteurs d'inclusion:

- Tout patient de la Wilaya de Tlemcen, atteint de diabète de type 2 et qui a consenti librement à participer à l'étude.

2.2. Facteurs d'exclusion:

- Les sujets non consentants.
- Témoins présentant une maladie chronique ou autre.

3. Sources des données :

La collecte des données a été faite par utilisation d'un questionnaire comprenant différentes items tels que l'âge, le sexe, taille, poids, IMC, la fonction, type d'habitation et d'autres paramètres essentiels de manière à faciliter leur exploitation (Annexe I).

4. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons :

Les prélèvements sanguins ont été réalisés sur la veine du pli du coude. Le sang prélevé est recueilli dans des tubes héparinés qui sont étiquetés et centrifugés par la suite à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Le plasma est conservé dans des eppendorffs pour le dosage du glucose et des marqueurs plasmatiques (GPx3) pour des études ultérieures.

Le culot restant est récupéré et lavé avec l'eau physiologique. La lyse des érythrocytes se fait par l'addition d'eau distillée glacée (dilution 1/5^{ème}), suivi par incubation pendant

15 minutes au réfrigérateur (4°C). Les tubes sont ensuite centrifugés à 4000 tr/min pendant 10 minutes afin d'éliminer les débris cellulaires.

Le surnageant récupéré constitue le lysat érythrocytaire qui servira pour le dosage de GPx1.

5. Dosage glycémique et enzymatique :

5.1. Dosage du glucose et l'HbA1c :

La glycémie avait été déterminée par la technique enzymatique au glucose oxydase–peroxydase (Randox, Antrim, UK) et l'HbA1c par la technique microchromatographique sur colonne utilisant une résine échangeuse d'ions (Human, Wiesbaden, Germany). Elle est fondée sur la fixation d'hémoglobine non glyquée sur la résine tandis que la fraction glyquée HbA1c reste dans le surnageant qui est rapidement séparé.

5.2. Dosage des glutathions peroxydases :

Ces enzymes antioxydantes sont présentées dans différentes matrices, nous avons choisi de les doser au niveau du culot érythrocytaire.

a. Principe du dosage :

Toutes les techniques décrites reposent sur le même principe, en présence de glutathion réduit (GSH), la glutathion peroxydase réduit un hydroperoxydes (ROOH) tandis que le GSH est oxydé en glutathion disulfure (GSSG) (**Richard et al, 1997**).

La vitesse d'oxydation du GSH est mesurée en suivant la décroissance du NADPH consommé pour la réduction du GSSG par la glutathion réductase. Ce dosage en continu permet de maintenir constante la concentration du GSH dans le mélange réactionnel (**Richard et al, 1997**).

A partir de cette méthode, de très nombreuses variantes ont été décrites, le premier substrat utilisé a été le H₂O₂ (**Gunzler et al, 1974**). Dans la présente étude, la méthode utilisée est une adaptation de Gunzler et al, (1974) qui ont remplacé le H₂O₂ par le terbutyl-hydroperoxydes (tBOOH) très stable en solution aqueuse à 4°C.

La quantité de glutathion oxydé par le terbutyl était mesurée en suivant la décroissance d'absorption du NADPH à 340 nm. Ce dosage en continu (fait à 25°C et à pH 7) permet de maintenir constante la concentration du GSH dans le milieu réactionnel. Les résultats sont

exprimés en U/g d'hémoglobine pour la GSH-Px érythrocytaire ou en U/L pour la GSH-Px plasmatique; une unité étant définie comme une micromole de NADPH oxydée par minute. Le spectrophotomètre utilisé était de type Analytik Jena (Germany).

b. Dosage de la GSH-Px érythrocytaire :

On avait préparé un hémolysât au 1/2 dans le Drabkin du lysat de globules rouges, puis dans une microcuve avaient été mis dans l'ordre :

- 900 µL tampon Tris
- 25 µL hémolysât ou tampon tris pour le contrôle
- 20 µL Glutathion
- 20 µL Glutathion réductase
- 20 µL NADPH

On avait agité par retournement et on avait attendu une minute avant d'ajouter 20 µL de tBOOH.

Après agitation par retournement, l'évolution de la densité optique avait été suivie.

c. Dosage de l'hémoglobine:

Dans une cuve on avait mélangé 1mL de Drabkin dilué avec 20 µL du lysat au 1/10.

Attendre 20 mn après agitation par retournement, et noter l'absorbance de la solution à 546 nm.

6. Analyse statistique :

L'analyse statistique des données avait été effectuée par le logiciel MINITAB version 16 et Excel 2007. Les résultats sont exprimés pour les variables quantitatives en moyenne et écart-type.

Des tests paramétriques avaient été choisis. Le coefficient de corrélation r de Pearson avait été utilisé pour étudier le degré d'association entre deux variables. Il s'agit d'une analyse univariée.

La comparaison entre deux moyennes par le test « t » de Student, et le test du Khi 2 pour comparer entre les pourcentages.

Le seuil de significativité avait été fixé à $p < 0,05$.

Résultats et Discussion

1. Caractéristiques de la population étudiée :

Les caractéristiques de la population étudiée sont représentées dans le tableau 4.

Tableau 4. Caractéristiques de la population d'étude.

Caractéristiques	Cas	Témoins	P- valeur
Age (ans)	54 ±10.8	46.3±14.3	0,053
Sexe (%femme)	80	75.86	/
IMC (kg/m ²)	20.08 ± 5.10	25,818 ± 4,86	0,027
Glycémie (g/L)	1.62 ± 0.54	0.97± 0.018	<0.001
HbA1c (%)	8.50± 1.98	5.73 ± 0.38	<0.001
Niveau d'instruction%			/
Universitaire	33.33	24.13	0.001
Primaire	66.66	75.87	0.002
GPx1 (U/g Hb)	114.17 ± 51,96	117,75 ± 40,51	0,913

Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart-type. IMC : indice de masse corporelle (Poids (Kg)/Taille(m²)).

1.1. L'âge:

Les caractéristiques de la population étudiée montrent que l'âge moyen est de 54 ± 10 ,8 ans et 46,3 ± 14,3 ans pour les diabétiques de type 2 et les témoins respectivement (**Figure 3**).

La moyenne d'âge entre cas et témoins n'était pas significativement différent (P>0.05).

