

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques de l'Environnement
Spécialité : Biologie Animale



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

*Etude des complications diabétiques
en relation avec l'état du stress
oxydatif chez la femme*

Présenté par :

TAGHOUI Cylia & SLIMANE Samia

Soutenu le : 26/06/2023

Devant le jury composé de :

Mme: BOURNINE Sihem
Mr : IGUER OUADA Mokrane
Mme : SAD-EDINE Ourdia

Président
Encadreur
Examineur

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

*Nous tenons à remercier tout d'abord **ALLAH**, seigneur de l'univers, qui nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et terminer ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier également à notre cher professeur et promoteur monsieur **IGUER-OUADA Mokrane**, qui nous a accompagnés durant cette période de travail avec une grande rigueur scientifique, pour les conseils que vous nous avez accordé tout au long de la préparation de notre mémoire. Merci également pour votre encadrement, patience, confiance et gentillesse, votre grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier également tous les membres du jury : **M^{me} SAD-EDINE Ourdia** et **M^{me} BOURNINE Sihem**.*

Qui ont accepté de juger notre travail et pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce dernier.

*Nous ne manquons pas d'adresser nos remerciements Madame **BOURNINE** et Madame **BEDDOU** pour leur aide durant la réalisation de notre travaille, elles sont été de tout temps disponible avec nous pendant la préparation jusqu'à la finalisation de ce mémoire.*

Nous tenons à remercier aussi à adresser toute notre gratitude à notre ingénieur des laboratoires de la faculté SNV et médecine de l'université de Bejaia, de nous avoir ouvert les portes et de mettre à notre disposition ont été montrés toujours présent pour nous donner de l'aide en matière de matériels nécessaires pour effectuer notre pratique dans les bonnes conditions, et aussi tout mes Enseignants de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie au cours de ces Cinq années et l'équipe pédagogique de l'universités de Bejaia Abderrahmane MIRA de BEJAIA .

Enfin, merci à toutes les personnes qui nous aidé lors de la rédaction de ce mémoire, on vous présente respect et gratitude et trouvent dans ces mots l'expression de nos sincères remerciements.

Merci

Dédicaces



J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

Aux deux personnes les plus merveilleuses du monde, devant lesquelles tous les mots de l'univers sont incapables d'exprimer mon Amour et mon affection pour mes Parents.

A ma chère maman SAMIRA et mon cher papa TAYEB

Qui me donne toujours l'espoir de vivre. Vous êtes toujours à mes côtés et ma source de force pour affronter les différents obstacles et leur encouragement, soutien, surtout leur amour et sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études. Que Dieu vous garde et une longue vie.

A mon frère AXEL et ma sœur AMEL

Merci pour votre encouragement et l'amour et Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite dans votre vie.

A toute ma famille TAGHOUI

A mes grands-parents je vous remercie pour tout et Que Dieu vous garde.

Et mes Oncles, Tantes et leurs Conjointes ainsi que leurs Enfants et mes proches.

A mes meilleurs amis

Dyha, Katia, Tita, Cilina, Hanifa Et Yahia.

Pour tout ce qu'on a partagé ensemble en souvenirs et des bons moments et j'espère que notre amitié durera éternellement.

A ma binôme SLIMANE SAMIA et sa famille.

A tous mes profs qui m'ont appris durant toutes mes années d'étude.

A toute ma promotion BA 2023.

T. cylvia

Dédicaces



J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

*A mes très chers parents à qui le grand mérite revient : **MOULOUD & FATIMA.***

*A mes quarts frères : **ZAHIR, BELKACEM, MOUNIA, SILYOUNA** pour leur présence, leur soutien, leurs encouragements et pour toute l'aide qu'elles ont pu m'apporter.*

*A mon ami : **AMAYES TALEB** pour son accompagnement durant notre parcours d'étude.*

*A mes amies : **MILIDA, FERIEL, YASEMINE, LYDIA, SOUAD, AKILA, WISSAM, KAMILIA, ROSA** pour tous les bons moments et les souvenirs qu'on a partagé ensemble.*

*A ma binôme **TAGHOZI CYLIA** et sa famille.*

A tous mes profs et toute la promotion de biologie animale 2023.

S.Samia

Sommaire

Remerciements

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Partie Synthèse bibliographique

Chapitre I : Diabète

I.1. Définition du diabète	02
I.2. Epidémiologie de diabète.....	02
I.3. Classification du diabète.....	02
I.3.1. Le diabète de type 1.....	03
I.3.2. Le diabète de type 2.....	03
I.3.3. Le diabète gestationnel.....	04
I.3.4. Autres types de diabète.....	04
I.4. Les complications diabétiques.....	04
I.4.1 Complications chronique.....	05
I.4.1.1 Complications microvasculaire.....	05
I.4.1.1.1. Rétinopathie.....	05
I.4.1.1.2. Néphropathie.....	06
I.4.1.1.3. Neuropathie.....	07
I.4.1.2 Complications macrovasculaire.....	07
I.4.2 Les complications aiguës.....	08
I.4.2.1. hyperglycémie.....	08
I.4.2.2. L'hypoglycémie.....	08
I.4.2.3. Acidocétose diabétique.....	09
I.4.2.4. Hyperosmolaire hyperglycémique.....	09

Chapitre II : Stress oxydatif

II.1. Définition.....	10
II.2. Les prooxydants.....	10
II.2.1. Les espèces réactives oxygénées (ERO).....	11
II.3. L'origine d'espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	11
II.3.1. Sources endogènes.....	11
II.3.2. Sources exogènes.....	11
II.4. Cibles biologiques des espèces réactives.....	12
II.4.1. Acide désoxyribonucléiques ou (ADN).....	12
II.4.2. Oxydation des protéines.....	12
II.4.3. La peroxydation lipidique.....	12
II.5. les défenses antioxydants.....	13
II.5.1. Système antioxydant enzymatique.....	13
II.5.1.1. Superoxyde dismutase (SOD).....	13
II.5.1.2. La catalase (CAT).....	14
II.5.1.3. Glutathion peroxydases (GPxs).....	14
II.5.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	14
II.5.2.1. Glutathion.....	14
II.5.2.2. Vitamine E.....	15
II.5.2.3. Vitamine C.....	15
II.5.2.4. Oligoéléments.....	15
II.5.2.5. Les polyphénols.....	15
II.5.2.6. Les caroténoïdes.....	15
II.5.2.7. Le Coenzyme Q10.....	15
II.5.2.8. L'acide urique.....	16

Chapitre III : Diabète et stress oxydatif

III.1. La relation entre le stress oxydant et les complications diabétiques.....	17
III.2. Les mécanismes pathogéniques associés au stress oxydant chez les diabétiques.....	18
III.2.1. Activation de la voie des polyols.....	18
III.2.2. Auto oxydation de glucose.....	18
III.2.3. La production de produits terminaux de glycation (AGE).....	18
III.2.4. L'activation de la protéine kinase C (PKC).....	19
III.3. Comment mettre en évidence un état de stress oxydant.....	19
III.4. Modèle d'étude du stress oxydant et des complications chez les diabétiques	19
III.4.1. L'hémoglobine.....	19
III.4.2. La méthémoglobine.....	20
III.4.3. L'hémoglobine glyquée.....	20

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes.....	22
I.1. Objectif.....	22
I.2. Population étudiée	22
I.3. Recueil des données.....	22
I.4. Matériels	22
I.4.1. Matériels divers.....	22
I.4.2. Produits et Réactifs.....	22
I.5. Méthodes.....	23
I.5.1. Séparation de sang totale.....	23
I.5.2. Préparation d'une solution d'ABTS.....	23
I.6. Evaluation du statut antioxydant total (test ABTS).....	24
I.7. Test mesure d'hémoglobine et méthémoglobine.....	24
I.7.1. Mesure de l'hémoglobine.....	25
I.7.2. Mesure de la méthémoglobine.....	25

I.8. Evaluation de la peroxydation lipidique par la mesure des MDA (Malondialdéhyde)....	26
I.8.1. Préparation des échantillons.....	26
I.8.2. Préparation des solutions.....	26
I.8.3. Dosage du Malondialdéhyde (MDA).....	27

Résultats et discussion

II.1. Résultats.....	29
II.1.1. Résultats de l'étude sur d'hémoglobine glyquée.....	29
II.1.2. Résultats de l'étude sur la méthémoglobine.....	30
II.1.3. Résultats de l'étude sur des MDA.....	30
II.1.4. Résultats de l'étude sur des statuts antioxydant.....	31
II.2. Discussion.....	32
Conclusion	34
Références bibliographiques.....	35

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

% : Pourcentage

•OH : Ion hydroxyl

µl : Microlitre

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

ADN : Acide désoxyribonucléique

CAT : Catalase

Cu: Cuivre

DG : Le diabète gestationnel

DID : diabète insulino-dépendant

DNID : diabète non-insulinodépendant

DT1 : Diabétique de type 1

DT2 : Diabétique de type 2

EDTA : Acide éthylène diamine tetraacétique

ERO : Espèces réactives d'oxygène

Fe: Fer

Fe+3: Fer ferrique

GPxs : Glutathion peroxydases

H2O2 : Peroxyde hydrogène

Hb : Hémoglobine

HbA1C : Hémoglobine glyquée

LDL: Lipoprotéines de basse densité

MDA : Malondialdéhyde

MetHb : Méthémoglobine

mg: milligramme

ml : millilitre

Mn : manganèse

MODY : diabète de type adulte chez le jeune

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide

NADPH oxydase: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase

NADPH,H+: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé

NaOH : Hydroxyde de sodium

O- :Oxygène singulet

O2-: Radical anion superoxyde

O2•- : anion superoxyde

O3 : Ozone

OH : Hydroxyl

OMS : Organisation mondiale de la santé

PKC : Protéine kinase C

PKC: la protéine kinase C

Q10 : Coenzyme CoQ10

RL : Les radicaux libres

SAT: Statu antioxydant totale

Se : sélénium

SO: Stress oxydant

SOD: Superoxyde dismutase

TBA: Thiobarbituric acid

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances

TCA: Trichloroacetic acid

UV: ultra viole

Zn : Zinc

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Classification du diabète selon l’OMS	03
02	Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants	10
03	Les trois isoenzymes de la SOD	13
04	Mécanismes biochimiques susceptibles d’expliquer la relation entre l’hyperglycémie et les complications diabétiques.	16
05	Schéma général de la formation et de la réduction de la MetHb	20
06	Séparation du sang total	23
07	Protocole de la mesure du statut antioxydant total chez les patients diabétiques.	24
08	Protocole de la mesure d’hémoglobine et méthémoglobine	25
09	L’apparition d’une couleur rose dans le test MDA	27
10	Protocole de dosage du Malondialdéhyde (MDA)	28
11	Histogrammes montrant la présence ou non des complications diabétiques (graphe à gauche) et des différentes complications (graphe à droite) en fonction de l’hémoglobine glyquée (HbA1c) chez les patientes diabétiques femmes.	29
12	Histogrammes montrant la présence ou non des complications diabétiques (graphe à gauche) et des différentes complications (graphe à droite) en fonction de la méthémoglobine (Meth) chez les patientes diabétiques femmes.	30
13	Histogrammes montrant la présence ou non des complications diabétiques (graphe à gauche) et des différentes complications (graphe à droite) en fonction de du MDA chez les patientes diabétiques femmes.	31
14	Histogrammes montrant la présence ou non des complications diabétiques (graphe à gauche) et des différentes complications (graphe à droite) en fonction du statut antioxydant total (SAT) chez les patientes diabétiques femmes	32

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Comparaison entre le diabète de type1 et diabète de type2	04
02	Les différents types d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) radicalaires et non-radicalaires	11

Introduction

Introduction

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par des niveaux élevés de glucose dans le sang. Les complications du diabète sont nombreuses et peuvent affecter plusieurs parties du corps, notamment les reins, les yeux, les nerfs et le système cardiovasculaire. Chez les femmes diabétiques, ces complications peuvent être plus graves en raison d'un certain nombre de facteurs, notamment les hormones sexuelles, la grossesse et la ménopause (**Sowers & Epstein, 2001**).

Les complications diabétiques spécifiques aux femmes sont les infections vaginales et urinaires et les complications pendant la grossesse (**American Diabetes Association, 2019**).

Le stress oxydatif est l'un des mécanismes qui contribue aux complications du diabète chez la femme. Il se produit lorsque les niveaux de radicaux libres dépassent la capacité du corps à les neutraliser avec les antioxydants endogènes. Les radicaux libres peuvent endommager les cellules et les tissus du corps, ce qui peut entraîner des complications telles que la neuropathie diabétique, la rétinopathie diabétique et les maladies cardiovasculaires. Plusieurs études ont examiné le rôle du stress oxydatif dans les complications diabétiques chez les femmes.

Des recherches ont montré que les femmes diabétiques ont des niveaux plus élevés de stress oxydatif que les femmes non diabétiques. De plus, le stress oxydatif peut être augmenté par d'autres facteurs de risque, tels que l'obésité, la sédentarité et le tabagisme. L'étude du stress oxydatif dans les complications diabétiques chez les femmes est importante car cela peut aider à mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent ces complications et à développer des stratégies efficaces pour les prévenir et les traiter (**Sowers & Epstein, 2001**). Dans ce sens, la méthémoglobine est une molécule qui peut trouver tout son intérêt dans sa relation avec les complications diabétique. Ceci s'explique par le fait que cette molécule est obtenue par les processus oxydatifs qui vont toucher l'hémoglobine. Le lien de la méthémoglobine avec le diabète en général et avec les complications qui l'accompagnent reste à ce jour peu étudié.

C'est ainsi que l'objectif de ce travail consiste à étudier la relation entre le stress oxydatif et les complications diabétiques à travers la mesure du statut antioxydant total (SAT) et du malondialdéhyde (MDA) d'une part, et la mesure de et la méthémoglobine d'autre part.