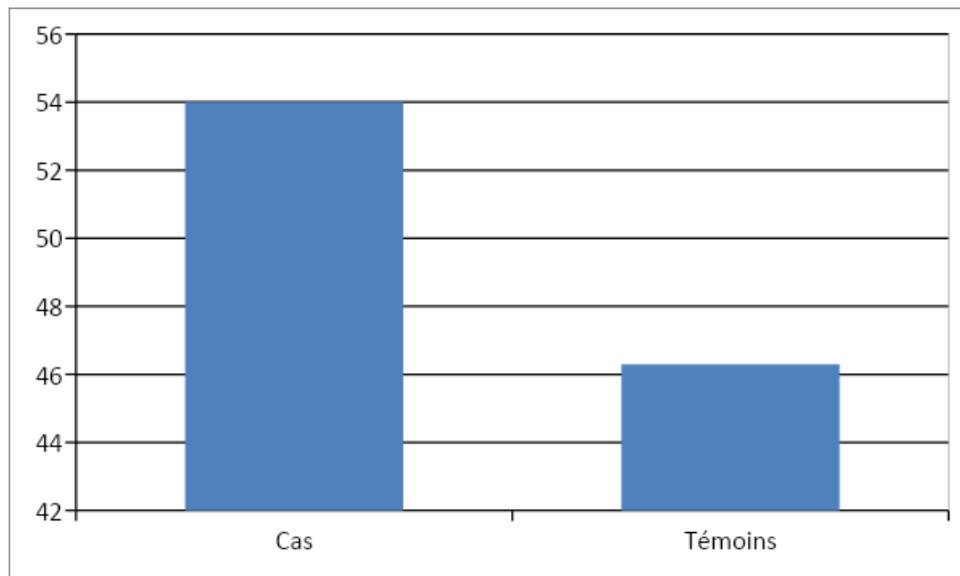


Figure 3. Histogramme des moyennes d'âge pour les diabétiques et les témoins.

1.2. Sexe :

Les femmes représentent 80% des sujets malades par rapport à 75,86% des sujets sains. On note que le diabète de type 2 touche plus des femmes que d'hommes.

1.3. IMC :

L'IMC avait été calculé par le ratio du poids en kg sur la taille en m². La moyenne de l'IMC de la population malade est de $20,08 \pm 5,10$ kg/m², celle des témoins est de $25,818 \pm 4,86$ kg/m².

Nous avons remarqué un poids normal chez nos diabétiques de type-2.

L'indice de masse corporelle (IMC) prouve une diminution significative chez les cas par rapport aux témoins ($P= 0,027 < 0,05$).

1.4. Glycémie :

La moyenne de la glycémie est $1,62 \pm 0,54$ g/L et $0,97 \pm 0,018$ g/L pour les malades et les témoins respectivement.

On note que la glycémie est plus élevée chez les cas par rapport aux témoins, la différence est hautement significative ($P < 0,001$) (**Tableau 4**).

1.5. HbA1c :

Chez les diabétiques de type 2, la moyenne de l'HbA1c est de $8,5 \pm 1,98$, celle des témoins est de $5,73 \pm 0,38$.

On constate que l'HbA1c prouve une augmentation hautement significative chez les malades par rapport aux témoins ($P < 0,001$) (**Tableau 4**).

1.6. Niveau d'instruction :

On remarque que plus de 33% des cas sont des universitaires, tandis que les témoins représentent 24,13% ($p < 0,05$) (**Tableau 4**).

1.7. L'activité enzymatique de la GPx1 :

L'activité de la GPx 1 est $114,17 \pm 51,96$ U/g Hb et $117,75 \pm 40,51$ U/g Hb, pour les cas et les témoins respectivement (**Figure 4**).

La moyenne de l'activité de la GPx entre cas et témoins n'était pas significativement différente ($P = 0,913 > 0,05$).

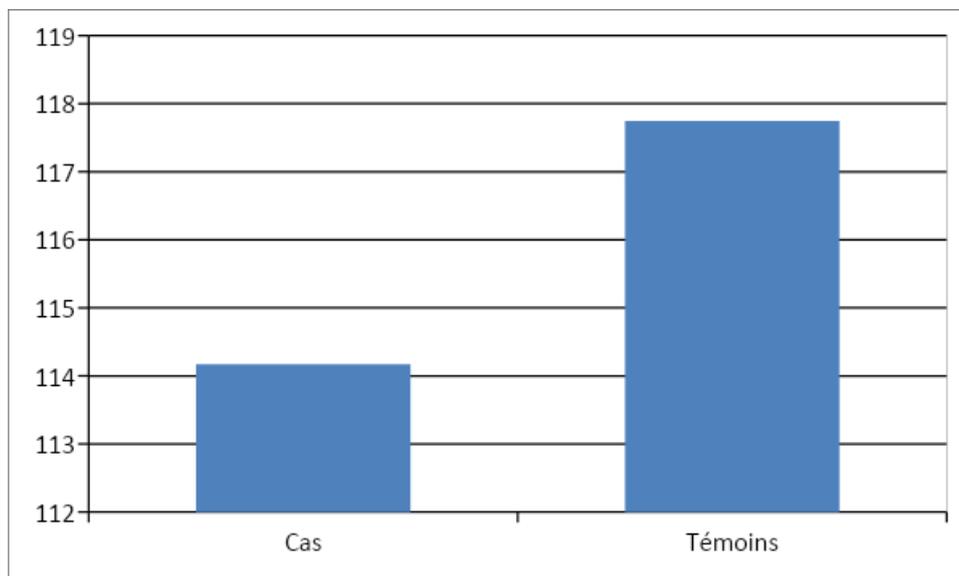


Figure 4. Histogramme de l'activité enzymatique de la GPx 1 érythrocytaire chez les cas et les témoins.

2. Analyse multivariée :

2.1. Degré d'association entre les différents paramètres étudiés :

La corrélation de Pearson avait été utilisée pour rechercher une éventuelle association entre la GPx 1, l'âge, l'IMC, HbA1c et la glycémie. Le tableau 5 regroupe les différents coefficients de corrélation, ainsi que la P-value correspondante. Aucune corrélation significative n'avait été observée ($P > 0,05$).

Tableau 5. Association entre l'activité de la GPx et les paramètres continus.

	Activité de la Gpx1 chez les cas		Activité de la Gpx1 chez les témoins	
	R	P	R	P
Age	-0,225	0.420	-0.05	0.795
IMC	0.175	0.533	-0.001	0.753
HbA1c	0.041	0.886	0.231	0.494
La glycémie	0.350	0.201	0.004	0.985

Les figures suivantes représentent les courbes de régression de ces corrélations.