Ce manuscrit comporte trois grandes parties, la première est une synthèse bibliographique sur le diabète, le stress oxydatif, et le diabète et stress oxydatif. La deuxième partie comprend un descriptif du matériel et des méthodes utilisés. Un dernier chapitre est consacré à l'ensemble des résultats générés, ainsi qu'à leur discussion. L'ensemble est terminé par une conclusion et des perspectives.

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre I
Diabète

I. Le diabète

I.1. Définition du diabète

Le diabète sucré est une maladie chronique caractérisée par la présence d'une hyperglycémie, qui survient lorsque le taux de glucose dans le sang augmente en raison d'un défaut de sécrétion de l'insuline, d'une altération de l'action de l'insuline, ou des deux. Cette pathologie se développe lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. Elle se manifeste par une glycémie élevée, ce qui correspond à une hyperglycémie (**Goldenberg & Punthakee, 2013**).

L'hyperglycémie chronique est associée à des complications organiques qui affectent plusieurs systèmes, notamment les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux. Le diagnostic de diabète est posé lorsque la concentration de glucose à jeun dans le sang veineux est égale ou supérieure à 1,26 g/L (7,00 mmol/L) à deux reprises, ou lorsque la glycémie aléatoire à n'importe quel moment de la journée est égale ou supérieure à 2,00 g/L (11,1 mmol/L) (**Drouin et al., 1999**).

I.2. Epidémiologie de diabète

Le diabète est devenu un problème de santé publique majeur à l'échelle mondiale. Selon l'Atlas du diabète de la FID (Fédération Internationale du Diabète) de 2019, la prévalence mondiale du diabète est estimée à environ 9,30 %, ce qui représente environ 463 millions de personnes âgées de 20 à 79 ans touchées par cette maladie. Ce chiffre devrait atteindre 578 millions (soit 10,20 %) d'ici 2030, et on estime qu'il atteindra 700 millions (soit 10,90 %) d'ici 2045 si des mesures préventives ne sont pas mises en place. En Algérie, la prévalence estimée du diabète chez les adultes âgés de 20 à 79 ans était de 7,7 %, ce qui correspond à environ 1,90 million de personnes (**FID, 2019**).

I.3. Classification du diabète

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) classe le diabète sucré en deux formes principales: le diabète de type 1 et le diabète de type 2. En plus de ces deux formes, on trouve d'autres types de diabètes tels que le diabète gestationnel, qui se manifeste pendant la grossesse, ainsi que les diabètes secondaires (**Mathie et al., 2018**).

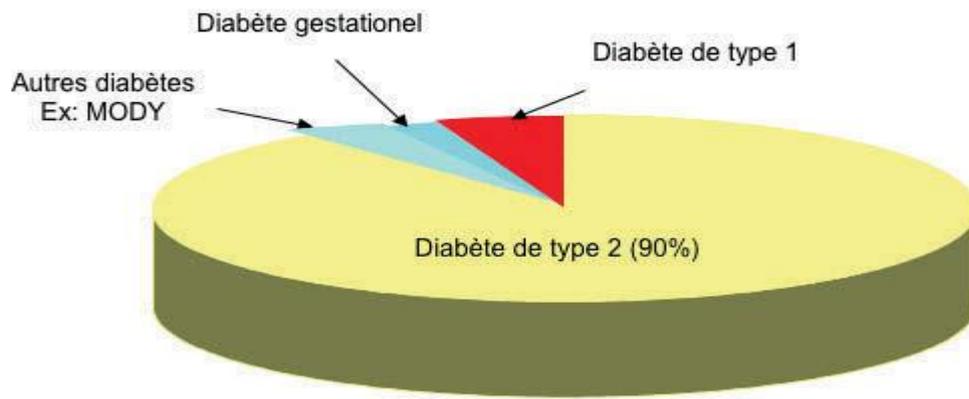


Figure 01 : Classification du diabète selon l'OMS (Mathie et al., 2018).

I.3.1. Le diabète de type 1

Le diabète de type 1 est également connu sous le nom de diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète juvénile. Il correspond à une destruction de la cellule bêta du pancréas. Le diabète de type 1 représente environ 5 à 10 % des cas de diabète. Cette forme de la maladie se manifeste généralement chez les enfants et les adolescents. Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune caractérisée par une absence ou une production minimale d'insuline par les cellules β du pancréas. Les anticorps produits par les lymphocytes attaquent les cellules β du pancréas, ce qui entraîne une incapacité de l'individu à sécréter de l'insuline (La Mutualité Socialiste-Solidaris, 2011).

I.3.2. Le diabète de type 2

Le diabète de type 2 (DT2), anciennement appelé diabète non-insulinodépendant (DNID), est la forme la plus fréquente du diabète et représente environ 90 % des cas observés dans le monde. Il survient généralement chez les adultes. Cette forme de diabète se caractérise par une diminution de l'action de l'insuline (insulino-résistance) au niveau des tissus cibles tels que les muscles et le foie, ce qui peut évoluer vers une insulino-pénie, c'est-à-dire une production insuffisante d'insuline par le pancréas. Le glucose est alors faiblement absorbé par les cellules et circule en quantité élevée, entraînant une hyperglycémie.

Les causes du diabète de type 2 sont multiples. En effet, plusieurs facteurs de risque sont responsables de son apparition, tels que l'obésité, l'inactivité physique, une alimentation déséquilibrée, ainsi que des antécédents familiaux (Javeed & Matveyenko, 2018).

Tableau I : Comparaison entre le diabète de type 1 et diabète de type 2 (Gariani et al., 2009).

	Diabète de type 1	Diabète de type 2
Age du diagnostic	Enfance et adolescence	Adulte
Prévalence dans la population diabétique	< 10 %	< 90 %
Début	Rapide (semaine)	Variable, souvent insidieux (mois voir années)
Auto-immunité	Présente	Absente
Caractère familial de parents avec un diabète	2-4%	80%
Sensibilité à l'insuline	Normal	Diminuée
Sécrétion de l'insuline	Absent	Variable
Injection d'insuline	Indispensable	20% des cas
Anti-Diabétique Oraux (ADO)	Inefficace	Efficace
Complications chroniques	Pas avant 5 ans et surtout les petits vaisseaux sanguins (microvasculaires : rétine, rein, nerf,...)	présentes dans 30% des cas au moment du diagnostic Les complications concernent surtout les grand vaisseaux sanguins (macrovasculaires : cœur, cerveau,...)

I.3.3. Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel (DG) est défini comme un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie pendant la grossesse. Il survient principalement pendant le deuxième ou troisième trimestre de la grossesse et disparaît après l'accouchement. Les femmes enceintes atteintes de diabète gestationnel ont un risque accru de développer ultérieurement un diabète de type 2. De plus, leurs enfants sont également susceptibles de développer un diabète de type 2 à un stade précoce de leur vie (**Landon et al., 2009**).

I.3.4. Autres types de diabète

Il existe d'autres types de diabète moins fréquents, ils sont souvent appelés diabète spécifique ou diabète secondaire, qui résulte d'une autre maladie ou d'un traitement médical, voici quelques formes moins courantes de diabète :

- Diabète monogénique est un type héréditaire se caractérise par la survenue d'une hyperglycémie à un âge précoce (généralement avant l'âge de 25 ans) avec une altération de la sécrétion d'insuline. Ils sont appelés diabète de maturité du jeune MODY (Maturity-Onset diabetes of the Young), il est causé par des mutations dans certains gènes ;
- Diabète induit par des médicaments ou des produits chimiques qui peuvent perturber la sécrétion de l'insuline ou de son action ;
- Diabète dû à des troubles endocriniens engendrant une sécrétion excessive d'hormones qui nuisent à l'insuline ;
- Diabète associé à des maladies du pancréas, provoqué par une atteinte du pancréas exocrine, comme la pancréatite, un traumatisme, une infection, le cancer du pancréas ; des infections virales ont été associées à la destruction des cellules bêta (**Kaser et al., 2019**).

I.4. Les complications diabétiques

Le diabète est un groupe de maladies chroniques caractérisées par une hyperglycémie chronique, accompagnée d'une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protidique, résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline, de son activité ou les deux à la fois (**Chevenne & Fonfrède, 2001**). L'une des principales conséquences de l'hyperglycémie est une altération du système vasculaire, que ce soit au niveau des petits vaisseaux (maladie microvasculaire) ou des gros vaisseaux sanguins (maladie macrovasculaire) (**Michael & Fowler, 2011**). Le contrôle métabolique, la pression artérielle ainsi que des facteurs ethniques et génétiques sont les principaux déterminants connus des complications vasculaires (**Jean & Eugène, 2003**). En plus de ces complications chroniques, des complications aiguës peuvent survenir en cas d'absence ou de mauvaise adaptation du traitement, telles que les comas acidocétosiques, hyperosmolaires ou hypoglycémiques (**Chevenne & Fonfrède, 2001**).

I.4.1 Complications chronique

I.4.1.1 Complications microvasculaire

La maladie microvasculaire diabétique survient suite à l'interaction de facteurs métaboliques et hémodynamiques. La tension artérielle et le contrôle métabolique sont donc les principaux déterminants de la progression de la maladie chez les individus prédisposés (**Jean & Eugène, 2003**).

I.4.1.1.1 Rétinopathie

La rétinopathie survient au début de l'évolution du diabète de type 1 et de type 2, probablement en raison du diagnostic tardif du diabète. Un mauvais contrôle métabolique est associé au développement de la rétinopathie, et un contrôle glycémique plus médiocre induit

une prévalence plus élevée de rétinopathie, pouvant atteindre 77 % chez les individus dont le taux d'hémoglobine glyquée est supérieur à 8 %. L'hypertension est également associée à la rétinopathie diabétique (**Jean & Eugène, 2003**). La rétinopathie diabétique peut être la complication microvasculaire la plus courante du diabète et peut entraîner la cécité. Le développement de la rétinopathie et le risque de développer une rétinopathie diabétique ou d'autres complications microvasculaires du diabète sont associés à la durée et à l'intensité de l'hyperglycémie (**Michael & Fowler, 2011**).

L'aldose réductase est l'un des mécanismes impliqués dans le développement des complications diabétiques. C'est une enzyme clé de la voie intracellulaire des polyols, qui convertit le glucose en alcool de glucose (sorbitol). Cette conversion entraîne un stress osmotique, qui est l'un des mécanismes principaux dans le développement de la rétinopathie (**Michael & Fowler, 2011**).

La rétinopathie de fond se caractérise par des hémorragies ponctuelles dans la rétine, la présence d'exsudats (dépôts), de petites dilatations vasculaires dans la rétine appelées microanévrismes, ainsi qu'une fuite microvasculaire et la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à la surface de la rétine. Ces nouveaux vaisseaux sanguins fragiles peuvent provoquer des saignements à l'intérieur de l'œil, entraînant une cécité et une perte de vision (**Michael & Fowler, 2011**).

I.4.1.1.2. Néphropathie

La néphropathie est définie par la présence persistante de protéines dans l'urine (protéinurie) et des changements morphologiques dans les reins (**Michael & Fowler, 2011**). Elle se caractérise initialement par une microalbuminurie, c'est-à-dire une excrétion d'albumine dans l'urine, qui peut évoluer en néphropathie en l'absence de traitement. Avec la progression de la maladie, on observe une augmentation de la protéinurie, de la pression artérielle et de la filtration glomérulaire (qui est la filtration du sang par le glomérule rénal, conduisant à la formation de l'urine primitive). L'albuminurie se situe généralement entre 30 et 300 mg/jour (**Chevenne & Fonfrède, 2001**). Un mauvais contrôle de la glycémie et de la pression artérielle est associé à la néphropathie diabétique.

Le dépistage de la néphropathie diabétique peut être réalisé en collectant l'urine sur 24 heures pour évaluer la concentration et la dilution de l'urine, ou en mesurant la microalbuminurie. Le traitement de la néphropathie diabétique repose sur un contrôle strict de la glycémie et peut également inclure l'utilisation de médicaments antihypertenseurs pour réduire la pression artérielle (**Michael & Fowler, 2011**).

I.4.1.1.3. Neuropathie

La neuropathie diabétique se caractérise par la présence de symptômes de dysfonctionnement des nerfs périphériques chez les personnes atteintes de diabète, en raison de lésions causées par l'hyperglycémie. Ces lésions peuvent être causées par divers mécanismes, tels que l'accumulation de polyols, les produits finaux de glycation avancée (AGE) et le stress oxydatif. Ce dysfonctionnement neurologique peut se manifester par différents symptômes, tels que la gastroparésie (ralentissement des mouvements de l'estomac), la constipation, la diarrhée, l'anhidrose (perte de la capacité de transpirer), le dysfonctionnement de la vessie, le dysfonctionnement érectile, la tachycardie au repos, l'ischémie silencieuse (interruption soudaine du flux sanguin artériel dans un membre) et même la mort cardiaque subite.

Bien qu'il n'existe pas de traitement curatif pour la neuropathie diabétique, les symptômes peuvent être traités et contrôlés à l'aide de médicaments. Le contrôle de la glycémie est également important pour prévenir ou réduire la sévérité de la neuropathie. Il est essentiel de contrôler attentivement la glycémie pour minimiser les dommages aux nerfs et prévenir les complications associées à la neuropathie diabétique (**Michael & Fowler, 2011**).

I.4.1.2 Complications macrovasculaire

Les complications macrovasculaires du diabète sont associées à un mécanisme appelé athérosclérose, qui se caractérise par l'accumulation de lipides sur la paroi des artères, entraînant leur rétrécissement. D'autres facteurs de risque cardiovasculaire présents dans le diabète incluent l'hypertension artérielle (HTA) et la dyslipidémie (concentration élevée de lipides dans le sang) (**Chevenne & Fonfrède, 2001**).