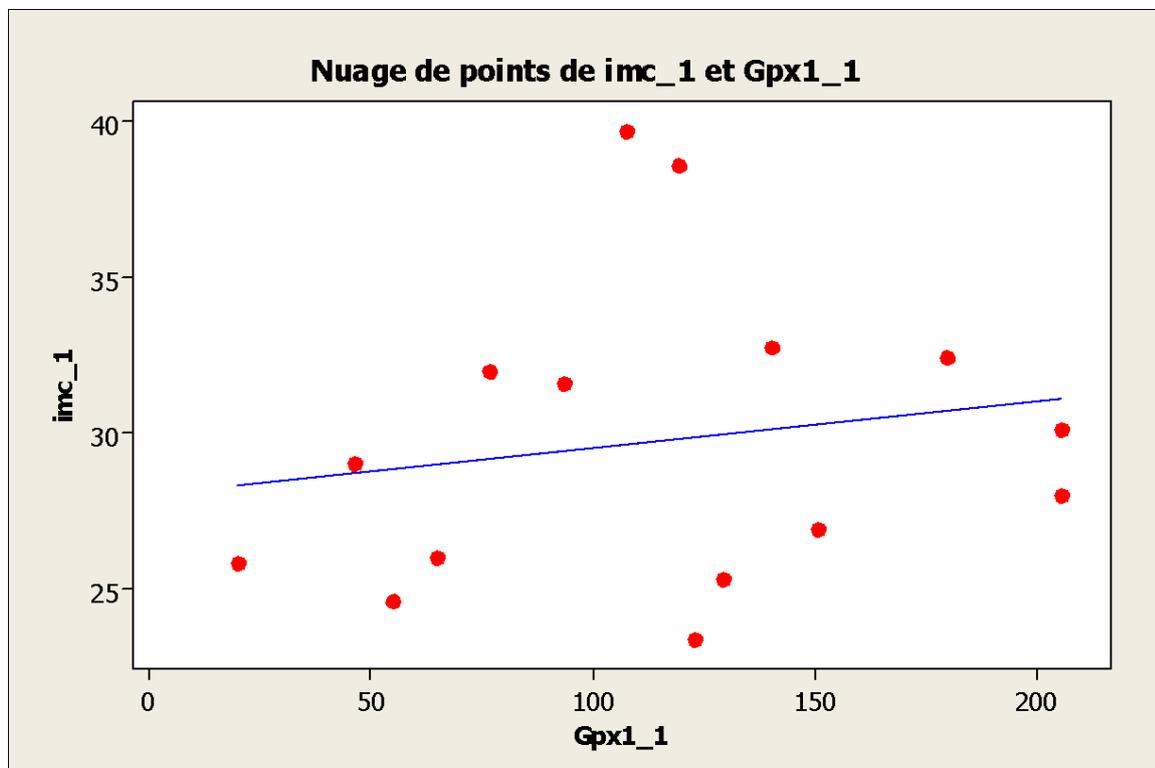


Figure 5. Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et l'IMC des diabétiques.

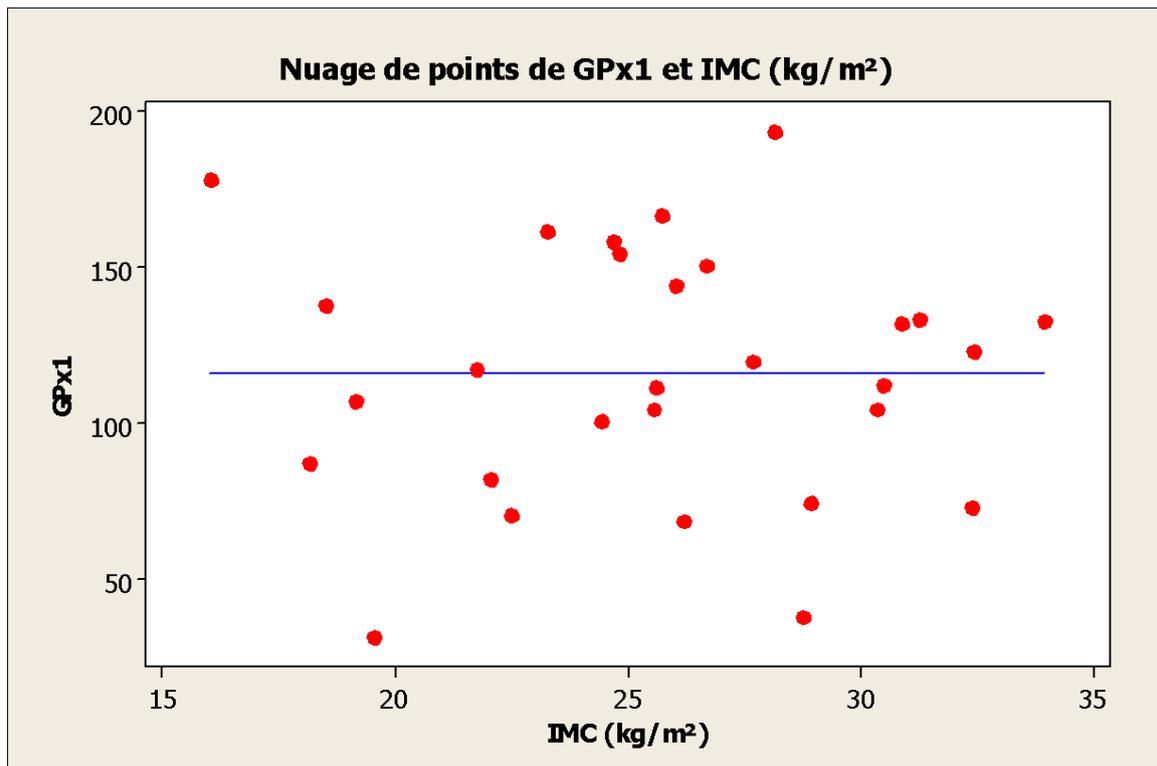


Figure 6. Courbe de régression liant l'activité de la Gpx 1 et l'IMC des témoins.

- On remarque selon la figure 5, une corrélation positive entre l'IMC et la GPx1 des diabétiques mais non significative. Chez les témoins, la corrélation observée est non significative. Les points de nuage sont disposés de façon aléatoire dans la figure 6.

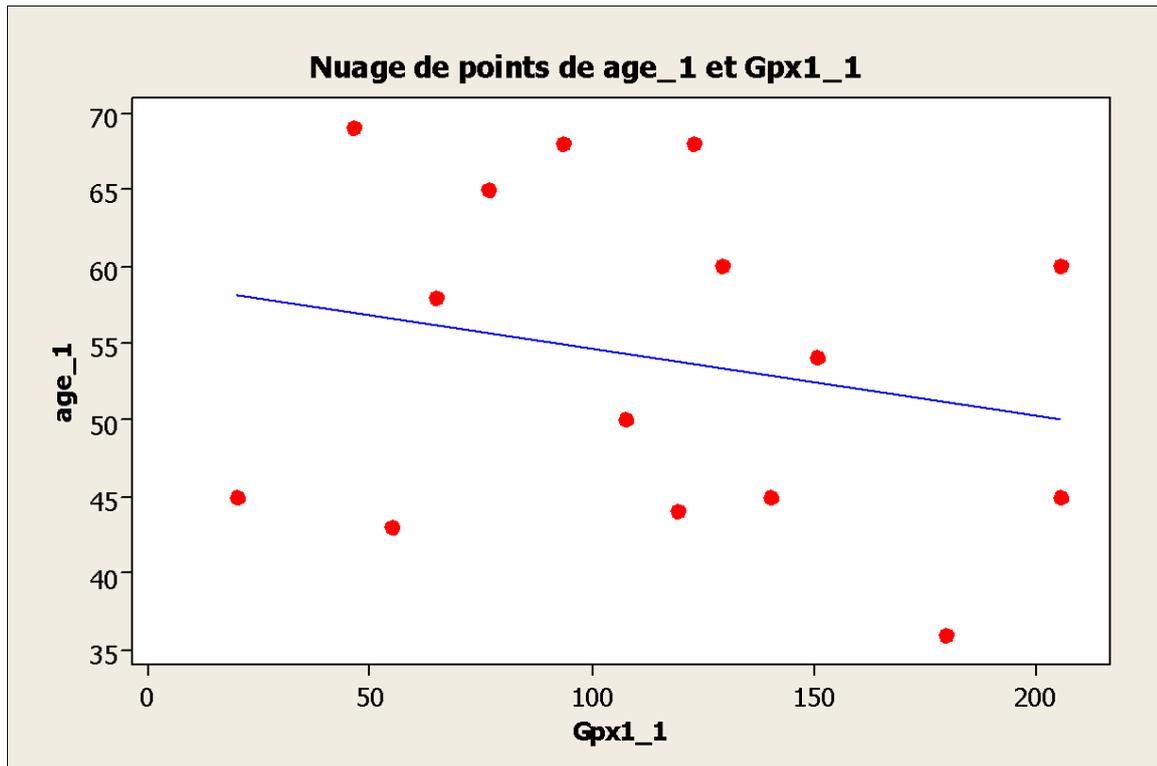


Figure 7. Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et l'âge des diabétiques.

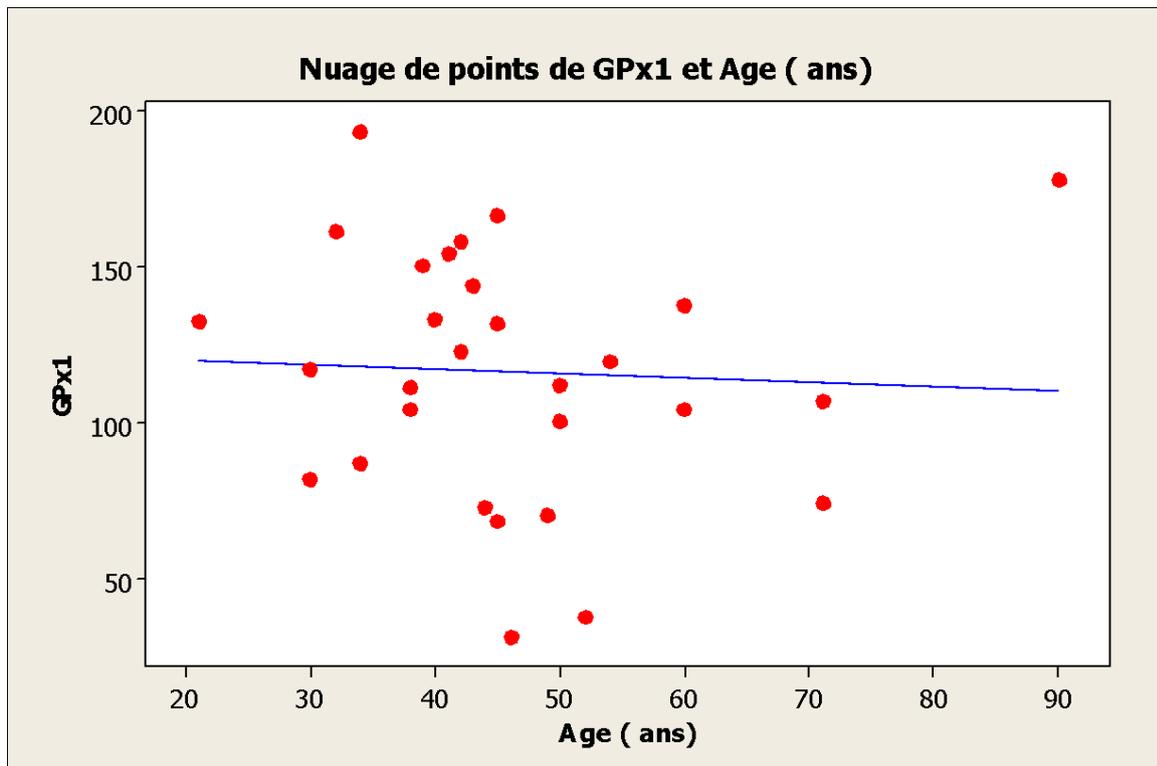


Figure 8. Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et l'âge des témoins.

- On note selon les figures 7 et 8, une corrélation inverse entre l'âge et la GPx1 des diabétiques et des témoins a été retrouvé mais de manière non significative. Les

points de nuage sont dispersés de façon plus aléatoire chez les diabétiques par rapport aux témoins.