La formation de l'athérosclérose est le résultat d'une inflammation chronique ou d'une lésion de la paroi artérielle du système vasculaire périphérique ou coronaire. Cela se produit lorsque les monocytes pénètrent dans la paroi artérielle et se transforment en macrophages, qui accumulent les lipides oxydés pour former des cellules spumeuses. Ces cellules stimulent la prolifération des macrophages et l'attraction des lymphocytes T, entraînant la prolifération de cellules musculaires lisses dans les parois artérielles et l'accumulation de collagène.

Le diabète de type 2 est généralement associé au syndrome métabolique, qui comprend également l'obésité abdominale, l'hypertension, l'hyperlipidémie et une coagulabilité accrue. Ces facteurs peuvent contribuer au développement des complications macrovasculaires. Le diabète est un prédicteur important du risque d'accident vasculaire cérébral (AVC) et de mortalité. Un bon contrôle du diabète est associé à une fréquence cardiaque au repos plus basse, tandis qu'une hyperglycémie élevée est associée à une fréquence cardiaque plus élevée, ce qui augmente le risque de complications macrovasculaires.

La réduction du risque d'événements cardiovasculaires et de la mortalité peut être obtenue en modifiant les facteurs du syndrome métabolique et en réduisant la pression artérielle chez les patients atteints de diabète (**Michael & Fowler, 2011**).

I.4.2 Les complications aiguës

I.4.2.1. hyperglycémie

Effectivement, une hyperglycémie se produit lorsque la concentration de glucose dans le sang est élevée. Cette hyperglycémie est généralement due à une insuffisance de production d'insuline par le pancréas ou à une mauvaise utilisation de l'insuline par les tissus. Cela peut être causé par divers facteurs, tels qu'une diminution de la sécrétion d'insuline, une résistance à l'insuline ou une combinaison des deux.

Lorsqu'il y a une insuffisance d'insuline, le corps réagit en augmentant la production d'hormones de contre-régulation, telles que le glucagon, les catécholamines, le cortisol et l'hormone de croissance. Ces hormones stimulent plusieurs mécanismes qui contribuent à l'hyperglycémie. Par exemple, le glucagon favorise la conversion du glycogène hépatique en glucose par la glycogénolyse, ce qui augmente la quantité de glucose disponible dans le sang. De plus, l'utilisation du glucose par les tissus est réduite, ce qui aggrave l'hyperglycémie. Enfin, il y a également une augmentation de la néoglucogenèse, qui est la formation de glucose à partir de précurseurs non glucidiques tels que le lactate et le glycérol.

Les symptômes qui peuvent survenir en cas d'hyperglycémie comprennent la glycosurie, c'est-à-dire la présence de sucre dans les urines, la diurèse osmotique qui entraîne une augmentation de la production d'urine, la déshydratation due à la perte excessive de liquides, et une diminution de la perfusion rénale en raison de la diminution du volume sanguin qui traverse les reins.

Il est important de traiter l'hyperglycémie afin de normaliser la glycémie et prévenir les complications à long terme du diabète. Cela peut impliquer l'utilisation d'insuline ou d'autres médicaments hypoglycémisants, ainsi que des ajustements du régime alimentaire et du mode de vie (**Orban & Ichai, 2008**).

I.4.2.2. L'hypoglycémie

L'hypoglycémie correspond à une glycémie très basse et est l'un des principaux facteurs qui limite le bon contrôle du diabète, entraînant une augmentation de la morbidité (accidents, chutes, fractures) et des difficultés à équilibrer le diabète, ainsi qu'une prise de poids (**Ardigo & Philippe, 2008**). L'hypoglycémie est la complication la plus fréquente du diabète et touche les diabétiques de type 1 et 2 traités par certains médicaments tels que l'insuline, les sulfonyles ou les biguanides. Les symptômes de l'hypoglycémie

comprennent l'anxiété, les palpitations, les sueurs, une sensation de faim, un malaise, des troubles de l'humeur et du comportement, des difficultés de concentration ou d'élocution, une incapacité à prendre des décisions, des convulsions et un coma (**Orban & Ichai, 2008**).

I.4.2.3. Acidocétose diabétique

L'acidocétose diabétique est associée à une absence ou une insuffisance d'insuline, ce qui empêche les organes du corps d'avoir une source d'énergie. La digestion des graisses est altérée par l'activation de la lipase hormonosensible, ce qui produit des corps cétoniques par l'oxydation du glycérol et des acides gras libres produits par la lipolyse (dégradation des graisses). L'accumulation de ces cétones entraîne une confusion, une altération de la conscience et d'autres symptômes tels que des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales. L'acidocétose diabétique peut être traitée par l'hydratation, l'insulinothérapie, le potassium et les bicarbonates (**Orban & Ichai, 2008**).

I.4.2.4. Hyperosmolaire hyperglycémique

L'état d'hyperosmolarité hyperglycémique correspond à une hyperglycémie sévère caractérisée par une déshydratation, une hyperosmolarité et l'absence de corps cétoniques. L'hyperosmolarité hyperglycémique est une complication fréquente qui survient souvent dans le diabète de type 2 en raison d'un mauvais contrôle de la prise de médicaments, d'une infection ou d'une autre maladie. Cette complication peut entraîner plusieurs symptômes tels que des changements de l'état mental, de la confusion et de la désorientation pouvant aller jusqu'au coma, aux convulsions et à la paralysie. L'hyperosmolarité hyperglycémique est traitée par l'administration intraveineuse de liquides et d'électrolytes, ainsi que par l'administration d'insuline (**Erika & Brutsaert, 2022**).

Chapitre II
Stress oxydatif

II. Stress oxydatif

II.1. Définition

Le stress oxydatif (SO) se définit comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par les systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Pincemail et al., 2009).

Les radicaux libres peuvent causer d'importants dommages sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques. Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques qui se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule possédant un électron non apparié (célibataire) sur l'orbital externe (Wolin et al., 2005).

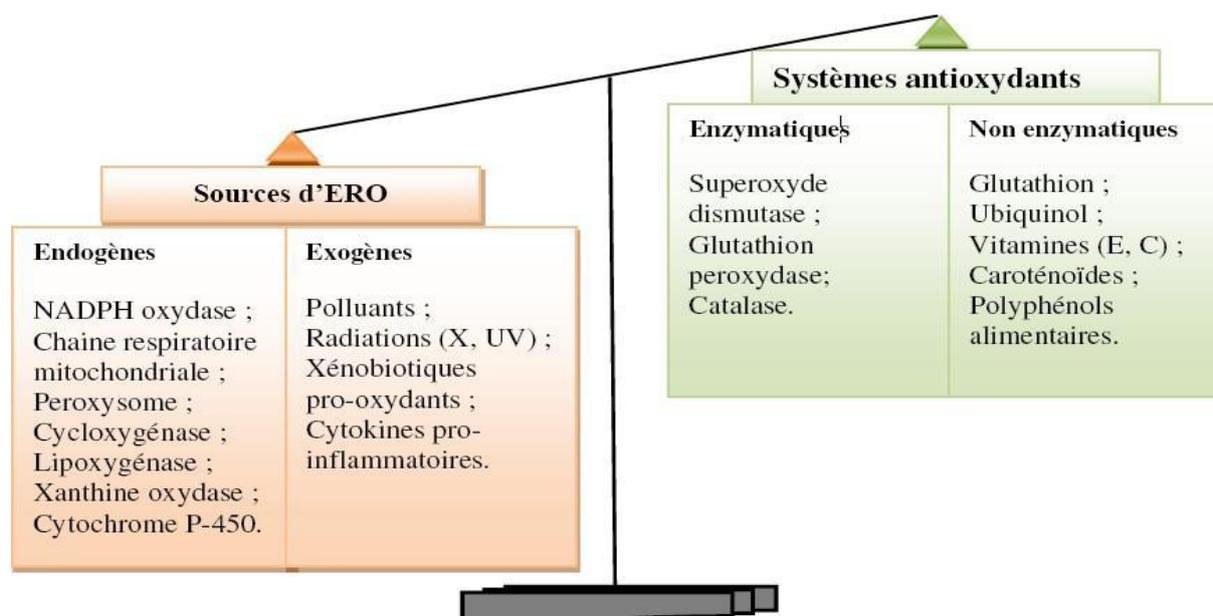


Figure 02 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants.

(https://www.researchgate.net/figure/Desequilibre-de-la-balance-entre-pro-oxydants-et-antioxydants_fig7_278645043)

II.2. Les prooxydants

II.2.1. Les espèces réactives oxygénées (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène, également appelées dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) ou espèces réactives de l'oxygène (ERO), sont classées en deux groupes : les espèces réactives radicalaires et les espèces réactives non radicalaires (voir Tableau 02). Les radicaux libres (RL) et les composés réactifs oxydants non radicalaires ne possèdent pas d'électron

libre dans leur couche externe, comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'acide hypochloreux (HOCl), l'oxygène singulet (1O₂) et l'ozone (O₃).

D'autre part, les espèces réactives radicalaires contiennent un électron non apparié dans leur couche externe, telles que le radical hydroxyle (OH), l'anion superoxyde (O₂⁻), le radical hydroperoxyde (HO₂) (Agarwal et al., 2017).

Tableau 02 : Les différents types d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) radicalaires et non-radicalaires (Rahman et al., 2012).

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radical	Non- radical
Superoxyde O ₂	Peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂
Hydroxyl OH	Acide hypo-chlorure HOCl
Peroxyl RO ₂	Ozone O ₃
Alkoxy RO	Oxygène singulet O ⁻
Hydroperoxy HO ₂	

II.3. L'origine d'espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les principales espèces réactives oxydantes (ERO) sont générées par différents mécanismes qui sont divisés en deux sources endogènes et exogènes.

II.3.1. Sources endogènes

Les principaux sites endogènes de production de ROS comprennent la chaîne de transport d'électrons mitochondriale, réticulum endoplasmique (RE), peroxysomes, ainsi que par les activités de la NADPH oxydase ou de la xanthine oxydase (Sharifi-Rad et al., 2020).

II.3.2. Sources exogènes

Les principaux facteurs exogènes responsables de stress oxydatif sont multiples et proviennent de diverses sources chimiques et physiques. Parmi ces facteurs, on peut citer l'exposition à la fumée de cigarette, aux radiations ionisantes, aux rayonnements ultraviolets (UV) et aux rayonnements X. De plus, certains médicaments, toxines, polluants, pesticides et insecticides peuvent également contribuer à l'augmentation du stress oxydatif (Sharifi-Rad et al., 2020).

II.4. Cibles biologiques des espèces réactives

Le stress oxydatif est un processus physiologique qui se produit lorsque le corps accumule des radicaux libre, les cibles biologiques peuvent inclure l'Acide désoxyribonucléiques (ADN) les protéines, les lipides, et les lipoprotéines.

II.4.1. Acide désoxyribonucléiques ou (ADN)

L'ADN est une cible privilégiée des ROS. La guanine (G) peut réagir avec le radical OH pour former la 8-hydroxy-2-désoxyguanosine (8-OHdG), qui s'apparie avec une adénine (A) au lieu de cytosine (C), entraînant des mutations de l'ADN et des altérations de l'information génétique. Ces modifications sont considérées comme des facteurs contribuant au développement du cancer et au processus de vieillissement (**Haleng et al., 2007**).

II.4.2. Oxydation des protéines

Les ROS peuvent provoquer la fragmentation de la chaîne peptidique, l'altération de la charge électrique des protéines, la réticulation des protéines et l'oxydation d'acides aminés spécifiques, entraînant ainsi l'introduction de groupes carbonyles dans les protéines.

Tous les acides aminés sont susceptibles d'être oxydés par les ROS, ce qui conduit à la formation de groupements carbonyles. Les acides aminés soufrés tels que la cystéine et la méthionine, ainsi que les acides aminés aromatiques tels que la tyrosine et le tryptophane, sont particulièrement sensibles à l'oxydation.

Ces modifications sont des réactions irréversibles. L'oxydation de certaines protéines entraîne une perte de leur fonction catalytique pour de nombreuses enzymes cellulaires ou structurales, et les protéines de transport deviennent inactivées et sensibles aux protéases (**Birben et al., 2012**).

II.4.3. La peroxydation lipidique

Les radicaux libres peuvent attaquer les lipides, en particulier les acides gras polyinsaturés (AGPI), qui sont leur cible privilégiée en raison de la présence de doubles liaisons sensibles à l'oxydation. Cette réaction est appelée peroxydation lipidique et se déroule en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison.

Lors de l'initiation, le radical hydroxyle peut arracher un hydrogène situé entre deux doubles liaisons, formant ainsi un radical diénique conjugué qui sera ensuite oxydé en radical peroxy. Ce radical peroxy formé peut à son tour réagir avec un autre acide gras, formant ainsi un nouveau radical diénique conjugué.

L'attaque des lipides circulants conduit à la formation de LDL (lipoprotéines de basse densité) oxydées, qui sont ensuite captées par les macrophages et contribuent à la formation des dépôts

lipidiques présents dans la plaque d'athérome associée aux maladies cardiovasculaires. L'attaque des phospholipides membranaires altère la fluidité de la membrane, ce qui a un impact sur le fonctionnement de nombreux récepteurs, transporteurs et voies de transduction des signaux (Favier, 2003).

II.5. les défenses antioxydants

Les antioxydants sont les facteurs principaux de la défense contre le stress oxydative induit par les radicaux libres, Les antioxydants peuvent être classés selon leurs origines en deux classes les antioxydants enzymatiques et les non enzymatiques localisés dans les compartiments intra et extracellulaires (Pincemail et al., 2002).