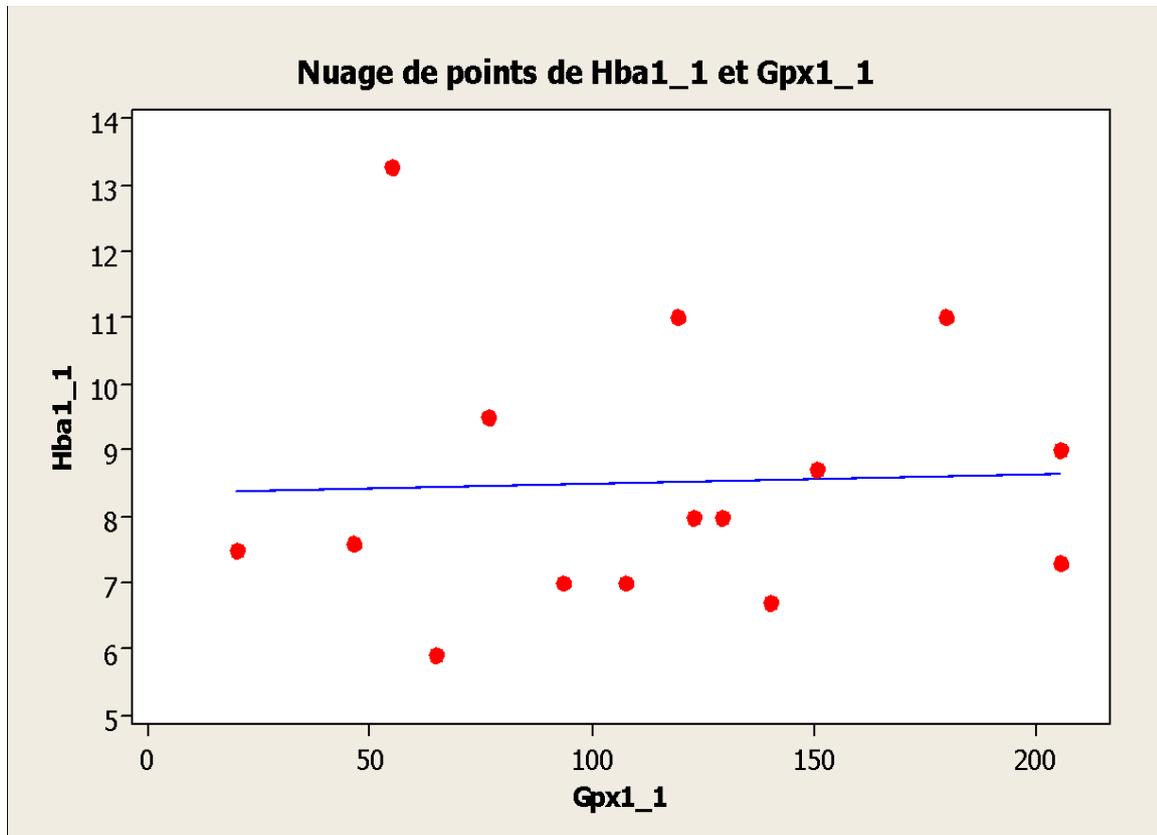


Figure 9. Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et l'HbA1c des patients.

- Une corrélation positive mais non significative entre l'HbA1c et la GPx1 des malades a été trouvée. Les points de nuage sont dispersés aléatoirement.

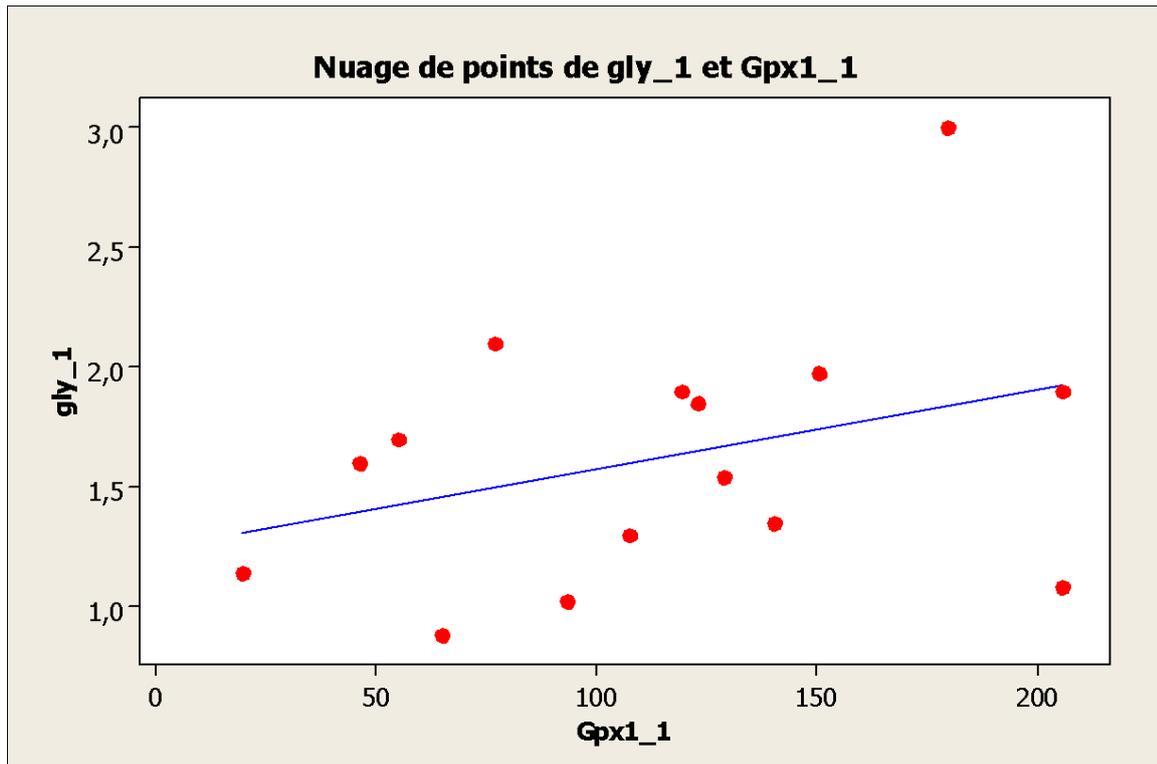


Figure 10. Courbe de régression liant l'activité de la GPx 1 et la glycémie des patients.

- Une corrélation positive mais de façon non significative entre la glycémie et la GPx1 des malades a été trouvée.

Discussion

Il existe une évidence croissante que les complications liées au diabète sont associées au stress oxydant, et que la production des radicaux libres augmente pendant le diabète (**Baynes, 1991 ; Armstrong et al, 1991**).

Cette étude a pour objectif principal de mesurer l'activité enzymatique de la GPx 1 érythrocytaire chez des diabétiques de type-2 par rapport aux témoins dans la ville de Remchi. Les principaux résultats de cette recherche ont montré que :

Les volontaires de l'étude sont à prédominance féminine dans les deux populations (cas et témoins) à raison de 80% à 75% respectivement.

Nos diabétiques avaient un IMC entre 20-25kg/m² (poids normal) qui indique une diminution vs les témoins en surpoids. Selon **Sow et al, 2019**, c'est le tour de taille supérieur à 80 cm chez les patients DT2, conséquence d'existence de l'obésité abdominale qui est un facteur de risque du diabète.

Les résultats sont en faveur d'un déséquilibre glycémique ainsi qu'un taux de l'HbA1c supérieur à 7%. Cette HbA1c reflète des hyperglycémies chroniques au cours des derniers mois chez le patient diabétique. Nos diabétiques de type-2 s'avèrent donc mal équilibrés et seraient exposés à l'apparition précoce des complications dégénératives. Ces résultats concordent avec ceux de **Kassab et al, 2003**.

La défense antioxydante endogène a été recherchée chez les diabétiques de type 2 ainsi que les témoins, par le dosage de l'activité de la Gpx1 afin d'explorer les informations pronostiques du diabète de type 2.

Rappelons que le rôle de la GPx 1 est important dans la défense des cellules contre les dommages oxydatifs causés par le H₂O₂ ainsi que par les hydroperoxydes de lipide. Récemment des travaux ont montré que le H₂O₂ agit en tant que second messager et qu'il est impliqué dans de nombreux processus biologiques, notamment les changements de morphologie, la prolifération, la signalisation (NF-KB), l'apoptose (**Sies, 2017**).

Nos résultats montrent que la concentration de l'activité enzymatique de la Gpx1 chez les DT2 (114,17±51,96 U/L Hb) n'est pas sensiblement différente par rapport aux témoins (117,75±40,51U/L Hb). La comparaison entre les deux groupes, patients DT2 et témoins ne

Discussion

présente pas de variation significative. Ce résultat est comparable à celui de Kassab et al, 2003.

Missaoui (2000) a trouvé une diminution significative de l'activité de la GPx chez les diabétiques moyennement équilibrés (HbA1c entre 8 et 10 %), alors qu'elle reste constante chez les diabétiques mal équilibrés. Cela pourrait être expliqué par une augmentation de l'activité enzymatique de la GPx comme réponse à l'hyperglycémie modérée (**Kassab et al, 2003**).

Une autre étude montre une diminution significative de la GPx et la SOD chez les diabétiques par rapport aux témoins (**Sow et al, 2019**).

Dans notre travail, nous avons analysé également, le degré d'association entre les paramètres anthropométriques (âge et IMC) et l'activité enzymatique de la GPx1.

L'activité de la GPx1 des malades est pratiquement indépendante de leur IMC. Cette conclusion est aussi valable en ce qui concerne l'âge, le coefficient de corrélation linéaire est $r = -0,225$ pour l'âge et $r = 0.175$ pour l'IMC. Ces résultats révèlent qu'il n'y a aucune corrélation linéaire significative entre les paramètres anthropométriques et l'activité enzymatique.

Par ailleurs, les polymorphismes mononucléotidiques (SNP) sont souvent utilisés dans les études d'association de maladies avec des gènes notamment pour les maladies multifactorielles.

Le polymorphisme le plus commun implique une substitution Leu à la place de Pro plus commun à l'acide aminé 197 en raison d'une substitution de T (codon, CTC) par un C (CCC) (**Forsberg, 2000**).

Les variants polymorphes de l'enzyme GPx1 pourraient hypothétiquement affecter l'activité de l'enzyme GPx et contribuer à la susceptibilité génétique au DT2, accélérant ainsi le stress oxydatif.

Conclusion

Conclusion

Le diabète de type 2 est la forme la plus fréquente de diabète sucré. L'incidence de ce type de diabète a considérablement augmenté en Algérie.

L'étude menée sur une population à prédominance féminine a montré que la glycémie et l'hémoglobine glyquée provenant des processus de glycation sont élevées au cours du diabète, ce qui risque de provoquer des complications à moyen et à long terme chez la population d'étude.

Chaque individu possède son propre potentiel antioxydant en fonction de son mode de vie, de ses caractéristiques génétiques ou de l'environnement dans lequel il vit.

Le dosage de la GPx1 réalisé, dans le cadre de notre travail montre une diminution non significative de l'activité enzymatique, ce qui concorde avec des études anciennes, alors que des études plus récentes montrent une diminution non significative de l'activité de l'enzyme dans le DT2.

Nous avons aussi constaté qu'il n'y a aucune corrélation significative entre l'activité enzymatique de la GPx1 et des paramètres tels que l'âge et l'IMC.

Le résultat de ce travail ouvre des perspectives dans la compréhension de la physiopathologie du diabète de type 2.

Les variations polymorphes de l'enzyme GPx pourraient hypothétiquement affecter l'activité de l'enzyme GPx et contribuer à la susceptibilité génétique au diabète type 2, accélérant ainsi le stress oxydatif.