II.5.1. Système antioxydant enzymatique

Il s'agit principalement de trois enzymes qui sont les défenses antioxydants enzymatiques telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et le glutathion peroxydase (Mika et al., 2004).

II.5.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Les SOD représentent une des premiers lignes de défense antioxydante, ces métalloprotéines catalysent la réaction de dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire (Goudable & Favier, 1997).



On décrit 3 isoenzymes :

- Une forme cytosolique (Cu /Zn-SOD)
- Une forme mitochondriale (Mn-SOD)
- Une forme extracellulaire (Ec- SOD) (Frank et al., 2004).

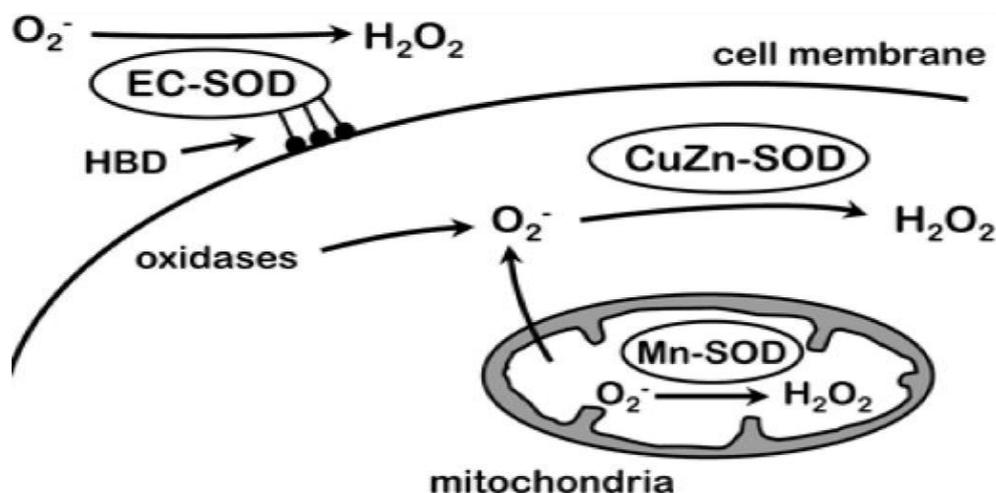


Figure 03 : Les trois isoenzymes de la SOD (Frank et al., 2004).

II.5.1.2. La catalase (CAT)

C'est une enzyme hémérique que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Le catalase est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Sharma et al., 2012**).

Selon la réaction suivante :



II.5.1.3. Glutathion peroxydases (GPxs)

La glutathion peroxydase est une sélénoprotéine (cinq isoformes), qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur, elle a un rôle important qui consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques produits par le stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (**Haleng et al., 2007**).

Les peroxydases sont formées de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium, elle catalyse la réduction d'une variété d'hydroperoxydes (ROOH et H₂O₂) à l'aide de GSH pour protéger les cellules de mammifères contre les dommages oxydatifs.

Selon la réaction suivante :



II.5.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation.

II.5.2.1. Glutathion

Le glutathion (GSH) est un tripeptide composé de trois acides aminés, à savoir l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. Il s'agit d'un thiol non protéique essentiel dans les organismes vivants, jouant un rôle crucial dans la coordination des mécanismes de défense antioxydante naturelle (**Lushchak, 2012**).

En tant que tripeptide contenant de la cystéine, le glutathion possède des propriétés réductrices et nucléophiles qui protègent les cellules contre les dommages oxydatifs causés aux lipides, protéines et acides nucléiques. En tant que cofacteur des glutathion peroxydases et des glutathion-S-transférases, le GSH joue un rôle important dans la protection et la détoxification lors d'un stress oxydatif. Il fonctionne en collaboration avec d'autres éléments du système de défense antioxydante tels que la vitamine C, la vitamine E et les superoxyde dismutases (**GerardMonnier & Chaudière, 1996**).

II.5.2.2. Vitamine E

La vitamine E est l'antioxydant le plus important pour les lipides. Elle se compose d'un ensemble de composés appelés tocophérols (α -tocophérol, β -tocophérol, γ -tocophérol et δ -tocophérol). En raison de sa nature hydrophobe, la vitamine E peut s'insérer dans les acides gras des membranes cellulaires et des lipoprotéines. Parmi ces composés, les tocophérols α et δ sont les plus dotés de propriétés antioxydantes intéressantes (Vertuani et al., 2004).

II.5.2.3. Vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) est l'antioxydant le plus important présent dans les compartiments hydrophiles. Le radical α -tocophéroxyle peut jouer un rôle pro-oxydant et contribuer à la propagation de la réaction en chaîne de peroxydation lipidique. Il a été démontré que l'acide ascorbique joue un rôle crucial dans la neutralisation des radicaux libres, qui sont les plus néfastes pour les composants cellulaires, tels que le peroxydant et le superoxyde (Vertuani et al., 2004).

II.5.2.4. Oligoéléments

Les métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) jouent un rôle crucial dans la protection contre le stress oxydatif. Pour maintenir leur activité catalytique, toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur spécifique. Ainsi, le manganèse est nécessaire à la SOD cytosolique, qui contient du cuivre et du zinc, le fer est nécessaire à la catalase, et le sélénium est nécessaire à la GPx. Tous ces cofacteurs sont essentiels pour le fonctionnement de la SOD mitochondriale (Haleng et al., 2007).

II.5.2.5. Les polyphénols

Sont des métabolites secondaires des plantes aromatiques et sont largement répandues dans le règne végétal. L'effet protectif des polyphénols semble être dû à leur large éventail d'actions biologiques, tels que le piégeage des radicaux libres, la chélation des métaux, et les capacités de modulation d'enzymes, ainsi que leurs effets sur les voies de signalisation cellulaire et sur l'expression des gènes (Rodrigo et al., 2011).

II.5.2.6. Les caroténoïdes

Ils sont représentés par le bêta-carotène, également connu sous le nom de « provitamine A ». Du fait de leur faible concentration dans l'organisme, leurs rôles antioxydants sont considérés comme faibles, mais complémentaires des principaux systèmes décrits plus haut. Le bêta-carotène piège les radicaux peroxydes ROO et désactive l'oxygène (Krinsky, 1989).

II.5.2.7. Le Coenzyme Q10

Le Coenzyme Q10, également connu sous le nom d'ubiquinone en raison de sa présence ubiquitaire dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique à longue chaîne latérale isoprénique. La molécule possède une caractéristique lipophile grâce à sa chaîne latérale, ce

qui lui permet de pénétrer dans les membranes et les lipoprotéines. En synergie avec la vitamine E, il est un puissant inhibiteur de la peroxydation lipidique et joue un rôle essentiel dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons (**Haleng et al., 2007**).

II.5.2.8. L'acide urique

Le produit final principal du métabolisme des purines chez l'homme est l'acide urique. À pH physiologique, l'acide urique est présent sous forme d'urate, qui est un puissant piègeur de radicaux (OH, ROO, NOO). L'urate est principalement ionisé à pH physiologique. Ces réactions génèrent différents types de radicaux libres qui sont ensuite neutralisés, notamment grâce à l'action de la vitamine C (**Haleng et al., 2007**).

Chapitre III
Diabète et stress
oxydatif

III.1. La relation entre le stress oxydant et les complications diabétiques

Le diabète est caractérisé par une hyperglycémie chronique qui va induire l'activation des voies suivantes qui vont déclencher des complications diabétiques

- La voie des polyols
- La production des produits terminaux de la glycation
- La voie de la protéine kinase C
- Auto oxydation de glucose (Defraigne & Pincemail, 2008).

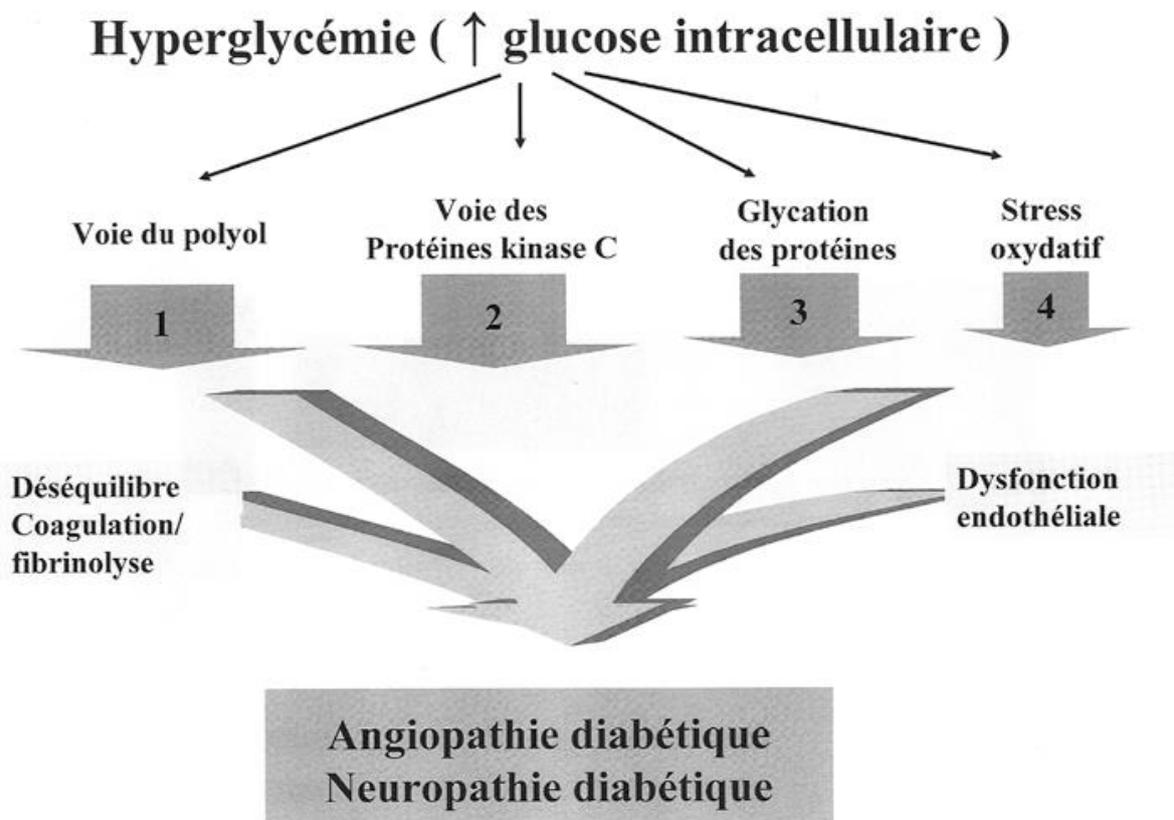


Figure 04 : Mécanismes biochimiques susceptibles d'expliquer la relation entre l'hyperglycémie (l'augmentation de concentration intracellulaire de glucose) et les complications diabétiques (angiopathie et neuropathie). La production de radicaux libres semble jouer un rôle central dans cette relation (Defraigne & Pincemail, 2008).

Ces voies pathogéniques conduisent à une augmentation du stress oxydant et sont impliquées dans l'apparition des complications diabétiques. Les systèmes de défense de l'organisme vont se diminuer, ce qui provoque une destruction des cellules bêta du pancréas qui sécrètent l'insuline, ainsi qu'une diminution de l'action de l'insuline. Cette diminution de l'action de

l'insuline entraîne une augmentation de la concentration de glucose dans le sang, ce qui peut déclencher le développement du diabète.

III.2. Les mécanismes pathogéniques associés au stress oxydant chez les diabétiques

III.2.1. Activation de la voie des polyols

En cas d'hyperglycémie, le glucose est transformé en sorbitol et ensuite en fructose par la voie des polyols, car l'hexokinase, qui métabolise normalement le glucose en glucose-6-phosphate, est saturée. Cette conversion est réalisée par deux enzymes : l'aldose réductase réduit le glucose en sorbitol, puis le sorbitol déshydrogénase oxyde le sorbitol en fructose. Ces réactions entraînent une augmentation du ratio NADH/NAD⁺, qui est un indicateur important de l'état redox de la cellule et constitue l'une des principales conséquences de l'activation de la voie des polyols. De plus, cette activation entraîne une diminution du NADPH (nicotinamide dinucléotide phosphate réduit) nécessaire à l'activité de la glutathion réductase, ce qui induit une réduction des capacités antioxydants et une augmentation du stress oxydant (**Haleng et al., 2007**).

III.2.2. Auto oxydation de glucose

L'oxydation du glucose entraîne la production d'espèces réactives de l'oxygène et forme l'aldéhyde du glucose, qui peut se fixer sur les protéines contenant des résidus de carboxyméthyllysine. Cette interaction entraîne la capture du cuivre et provoque des réactions conduisant à la production de radicaux libres et à une augmentation de la peroxydation lipidique. C'est pourquoi le diabète est associé à des complications cardiovasculaires (**Haleng et al., 2007**).

III.2.3. La production de produits terminaux de glycation (AGE)

Les produits de glycation avancée (AGE), présents en concentration élevée dans la rétine et les glomérules rénaux, jouent un rôle dans l'apparition des complications diabétiques. Ces produits se forment par la réaction entre le glucose et les groupements aminés libres des protéines, donnant naissance à des produits d'Amadori qui se dégradent ensuite en produits terminaux de glycation. Les AGE peuvent se lier aux récepteurs (RAGE) présents sur les cellules endothéliales, les cellules glomérulaires et les macrophages. L'activation de ces récepteurs entraîne la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et active le facteur de transcription NF- κ B (facteur nucléaire kappa-B), perturbant ainsi la transcription des gènes.

La pentosidine, qui résulte de la réaction entre le pentose et les protéines, est un indicateur important de la glycosylation dans le diabète et un marqueur général de stress oxydant dans plusieurs maladies. Sa présence, en association avec d'autres produits AGE, indique leur implication dans les complications diabétiques (**Haleng et al., 2007**).