Il convient d'approfondir d'avantage les recherches sur ces marqueurs antioxydants et ce en multipliant les études de cas afin de confirmer cette différence entre cas et témoins. Il convient par ailleurs de s'intéresser aux différents polymorphismes de cette enzyme en relation avec le diabète de type 2.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- A. Kassab, S. Laradi, S. Ferchichi, A. Omezzine, B. Charfeddine, H. Ammar, L. Chaieb, A. Miled. (2003). Paramètres du stress oxydant dans le diabète de type 2.
- Alexander, Selenium, in Handbook on the Toxicology of Metals (Fourth Edition).San Diego. 2015, 1175-1208.
- Baron, A. D. (2002). Insulin resistance and vascular function. J Diabetes Complications16, 92-102.
- Brigelius Flohe R, Aumann KD, BlockerH, GrossG, KiessM, KloppelKD, MaiorinoM, RoveriA, SchuckeltR, UrsiniF, WingenderE, FlohéL. "Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. Genomic DNA, cDNA, and deduced amino acid séquence. "JBiolChem, (1994); 269:7342-7348.
- Bruce, C.R., et al., Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes: evidence that insulin resistance is associated with a disturbed antioxidant defense mechanism. Diabetes, 2003. **52**(9): p. 2338-45.
- Camara A. Identification du risque podologique chez les patients diabétiques du CSRéf C.I, Bamako. www.keneya.net/2010/med/pdf.
- Chauveau P, et al. Place des recommandations hygiéno-diététiques dans la prévention de l'accumulation des produits de glycation avancée. Néphrologie 2019. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2019.05.005>.
- Cohen B, Novick D, Rubinstein M. Modulation of insulin activities by leptin. Science 1996; 274: 1185-1188.
- Crapo, J. D. and D. F. Tierney (1974). "Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity." Am J Physiol 226(6): 1401-7.
- D.Bonnefont-Rousselot, J.-L.Beaudeux, P.Thérond, J. Peynet, A. Legrand, J. Delattre, 2004. Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. [https://doi.org/10.1016/S0003-4509\(04\)94297-6](https://doi.org/10.1016/S0003-4509(04)94297-6).
- Didier C, Bordas-Fondrède, Chauffert M, Trivin F, Porquet D, Beurdeux JL, Durand G. le diabète sucré. Biochimie médicale, marqueurs actuels et prospectives, 2 eme édition revue et augmentée 2011; p : 211-238.
- Di Renzo, L., et al., *Oxidative stress in normal-weight obese syndrome*. Obesity (Silver Spring), 2010. **18**(11): p. 2125-30.
- E. FERAILLE, M. KREMPF, B. CHARBONNEL, J.BI BOUHOUB, G. NICOLAS, 1990. Hypertension artérielle de l'obèse, Rôle de l'hyperinsulinisme et de l'insulinorésistance. [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(05\)80861-6](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(05)80861-6).
- English P, Williams G. Hyperglycaemic crises and lactic acidosis in diabetes mellitus. Postgrad Med J 2004; 80:253—61.
- Favier A (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualitéChimique, 108 -115.

Références Bibliographiques

- Fédération Internationale de diabète (FID) Atlas 2017 (huitième édition). <https://www.diabetesatlas.org>
- Fery, Françoise., Paquot, Nicolas. Etiopathogenie et physiopathologie du diabète de type 2. (2005). <https://hdl.handle.net/2268/90456>.
- Ganther HE.1999. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis*. 20(19):1657-1666.
- Grassi D, Lippi C, Necozione S, Desideri G, Ferri C. Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *Am. J.*2005.
- Gregory, E. M., S. A. Goscin and I. Fridovich (1974). "Superoxide dismutase and oxygen toxicity in a eukaryote." *J Bacteriol* 117(2): 456-60.
- Groop LC, Kankuri M, Chalin-Jantti C. Association between polymorphism of the glycogen synthase gene and noninsulin- dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 328: 10-14.
- Halimi, S., Debaty, I., Villaret, L., Muller, M., 2008. Les nouveaux traitements du diabète de type 2 : quelle place pour les incrétines et le rimonabant par rapport aux précédents ? *La Rev. Médecine Interne* 29, 881–890. [doi:10.1016/j.revmed.2008.05.011](https://doi.org/10.1016/j.revmed.2008.05.011).
- Hansen, L.L., et al., Insulin signaling is inhibited by micromolar concentration of H₂O₂. Evidence for a role of H₂O₂ in tumor necrosis factor α mediated insulin resistance. *J Biol Chem*, 1999. **274**(35): p. 25078-84.
- I Coulibaly. Etude des Facteurs de Risques Cardiovasculaires chez les patients diabétiques à Bamako, Thèse, Med, Bamako, 2010 : 78-85.
- Jakuš V, Rietbrock N (2004). Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications. *Physiol. Res.* 53: 131 - 142.
- J.M.BROGARD*, F.CARO-SAMPARA, J.F.BLICKLÉ, 1992; 13: 69-79. Le rôle des polyols dans le développement des complications du diabète. Intérêt des inhibiteurs de l'aldose-réductase. [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(05\)80015-3](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(05)80015-3).
- Josephy, P.D., *Molecular Toxicology*. 1997, New York: Oxford University Press.
- Kalra S, Ruder S, 2018. Rubrivigilance in diabetes. *J. Pak. Med. Assoc.* 68,1132-1134.
- Kilic, M., Turgut, M., Taskin, E., Cekmen, M., & Aygun, A. D. Nitric oxide levels and antioxidant enzyme activities in jaundices of premature infants. *Cell Biochem.Funct.* 22,339-342 (2004).
- Kitabchi AE, Umpierrez GE, Murphy MB, Kreisberg RA. Management of hyperglycemic crises in patients with diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29:2739—48.
- Kocic, R., et al., *Susceptibility to oxidative stress, insulin resistance, and insulin secretory response in the development of diabetes from obesity*. *Vojnosanit Pregl*, 2007. **64**(6): p. 391-7.

- Lenzen, S., 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. doi:10.1007/s00125-007-0886-7
- Lena Forsberg, Ulf de Faire, Stefan L. Marklund, Peter M. Andersson, Birgitta Stegmayr, and Ralf Morgenstern. Phenotype Determination of a Common Pro-Leu Polymorphism in Human Glutathione Peroxidase 1.2000.
- Lushchak VI (2011). Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of Amino Acids*. 2012: 1-26
- Maloney J P, Branchford B R, Brodsky G L, Cosmic M S, Calabrese D W, Aquilone C L, Maloney K W, Gonzalez J R, Zhang W, Moreau K L, Wiggins K L, Smath N L, Brocckel U, Di Paolo J. 2017. The ENTPDI promoter polymorphism 860 A G (rs3814159) is associated with increased gene transcription, protein expression, CD39/NTPDase1 enzymatic activity, and thromboembolism risk *FASEB J* 31,2771-2754.
- May, Faraj (2019). Au delà du risqué cardiovasculaire: le rôle des lipoprotéines contenant l'apoB athérogènes dans l'étiologie du diabète de type 2 ; 1770.2.
- Medart J. 2005. Manuel pratique de nutrition, alimentation préventive et curative. *Ed de Boeck, Bruxelles pp 48*.
- Meister, A. and M.E. Anderson, Glutathione. *Annu Rev Biochem*, 1983. 52: p. 711-60.
- Mullenbach, G. T., A. Tabrizi, B. D. Irvine, G. I. Bell and R. A. Hallewell (1987). "Sequence of a cDNA coding for human glutathione peroxidase confirms TGA encodes active site selenocysteine." *Nucleic Acids Res* 15(13): 5484.
- Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H "Trends in oxidative aging theories". *Free Radical Biology & Medicine*. Aug 2007; 43 (4): 477–50.
- Noorooz-Zadeh J, Rahimi A, Tajaddine-Sarmadi J, Tritschler H, Rosen P, Halliwell B, Betteridge DJ, 1997. Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia*. 40(6):647-53.
- Paneni F, Costantino S, Cosentino F. (2014) Insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk. *Curr Atheroscler Rep*. 16(7):419.
- Peter-Riesch B, Philippe J, Stalder H. Découverte d'un diabète sucré, 2002.
- Poirout, V., Robertson, R.P., 2008. Glucolipotoxicity: Fuel Excess and β -Cell Dysfunction. *Endocr. Rev.* 29, 351–366. doi:10.1210/er.2007-0023
- Punthakee Z, Goldenberg R, Katz P, 2018.2018. Clinical Practice Guidelines Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome Diabetes. Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee.
- Richard MJ., Belleville FJ., Chalas I., Ceballos-Picot D., Vitoux MJ., Boyer Chaudière J., Favier A. 1997. Glutathion peroxydase : son intérêt en biologie clinique. *Ann Biol Clin*. 55 (3) : 195-208.

Références Bibliographiques

- Robertson R, Zhou H, Zhang T, Harmon JS. (2007). Chronic oxidative stress as a mechanism for glucose toxicity of the beta cell in type 2 diabetes. *Cell Biochem Biophys.* 48(2-3):139-46.
- Rodier M., 2001. Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire* vol.25 - n°2 : 91-93.
- Santini, S.A., et al., Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. *Diabetes*, 1997. **46**(11): p. 1853-8.
- Scheen, A.-J., Paquot, N., 2009. Quelle est la nouvelle donnée pour soigner les patients diabétiques de type 2 ? *Médecine Mal. Métaboliques* 3, 141–146. doi:10.1016/S1957-2557(09)71625-6.
- Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., Cillard, J., 2001. Alcool et stress oxydatif. *Pathol. Biol.* 49, 689–695. doi:10.1016/S0369-8114(01)00244-9.
- Sies, H., *Damage to plasmid DNA by singlet oxygen and its protection.* *Mutat Res*, 1993. **299**(3-4): p. 183-91.
- Sies, H, 2017. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress. *Oxidative eustress.* *Redox Biol.* 11, 613-619.
- Sow DS1, Traoré D3, Dramé BSI2, Konaté M1, Bah M1, Gninkoun CJ1, Traoré B1, Mariko M1, Traoré AK3, Sidibé AT1. Statut des marqueurs du stress oxydant au service de médecine interne et d'endocrinologie de l'hôpital du Mali. *MALI MEDICAL 2019 TOME XXXIV N°2.*
- Srinivasan VA, Raghavan VA, Parthasarathy S. (2012) Biochemical basis and clinical consequences of glucolipotoxicity: a primer. *Heart Fail Clin.* 8(4):501-11.
- Tang, L., K. Gounaris, C. Griffiths and M. E. Selkirk "Heterologous expression and enzymatic properties of a selenium-independent glutathione peroxidase from the parasitic nematode *Brugia pahangi*." *J Biol Chem.* 1995; 270(31): 18313-8.
- Tournant F, Heurtier A, Bosquet F, Grimaldi A, 1998. Classification du diabète sucré, Critères diagnostiques et dépistage. *Encycl Med Chir (Elsevier, Paris), Endocrinol* 13p.
- Vergès B. Physiopathologie de la dyslipidémie du diabète de type 2: Nouvelles perspectives. *endocrinologie-diabétologie*, 2019, [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(19\)30043-4](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(19)30043-4)
- Wiseman, H. and B. Halliwell, Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J*, 1996. 313 (Pt 1): p. 17-29.
- Wolin, M.S. Ahmed, M. Gupte, S.A. 2005. Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: basic concepts, current controversies, and potential importance of cytosolic NADPH. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* Vol 289 159-173.

Références Bibliographiques

- W.-P. Bagbila¹, M. Naone², T.-M. Yaméogo^{1,3}, C.-G. Kyelem^{1,3}, Y. Sagna⁴, A. Ilboudo¹, S.-M. Ouédraogo^{1,3}, Y.-J. Drabo^{2,4}; 2019. Score clinique finlandais de risque de diabète de type 2 et facteurs de risque en milieu étudiant au Burkina Faso. [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(19\)30126-9](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(19)30126-9).
- Yu, B.P., Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 1994. 74(1): p. 139-62.
- Zhande, R. Mitchell, J.J. Wu, J. Sun, X.J. 2002. Molecular mechanism of insulin induced degradation of insulin receptor substrate 1. *Mol Cell Biol*. Vol 22:1016 – 1026.

Annexes

Questionnaire

1-Paramètres anthropométriques

Nom et prénom:

Date:

localité:

Origine ethnique:

age:

sexe:

groupe sanguin:

Poids : Kg Taille:.....m IMC:.....Kg/m²

Tour de taille:.....Tour de hanche:.....

PAS :.....mm Hg PAD:.....mm Hg

2-Paramètres anthropo-sociologiques

Niveau d'instruction : Analphabète Primaire moyen Secondaire Universitaire

Activité professionnelle: Sans profession Avec profession retraité

Type d'Habitat : Individuel Collectif

Situation familiale : Marié (e) : Célibataire : Autre :

Nombre d'enfant: fratrie: range dans la fratrie:

3-famille:

Consanguinité: oui:

non:

Degré de consanguinité:

Phénotype des parents (diabète, autre pathologie ou trait remarquable).

père:

mère:

Tabagisme: oui

non

Antécédent familiaux de diabète:

Diabète gestationnel chez les femmes: Age de ménopause chez les femmes:

4-le cas index

Age de diagnostique Un trait remarquable avant le diagnostic:

Complication dégénératives du diabète.

Pathologie associées:

Supplémentation en vit D

Infection virales

Antécédent personnel

fracture:

5-paramètre biologique:

Glycémie

Hba1

Urée

creatinine

triglycéride

Cholestérole Hdl LDL

6-Traitement pris actuellement

LE JOURNAL ALIMENTAIRE DE 24 HEURES

	Nom de l'aliment et composition de plat	Quantité consommé
Petit Déjeuner		
Déjeuner		
Gouter		
Diner		
Grignotage		