III.2.4. L'activation de la protéine kinase C (PKC)

L'activation de la protéine kinase PKC provoque une réduction significative du flux sanguin local, une absence de production de NO (oxyde nitrique) et/ou une augmentation de la libération d'endothéline-1 dans la cellule. Dans les cellules endothéliales, la PKC réduit l'expression de l'ARNm pour le NO induit par l'insuline. Dans les cellules mésangiales glomérulaires, l'activation accrue de la PKC induite par l'hyperglycémie stimule la MAP kinase via l'endothéline-1. L'activation des PKC augmente également la perméabilité des cellules endothéliales et l'accumulation de protéines matricielles (fibronectine, collagène de type IV).

Chez les animaux diabétiques, le traitement avec des inhibiteurs spécifiques de la PKC corrige la durée de circulation moyenne du cycle rétinien et l'altération de la filtration glomérulaire causée par le diabète (Defraigne & Pincemail, 2008).

III.3. Comment mettre en évidence un état de stress oxydant

La détection d'un stress oxydant chez un patient ne se réalise pas avec une seule analyse. De façon général 4 grand marqueurs sont retenu :

1. La détermination des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques
2. Détermination des oligo-éléments
3. Des dommages oxydatifs au niveau des lipides, de l'ADN et des protéines
4. L'identification des sources responsable de stress oxydant (inflammation, hyperglycémie...) (Defraigne & Pincemail, 2008).

III.4. Modèle d'étude du stress oxydant chez un diabétique

III.4.1. L'hémoglobine

Plus de 95 % des protéines présentes dans le cytoplasme des hématies sont représentées par l'hémoglobine (Hb) (Çimen, 2008). Les globules rouges présentent des concentrations extrêmement élevées de NO en raison de leur forte teneur en Hb. Lors de la transformation du NO en nitrate par l'OxyHb, le $HbFe^{2+}$ se lie au NO pour former le $HbFe^{2+}NO$. La molécule d'Hb passe dans l'espace extravasculaire par le biais des jonctions intercellulaires de l'endothélium. Lorsqu'elle quitte la circulation, la molécule tétramérique d'Hb bloque efficacement le NO. La concentration élevée d'Hb à l'intérieur des érythrocytes expose continuellement le fer ferreux de l'Hb à des concentrations élevées d'oxygène, ce qui entraîne un faible taux de NO.

L'auto-oxydation de l'Hb peut générer des quantités importantes de ROS. Les variations occasionnelles de la concentration en O₂ entraînent l'oxydation de l'Hb en méthémoglobine

(metHb). D'autre part, l'auto-oxydation de l'OxyHb produit de la méthémoglobine (metHb) et de l'O₂, qui se transforme ensuite en H₂O₂ (Giulivi & Daviess, 1990).

III.4.2. La méthémoglobine

La formation de méthémoglobine se produit lorsque le fer présent dans la fraction d'hème non oxygénée passe de l'état ferreux (Fe²⁺) à l'état ferrique (Fe³⁺) en raison d'une charge positive supplémentaire. La méthémoglobine ne peut pas transporter l'oxygène (O₂) ou le dioxyde de carbone (CO₂). Dans le sang d'un adulte en bonne santé, environ 99 % de l'hémoglobine se trouve à l'état ferreux, ce qui lui permet de transporter l'O₂ et le CO₂, tandis que le 1 % restant correspond à la méthémoglobine. Lorsque la concentration de méthémoglobine dépasse 1 % dans les globules rouges, cela entraîne une condition appelée méthémoglobinémie (Kristina, 1998).

Dans le cas d'un globule rouge normal, quatre mécanismes interviennent pour maintenir le fer de l'Hb à l'état ferreux (Fe²⁺) ou pour réduire la méthémoglobine afin de la maintenir à un taux de 1 % (Coleman, 2000).

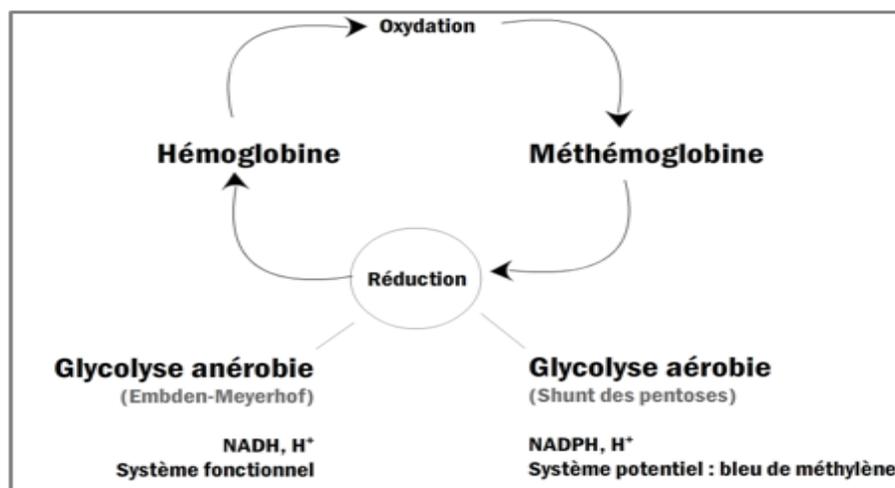


Figure 05 : Schéma général de la formation et de la réduction de la MetHb.

(<https://www.analyticaltoxicology.com/methemoglobinemias-et-sulfhemoglobinemias/>)

III.4.3. L'hémoglobine glyquée

L'hémoglobine glyquée est une molécule d'hémoglobine qui a subi une réaction de glycation. Sa concentration s'exprime en pourcentage et en mmol/mol une valeur située entre 4 et 6 % (20 à 42 mmol/mol) (Zendjabil, 2015). Cette réaction consiste la fixation de glucose sur la fonction amine N-terminale d'une protéine (NH₂), sur l'une des chaînes d'hémoglobine. Le taux d'hémoglobine glyquée reflète le niveau de contrôle glycémique, cela

est généralement plus élevé chez les diabétiques. Le dosage de l'HbA1c utilisé comme critère de diagnostic du diabète ou du pré diabète, sa valeur normale est comprise entre 3,5% et 6% ne pas dépasser 7% plus la valeur augmente, plus le risque de complication du diabète augmente. De nombreuses études ont démontré que le dosage de l'HbA1c constitue un outil important dans la prise en charge des patients diabétique, concernant les patients diabétiques de type 1 et de type 2, qui ont établi la relation existant entre la glycémie moyenne, le taux d'HbA1c et le risque de complications chroniques, qui sont due à l'hyperglycémie au long cours. Cette dernière génère un taux accru de glycation des protéines (**Sepulchre et al., 2014**).

Deuxième partie
Etude expérimentale

Chapitre I
Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Objectif

L'objectif de ce travail est d'étudier la relation entre le stress oxydatif et les complications diabétiques et la relation de la méthémoglobine avec ces deux paramètres.

I.2. Population étudiée

Cette étude a été réalisée sur 50 Femmes diabétique.

I.3. Recueil des données

Notre travail est réalisé au niveau du laboratoire de Physiologie au sein du Faculté de la médecine, Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

Les prélèvements sanguins sont effectués à la Maison du Diabétique Beau Séjour de Bejaïa, en parallèle à une collecte d'une fiche de renseignements pour chaque patient (Annexe1) qui regroupe les principales données biologiques et cliniques nécessaires pour l'étude à savoir : la glycémie à jeun, HbA1C, bilan lipidique, tension artérielle, TSH, albuminémie, créatininémie, Age, Taille, Poids, Indice de Masse Corporelle, maladies associées, âge du diabète, traitement...ect.

Le sang est recueilli dans les tubes EDTA et les échantillons sanguins collectés sont transportés à froid dans une glacière pour être acheminés au laboratoire de l'université le plus vite possible pour effectuer la séparation des sérums.

I.4. Matériels

I.4.1. Matériels divers

Centrifugeuse, Vortex, Agitateur magnétique, Spectrophotomètre à UV, Bain Marie Réfrigérateur/Congélateur, Balance analytique, PH mètre, Béchers, Eppendorfs, Micropipette, spatule, tubes à essais, Cuvette, La glace.

I.4.2. Produits et Réactifs

- ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))
- NaOH (Hydroxyde de sodium)
- TCA (acide trichloracétique)
- TBA (l'acide thiobarbiturique)
- EDTA (Ethylène Diamine Tétra-Acétique)
- Eau distillée

I.5.Méthodes

I.5.1. Séparation de sang totale

Pour cette étude, nous avons collecté du sang total humain des patients diabétiques dans des tubes EDTA. Le sang a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min, puis séparé en deux fractions surnageant (sérum) et le culot avec une micropipette on récolte le sérum seul dans deux tubes Eppendorfs et deux autres pour le culot (figure 06). Ces derniers ont été conservés à -20 C° jusqu'à la réalisation des tests.

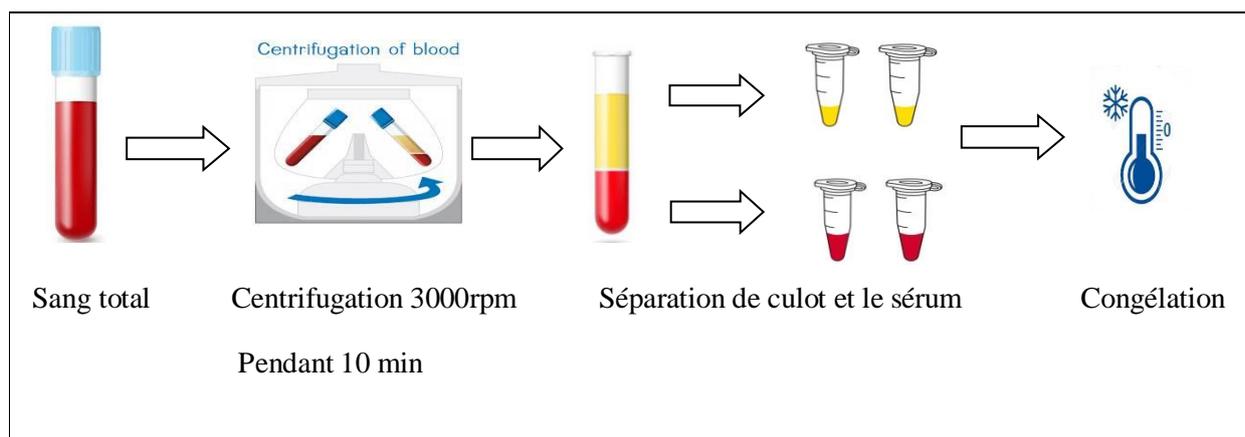


Figure 06 : Séparation du sang total.

I.5.2. Préparation d'une solution d'ABTS

Le test d'ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) est une méthode couramment utilisée pour mesurer l'activité antioxydante des échantillons. Voici les étapes pour préparer une solution d'ABTS :

- 1) peser 0.038g d'ABTS en poudre de couleur bleue et transférer dans un bécher en verre.
- 2) Ajouter 10 ml d'eau distillée dans le bécher et agiter jusqu'à dissolution complète de l'ABTS.
- 3) Préparer une solution de persulfate de potassium en poudre de couleur blanche, on pèse 0.013g dissout dans 20 ml d'eau distillée.
- 4) Mélanger 2 volumes de solution d'ABTS à 7nm + 1 volume de persulfate de potassium à 2.45nm.
- 5) Incuber le mélange dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 à 16 heures permettant la formation des radicaux ABTS.

La solution d'ABTS° a été diluée avec l'eau distillé jusqu'à ce qu'elle atteigne une absorbance comprise entre 0,700+/- 0,02 mesurée à 734 nm (**Dieng et al., 2017**).

I.6. Evaluation du statut antioxydant total (test ABTS)

Nous avons effectué le test ABTS sur les sérums et les culots cellulaires des diabétiques afin de déterminer le statut antioxydant total (test ABTS) dans le milieu intra et extracellulaire.

Un volume de 1 ml de cette solution d'ABTS° a été incubé avec 10 µl d'échantillon pendant 6 minutes et l'absorbance est ensuite mesurée à 734 nm (Figure 07). Nous avons réalisé trois essais pour chaque échantillon, et déterminez le pourcentage d'inhibition de l'ABTS° selon l'équation suivante : $\% \text{ inhibition ABTS}^\circ = \frac{\text{Abs ABTS} - \text{Abs Ech}}{\text{Abs ABTS}} \times 100$

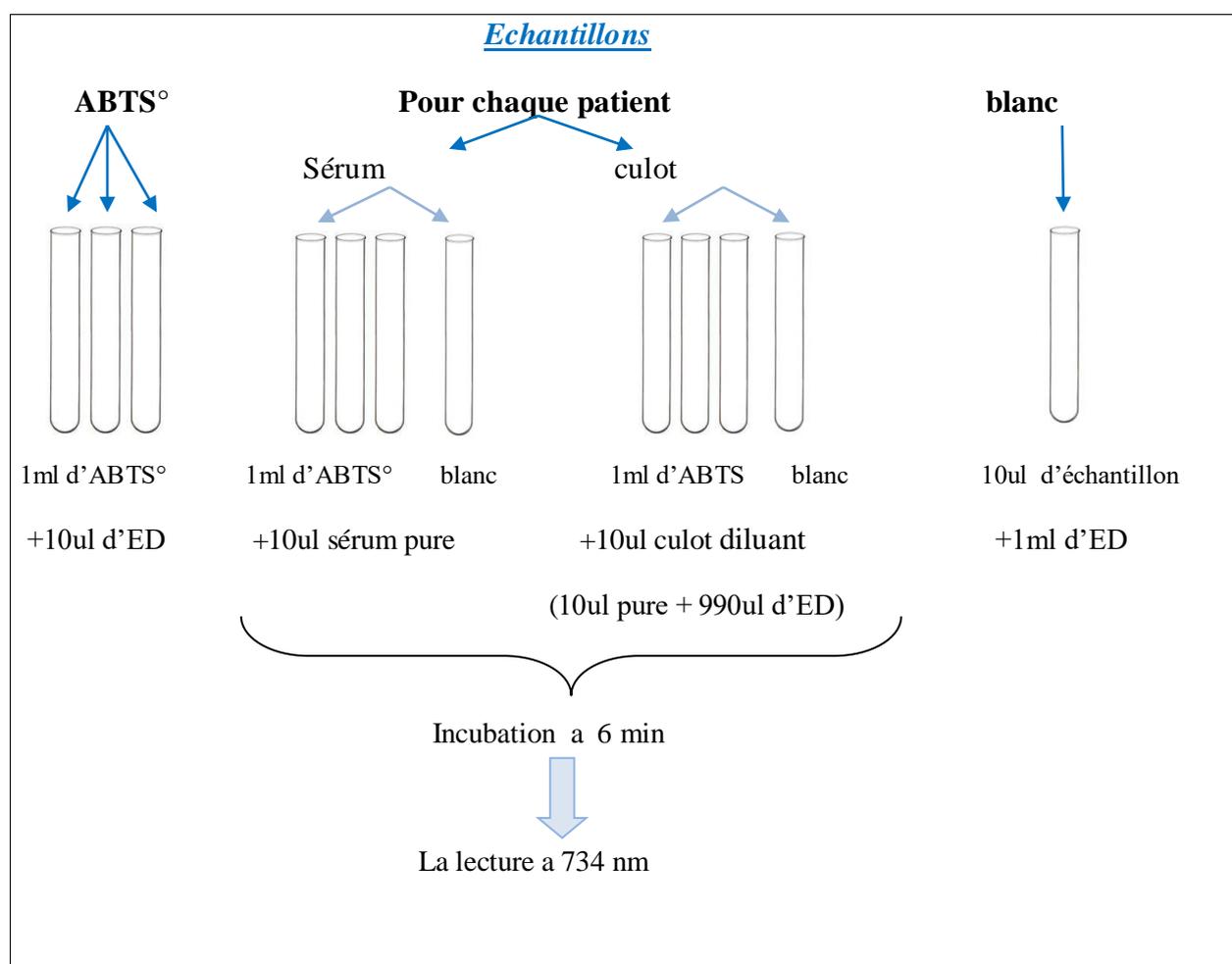


Figure 07 : Protocol de la mesure du statut antioxydant total chez les patients diabétiques.

I.7. Test mesure d'hémoglobine et méthémoglobine

C'est un test sanguin qui permet de déterminer la quantité d'hémoglobine et de méthémoglobine dans le sang d'un patient. Il est déterminé par l'absorbance de l'hémoglobine à 412 nm et de la méthémoglobine à 540 nm avec un spectrophotomètre.

Le test est utilisé pour vérifier si le niveau de méthémoglobine dans le sang est anormal. La méthémoglobine est une forme oxydée de l'hémoglobine qui ne peut pas transporter l'oxygène.

I.7.1. Mesure de l'hémoglobine

Le test est réalisé sur le sérum en dilution de 1/5 c'est-à-dire on prélève 100ul de sérum et en ajoutent 400ul de l'eau distillée, et pour le culot en dilution 1/200 (10ul du culot + 1990 d'eau distillée) puis centrifugation à 3000rpm pendant 10 min. Pour chaque échantillon on réalise 3 essais. les mesures de l'absorbance des échantillons sérum et culot sont réalisées à 412nm

I.7.2. Mesure de la méthémoglobine

Pour la méthémoglobine, les échantillons sont préparés selon le même protocole que l'hémoglobine, et les mesures de l'absorbance des échantillons (sérum, culot) sont effectués à 540nm.

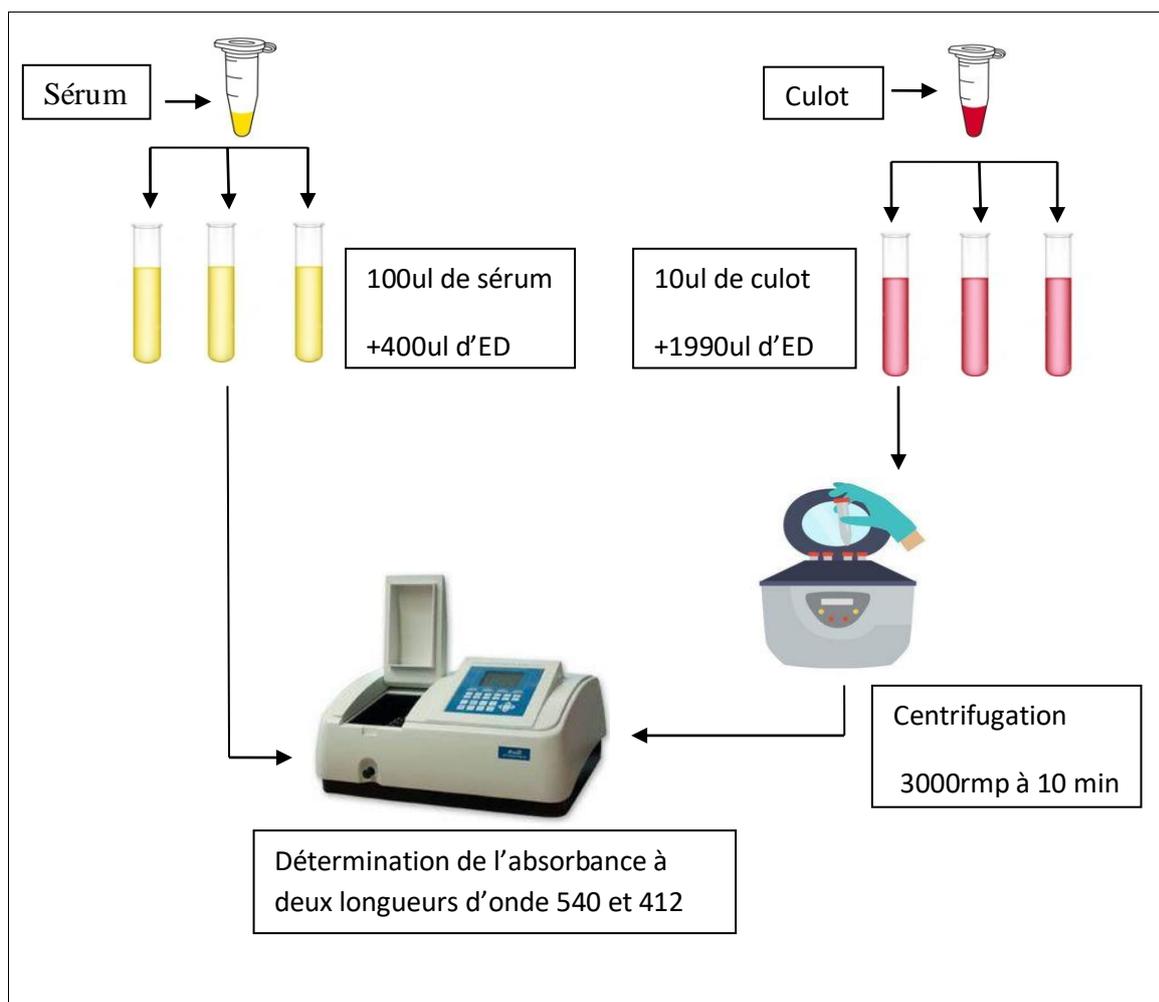


Figure 08 : Protocole de la mesure d'hémoglobine et méthémoglobine.

I.8. Evaluation de la peroxydation lipidique par la mesure des MDA (Malondialdéhyde)

Les MDA :

Le test MDA est le plus connu et le plus utilisé. Le MDA est le résultat de la dégradation des hydroperoxydes produits par la peroxydation des acides gras polyinsaturés. De plus, sa formation ne se limite pas aux lipides, il est plus souvent trouvé après sa dérivation sous la forme d'un complexe avec l'acide thiobarbiturique (TBA). Il est possible de le mesurer dans les fluides (urine, sérum) (**Guichardant et al., 2006**).

I.8.1. Préparation des échantillons

La collecte du sang des patients diabétique dans des tubes EDTA puis le centrifuger à 3000rpm pendant 10min, puis on séparer le sérum et le culot dans deux tubes Eppendorfs. Après la séparation, ces échantillons sont conservés dans le congélateur à -20°.

I.8.2. Préparation des solutions

Le TCA : est un dérivé trichloré de l'acide acétique qui se présente sous forme de cristaux incolores solubles dans l'eau. C'est une substance non nocive pour l'organisme, et sans effet allergique (**Evenou & André., 2001**). Pour la préparation d'une solution de TCA à 30%, il suffit de peser 3g de cristaux de TCA à l'aide d'une balance analytique et les dissoudre dans 10ml d'eau distillée dans un flacon en verre et mélangé.

Le TBA :

Les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est un moyen simple et rapide d'évaluer la peroxydation lipidique que les niveaux de MDA dérivé (**Davey et al., 2005**).

Le NaOH :

L'hydroxyde de sodium pur est un solide blanc, translucide et très hygroscopique (grande affinité pour l'eau). Il réagit facilement à la présence d'humidité dans l'air ou sur toute surface mouillée.

Pour la préparation d'une solution de NaOH à 0,05M, on pèse 0,02g de NaOH et on rajoute 10ml d'eau distillée puis on mélange dans un flacon.

Pour la préparation d'une solution de TBA à 1%, il suffit de mélanger 0,1g de TBA dans 10ml de la solution NaOH préparée et agiter à l'aide d'un agitateur.

L'EDTA :

Produit chimique organique qui est efficace dans de nombreuses études pour éliminer la corrosion des métaux, il est non toxique et non dangereux pour l'écosystème environnemental (Brixi & L, n.d).

Pour la préparation d'une solution EDTA, on pèse une quantité de 0,29g d'EDTA et l'ajouté dans 10ml d'eau distillée dans un flacon puis on mélange la solution à l'aide d'un agitateur.

I.8.3. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

Le dosage repose sur la formation en milieu acide et à chaud (100°C) entre le MDA et deux thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 (Lahouel et al., 2004).

La procédure

Après la décongélation des sérums et les culots, on réalise une dilution pour le culot (10µl de culot dans 1990µl d'ED) puis on centrifuge à 3000rpm pendant 10min. Récupérer 180µl de l'échantillon (sérum, culot diluée) dans des tubes en verre et ajouter 20µl d'eau distillée et pour un blanc qui contient 200µl d'ED, rajouter 500µl d'ED et 125µl de TCA préparé à 30% puis incubé à 0°C pendant 2h, suivie d'une centrifugation à 3000rpm pendant 10min à 4°C. 600µl du surnageant sont ensuite récupérés et ajoutés de 70µl de TBA à 1% et 20µl d'EDTA puis chauffer à 95°C pendant 15min suivie d'un refroidissement rapide (un choc thermique). L'apparition d'une couleur rose est l'indicateur de la présence des MDA et de la peroxydation lipidique (figure 09). L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 532nm.

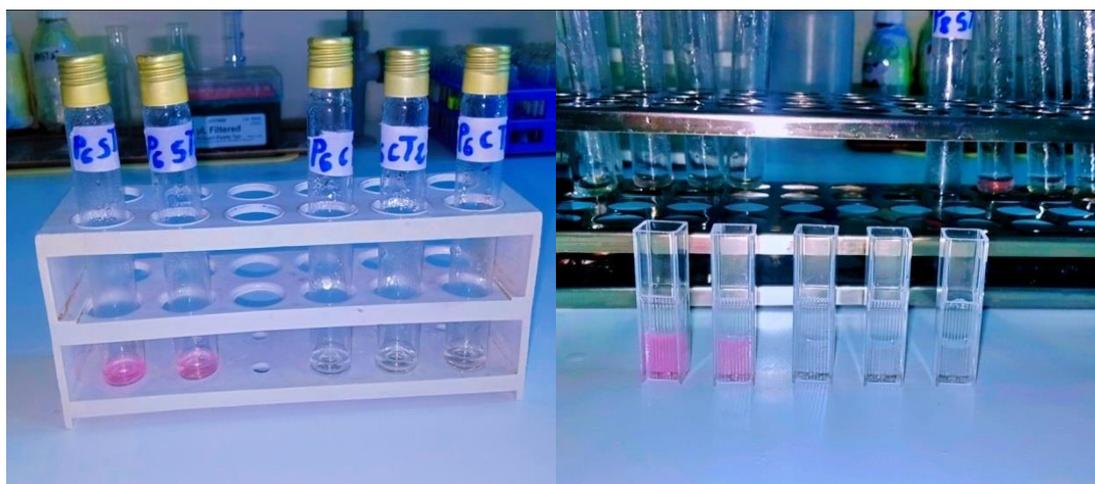


Figure 09 : L'apparition d'une couleur rose dans le test MDA.

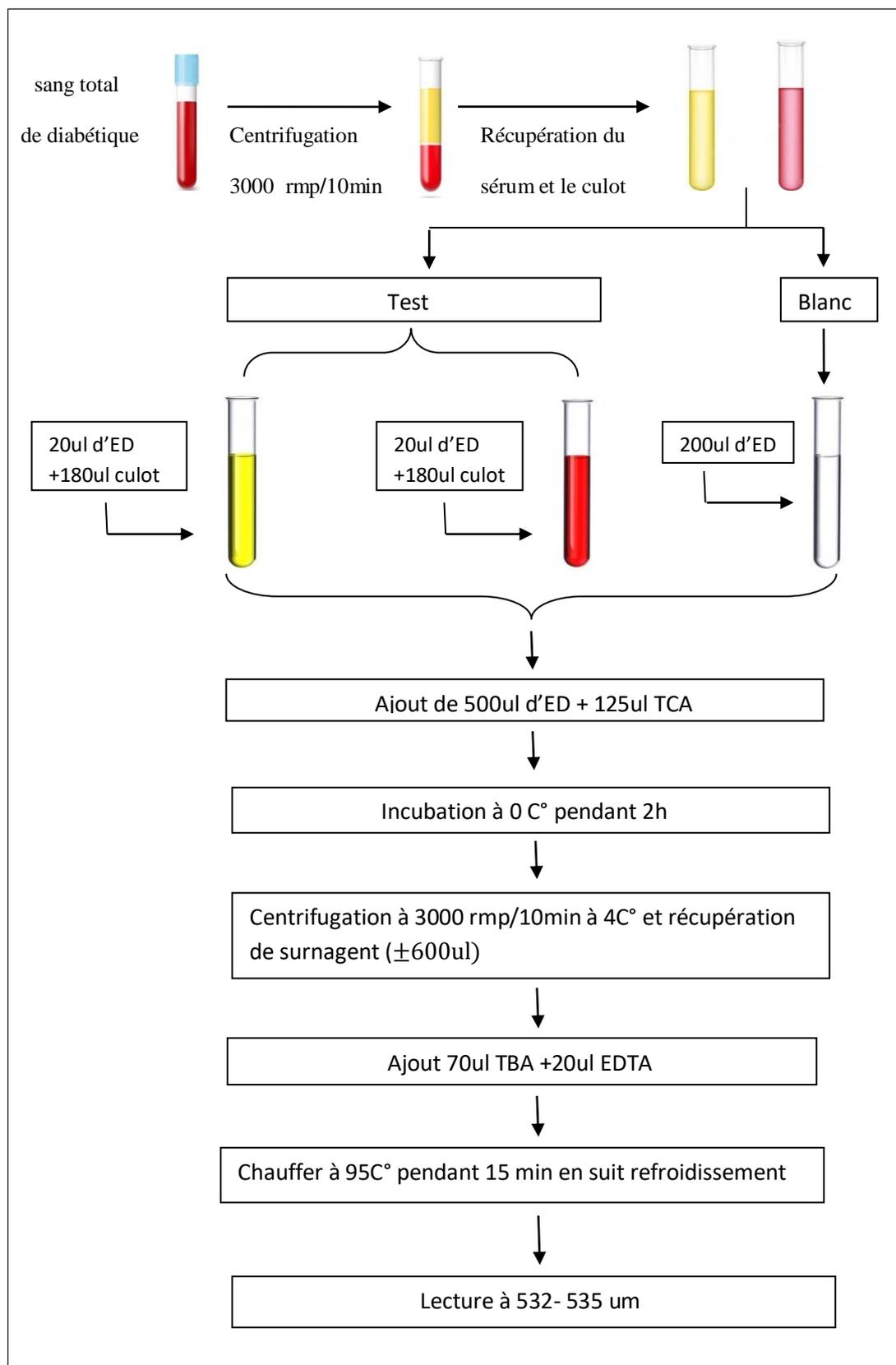


Figure 10 : Protocol de dosage du Malondialdéhyde (MDA).

Chapitre II
Résultats et discussions

II.1. Résultats

Dans cette étude, nous nous intéressons à l'étude des complications diabétiques en relation avec l'état du stress oxydatif chez les femmes. L'échantillon total sur lequel notre expérimentation est réalisée est composé de 50 femmes atteintes de diabète.

Les différentes mesures que nous avons effectuées, notamment les taux d'hémoglobine glyquée, de méthémoglobine, de malondialdéhyde et le statut antioxydant total du culot, seront étudiés en fonction des complications.

II.1.1. Résultats de l'hémoglobine glyquée

La figure 11 représente les variations des valeurs de l'hémoglobine glyquée en fonction des complications. Le graphe à gauche met en évidence la relation entre la présence ou non des complications diabétiques en relation avec le taux moyen de l'hémoglobine glyquée (HbA1c). Il indique que le taux d'HbA1c est généralement inférieur à 7,5 % en l'absence de complications diabétiques, mais qu'il augmente lorsque des complications surviennent.

Le deuxième graphique à droite montre comment la présence de différentes complications diabétiques peut être affectée par l'hémoglobine glyquée (HbA1c). Par exemple, une rétinopathie diabétique de stade IV ou une insuffisance rénale de stade IV associée à une neuropathie peuvent entraîner des valeurs plus élevées, atteignant environ 10,8 à 11 %. En revanche, si moins de complications sont présentes (par exemple, une néphropathie, une rétinopathie proliférante de stade II et une neuropathie), le taux moyen d'HbA1c peut diminuer.

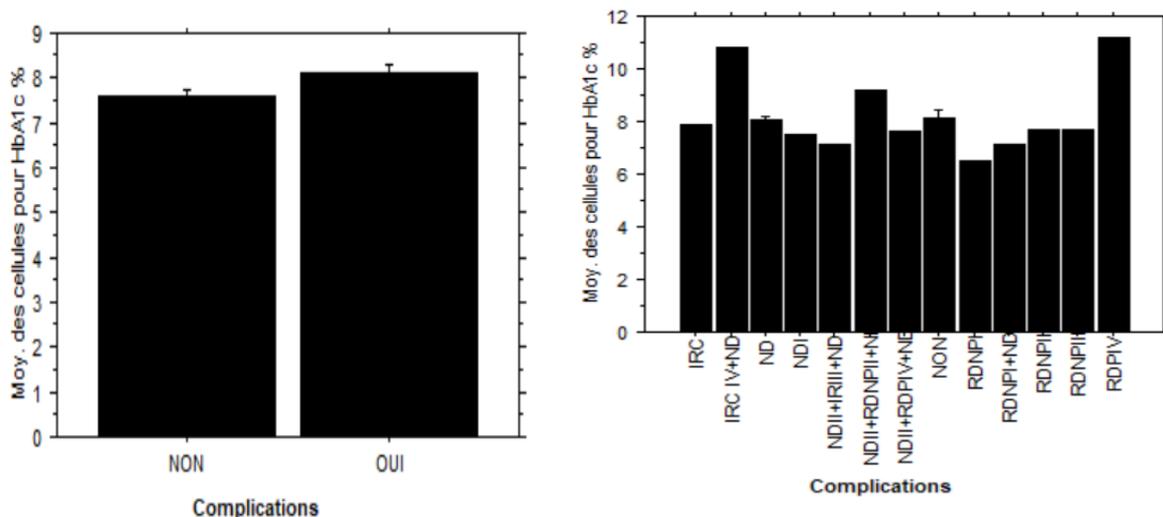


Figure 11 : Histogrammes montrant la présence ou non des complications diabétiques (graphe à gauche) et des différentes complications (graphe à droite) en fonction de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) chez les patientes diabétiques femmes.

II.1.2. Résultats de méthémoglobine

La figure 12 représente les variations des valeurs de la méthémoglobine en fonction des complications. Le graphe à gauche illustre comment les valeurs de méthémoglobine varient en fonction de la présence ou de l'absence de complications diabétiques. En l'absence de ces complications, le taux de méthémoglobine est moins élevé (0,7) que lorsque des complications sont présentes, où le taux de méthémoglobine est plus élevé, atteignant une valeur de 0,9. Le schéma à droite décrit de manière individuelle les différentes complications, mais aussi leurs associations. Lorsqu'il y a plusieurs complications telles que la néphropathie, la rétinopathie diabétique proliférante IV et la neuropathie, les valeurs de méthémoglobine augmentent en conséquence. Cela indique que plus le nombre de complication est important, plus les valeurs de la méthémoglobine sont élevées. De plus, les valeurs élevées indiquent des stades plus avancés des maladies. Lorsqu'on observe seulement une ou deux complications, les valeurs de la méthémoglobine sont moins importantes. Comparées aux valeurs de la méthémoglobine entre l'insuffisance rénale et la rétinopathie diabétique, on remarque que les valeurs sont plus élevées dans l'insuffisance rénale plutôt que dans la rétinopathie. De plus, lorsque la neuropathie diabétique est associée à une insuffisance rénale IV, le taux de méthémoglobine augmente légèrement.

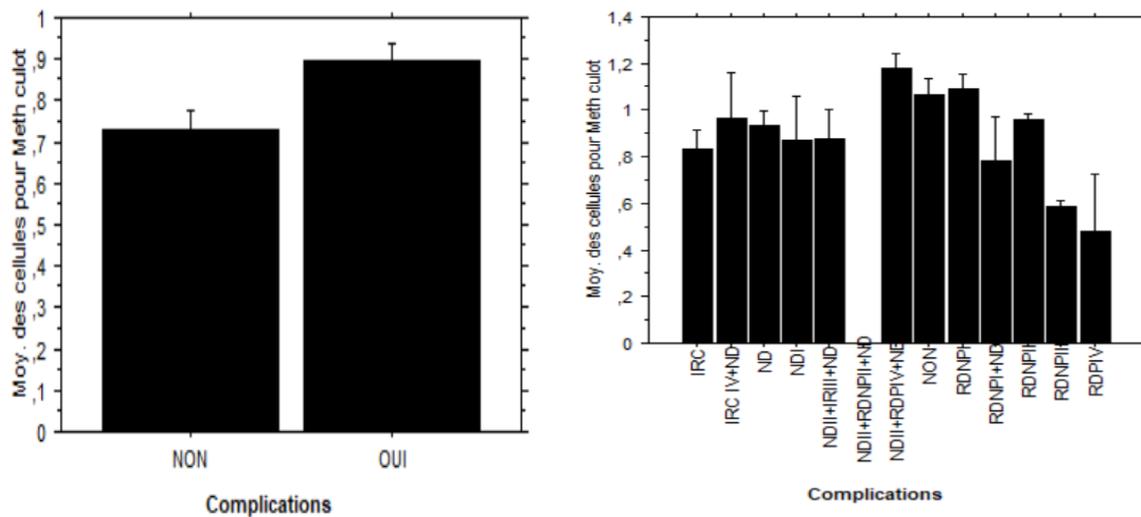


Figure 12 : Histogrammes montrant la présence ou non des complications diabétiques (graphe à gauche) et des différentes complications (graphe à droite) en fonction de la méthémoglobine (Meth) chez les patientes diabétiques femmes.

II.1.3. Résultats des MDA

La figure 13 représente les variations des valeurs des MDA (malondialdéhyde) en fonction des complications. Le graphe à gauche illustre comment les valeurs des MDA varient en fonction de la présence ou de l'absence de complications diabétiques. En l'absence de

complications, le taux de MDA est moins élevé, tandis qu'en présence de ces complications, le taux de MDA augmente légèrement, ce qui indique la présence de peroxydation lipidique.

Le graphique de droite montre des taux élevés de MDA associés à une insuffisance rénale chronique et à plusieurs complications telles que la néphropathie, la rétinopathie diabétique proliférante de stade II et la neuropathie. Nous pouvons voir que si une seule complication survient, les niveaux de MDA diminuent.

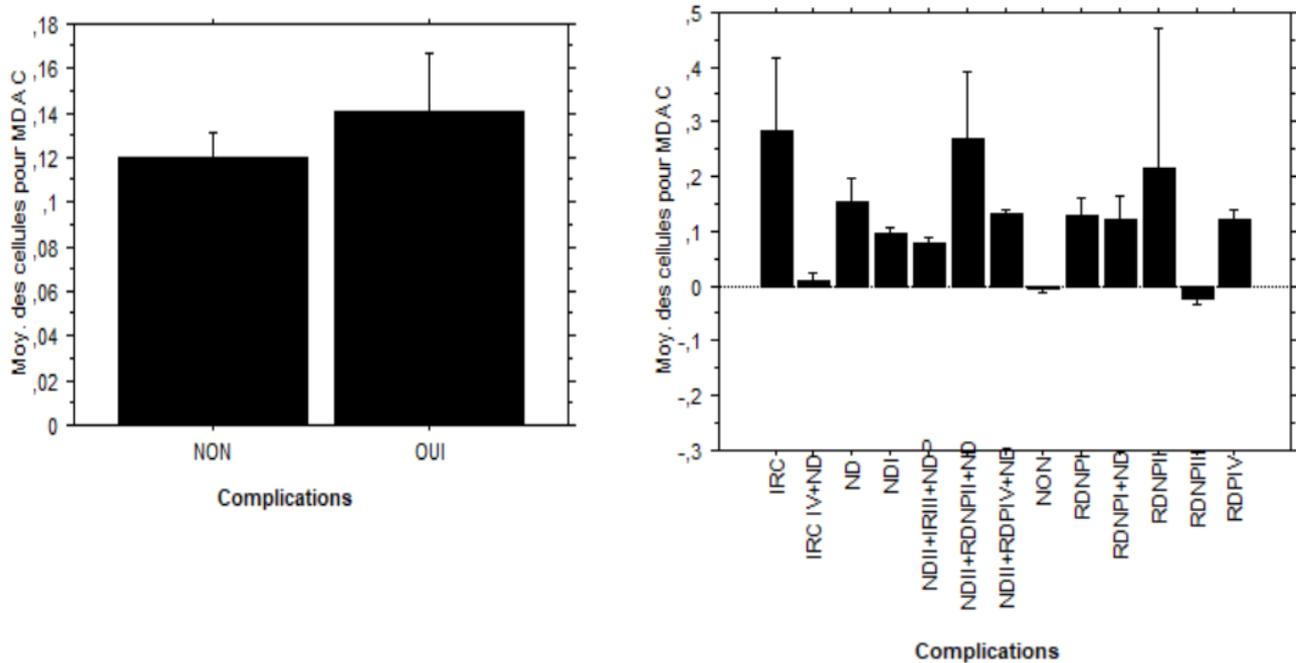


Figure 13 : Histogrammes montrant la présence ou non des complications diabétiques (graphe à gauche) et des différentes complications (graphe à droite) en fonction de du MDA chez les patientes diabétiques femmes.

II.1.4. Résultats de l'étude sur des statuts antioxydant

La figure 14 représente les variations des valeurs du SAT (Statut Antioxydant Total) en fonction des complications. Le graphe à gauche illustre comment les valeurs du SAT varient en fonction de la présence ou de l'absence de complications diabétiques. D'après le graphique, on observe une augmentation du statut antioxydant total en fonction des complications diabétiques. Plus précisément, le graphique de gauche montre qu'en l'absence de complications diabétiques, le statut antioxydant peut légèrement diminuer par rapport à sa présence, bien que les valeurs soient très proches.

En revanche, le graphique de droite indique une augmentation significative du statut antioxydant en cas d'insuffisance rénale associée à une neuropathie, et une forte baisse en cas

d'insuffisance rénale chronique. Lorsqu'une seule complication ou plusieurs complications telles que la néphropathie, la neuropathie, l'insuffisance rénale chronique ou la rétinopathie diabétique proliférante de stade III ou IV sont observées, le statut antioxydant peut légèrement diminuer.

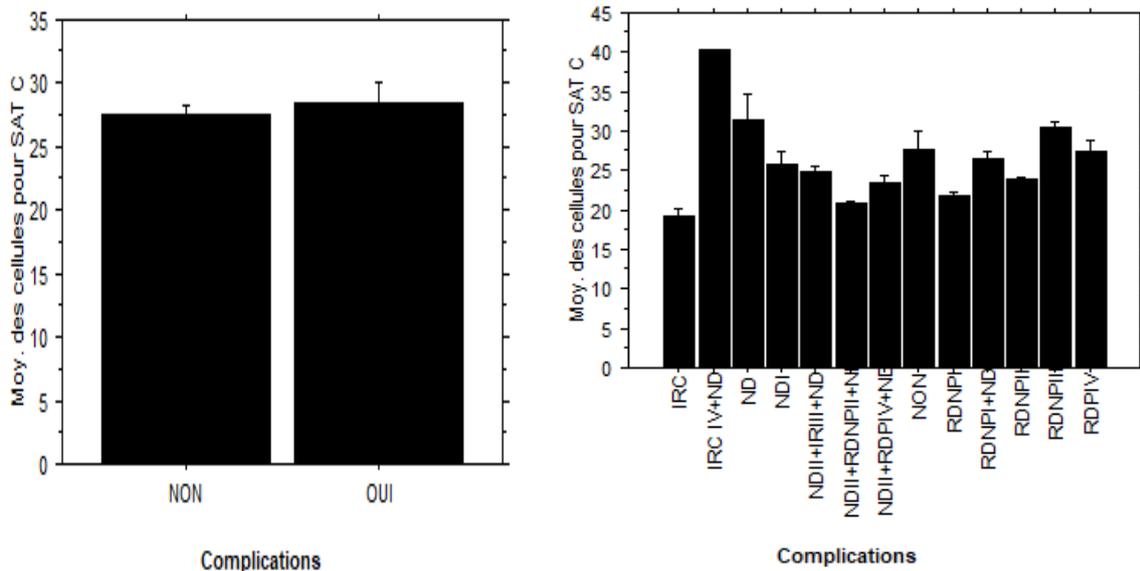


Figure 14 : Histogrammes montrant la présence ou non des complications diabétiques (graphe à gauche) et des différentes complications (graphe à droite) en fonction du statut antioxydant total (SAT) chez les patientes diabétiques femmes.

II.2. Discussion

Il est rapporté dans la littérature que la forte concentration de glucose dans les milieux extra- et intracellulaires provoque un stress oxydant, qui est déterminé comme un déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants. Les résultats de l'analyse glycémique montrés sur la figure 11 montrent une élévation significative de la glycémie exprimée par le pourcentage de l'hémoglobine glyquée. La population étudiée est donc mal équilibrée et serait exposée à l'apparition avancée des complications diabétiques (**Kassab et al., 2003**).

Une étude dirigée par le DCCT sur les diabétiques de type 1 a montré qu'une baisse de 1 % d'HbA1c s'accompagne d'une diminution de 43 % du risque de rétinopathie. Aussi les résultats de l'UKPDS montrent qu'une diminution ou une augmentation de 1 % s'accompagne d'une diminution ou d'une augmentation de 10 à 20 % du risque de complications. Pour le diabète de type 2, les résultats de l'UKPDS montrent qu'une diminution ou une augmentation de 1 % d'HbA1c exprime 17 à 30 % du développement du risque micro- ou macro-vasculaire.

Les études les plus récentes montrent que toute diminution de l'HbA1c s'accompagne d'une réduction de la morbidité (**Zendjabil, 2015**).

La diminution du statut antioxydant total témoigne de la présence d'un stress oxydatif intense chez les patients diabétiques. Ce résultat s'expliquerait par la glycation des antioxydants due à la fixation de concentrations importantes de glucose sur des protéines, surtout lorsqu'il s'agit de diabétiques déséquilibrés. Dans ce sens, chez les patients diabétiques présentant une complication neuropathique, il est montré que cela peut s'expliquer par une diminution du glutathion (GPX) (antioxydant) (**Kassab et al., 2003**). L'augmentation du SAT peut se justifier par l'augmentation du premier enzyme de lutte antioxydante, qui est le superoxyde dismutase (SOD), montrant ainsi l'existence d'un stress oxydatif et une réaction de défense antioxydant (**Comlan Jules Gninkoun, 2019**).

Le MDA est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique. Il existe un lien évident entre la peroxydation des lipides et la concentration du glucose, qui joue un rôle dans la peroxydation lipidique accrue dans le diabète. L'étude menée par Bhutia et al. a noté des augmentations significatives des taux de MDA associées à une augmentation de la glycémie à jeun dans le diabète de type 2 mal contrôlé. Les concentrations de MDA étaient positivement corrélées au pourcentage de l'HbA1C, qui est un meilleur indicateur de la glycémie (**El Omri et al., 2016**).

Une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA) peut être utilisée pour détecter le MDA. La détection du MDA provenant de la dégradation des acides gras polyinsaturés avec trois ou quatre doubles liaisons peroxydées est une méthode très sensible pour identifier la lipoperoxydation. Le principe de ce dosage est basé sur la condensation du MDA en milieu acide et chaud avec l'acide thiobarbiturique pour former un pigment (rose). Les taux élevés de MDA indiquent donc un stress oxydatif, portant notamment sur l'oxydation des lipides (**Esterbauer et al., 1992**).

La méthémoglobine est une forme oxydée de l'hémoglobine produite lorsque les globules rouges subissent une oxydation excessive. Si le taux de méthémoglobine dans le sang augmente, cela peut engendrer un stress oxydatif dans les cellules et les tissus. La présence de méthémoglobine peut également entraîner une augmentation de la production de radicaux libres dans le corps, qui peuvent causer un stress oxydatif accru si leur niveau devient trop élevé. Il est donc important de surveiller attentivement le taux de méthémoglobine dans le sang afin de prévenir les effets néfastes sur la santé liés au stress oxydatif.

D'après les résultats du présent travail, il est montré que les niveaux de méthémoglobine étaient significativement plus élevés chez les femmes diabétiques atteintes de complications microvasculaires telles que la néphropathie diabétique et la rétinopathie diabétique. Ces résultats suggèrent que la méthémoglobine pourrait être impliquée dans le développement de ces complications chez les patients diabétiques, ou du moins être un marqueur de ces complications chez la femme.

Conclusion

Conclusion

La recherche sur le stress oxydatif et les complications du diabète chez les femmes a montré que le stress oxydatif joue un rôle important dans le développement et la progression des complications du diabète. Les niveaux de stress oxydatif, contribuent à l'apparition de complications telles que la neuropathie, la rétinopathie, la néphropathie et les maladies cardiovasculaires. Les résultats du présent travail ont révélé que la méthémoglobine, une forme oxydée de l'hémoglobine, est liée aux complications retrouvées chez la femme diabétique. Elle est liée aussi bien à la présence ou l'absence des complications mais aussi à un certain degré à l'association de ces complications et leur gravité. La production accrue de méthémoglobine peut entraîner une augmentation des espèces réactives de l'oxygène, qui endommageront les cellules et les tissus, contribuant ainsi aux complications du diabète. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'intérêt de la méthémoglobine dans l'étude du diabète en général et son implication dans les complications en particulier.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

1. Agarwal, A., Sharma, R., Gupta, S., Harlev, A., Ahmad, G., du Plessis, S. S., Esteves, S. C., Wang, S. M., & Durairajanayagam, D. (2017). Oxidative stress in human reproduction: Shedding light on a complicated Phenomenon. *Oxidative Stress in Human Reproduction: Shedding Light on a Complicated Phenomenon*, 1–190.
2. **American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes** .(2019). *Diabetes Care*, 42(Suppl 1), 90-102.
3. **Ardigo, S., & Philippe, J.** (2008). Hypoglycémie et diabète. *Revue Medicale Suisse*, 4(160), 1376-1382.

B

4. **Birben, E., Sahiner, U., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O.** (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense Mechanism in. *WAO Journal*, 22(96), 9–19.
5. **Brix N. Bezzar A. et SAIL L.** Etude de l'efficacité inhibitrice de l'edta dans des milieux neutres et basiques par la méthode gravimétrique . *Introduction* , 35(1), 21–25.

C

6. **Chevenne, d., & Fonfrède, m.** (2001). actualité sur les marqueurs biologiques du diabète. *immuno-analyse et biologie specialisee*, 16(4), 215–229.
7. **Çimen, M.Y.B.** (2008). Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clinica Chimica Acta*, 390, 1–11.
8. **Clémentine, P.** (2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat en toxicologie 414 p. Paris, UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11.
9. **Coleman, M. D.** (2000). Use of In Vitro Methaemoglobin Generation to Study Antioxidant Status in the Diabetic Erythrocyte. *Biochemical Pharmacology*, 60, 1406-1416.
10. **Comlan Jules Gninkoun.** (2019). Statut des marqueurs du stress oxydatif au service de médecine interne et d'endocrinologie de l'hôpital du Mali. *Mali Medical*, 34(2), 45-51.

D

11. **Davey, M. W., Stals, E., Panis, B., Keulemans, J., & Swennen, R. L.** (2005). High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. *Analytical Biochemistry*, 347(2), 201–207.
12. **Defraigne, J. O., & Pincemail, J.** (2008). Stress oxydant et antioxydants: Mythes et réalités. *Revue Medicale de Liege*, 63(SPEC. ISS.), 10–19.
13. **Dieng, S. I. M., Fall, A. D., Diatta-Badji, K., Sarr, A., Sene, M., Sene, M., Mbaye, A., Diatta, W., & Bassene, E.** (2017). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(2), 768.
14. **Drouin, p. j.f. Blickle, b. Charbonnel, e. Eschwege, p.j. Guillausseau, p.f. Plouin, j.m. Daninos, n. Balarac, j.p. Sauvanet.** (1999). diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères. *Diabetes & Metabolism*, 25(1), 72–83.

E

15. **El Omri, N., Mekouar, F., Assoufi, N., El Khader, S., Jira, M., Sekkach, Y., Elqatni, M., Elkhatabi, A., Amezyane, T., Ghafir, D., Ibrahimi, A., & Eljaoudi, R.** (2016). Quel statut du stress oxydatif chez les diabétiques de type 2 marocains ? *Annales d'Endocrinologie*, 77(4), 513.
16. **Erika F . Brutsaert, MD.** (2022).Etat hyperglycémique hyperosmolaire (EHH).
17. **Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., & Jürgens, G.** (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(4), 341–390.
18. **Evenou, P. André, P.** (2001). Peeling à l'acide trichloracétique. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*, 1-6.

F

19. **Favier, A.** (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension. 108–115.
20. **FID.**(2019).FID DIABETES ATLAS.Fédération Internationale du Diabète ,9 éme édition.
21. **Frank M. Faraci, Sean P. Didion.** (2004). Vascular Protection Superoxide Dismutase Isoforms in the Vessel Wall, 1367–1373.

G

22. **Gariani, K., Hagon-Traub, I., & Philippe, J.** (2009). Diabète de type 1 ou 2? ou autre? *Revue Medicale Suisse*, 5(206), 1248–1253.
23. **Goldenberg, R., & Punthakee, Z.** (2013). Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndromemétabolique. *Canadian Journal of Diabetes*, 37(SUPPL5), 369-372.
24. **Goudable, J., & Favier, A.** (1997). Radicaux libres oxygenes et antioxydants. *Nutrition Clinique et Metabolisme*, 11(2), 115–120.
25. **Guichardant, M., Bacot, S., Molière, P., & Lagarde, M.** (2006). Lipid peroxidation biomarkers. *OCL - Oleagineux Corps Gras Lipides*, 13(1), 31–34.

H

26. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P.** (2007). Le stress oxydant. *Revue Medicale de Liege*, 62(10), 628–638.

J

27. **Jean-Claude Mbanyaunet Eugène Sobngwib.** (2003). Maladie microvasculaire et macrovasculaire du diabète en Afrique. 97–102.
28. **Javed, N., & Matveyenko, A. V.** (2018). Circadian etiology of type 2 diabetes mellitus. *Physiology*, 33(2), 138–150.

K

29. **Kaser, S., Winhofer-Stöckl, Y., Kazemi-Shirazi, L., Hofer, S. E., Brath, H., Sourij, H., Vila, G., Abrahamian, H., Riedl, M., Weitgasser, R., Resl, M., Clodi, M., & Luger, A.** (2019). Other specific types of diabetes and exocrine pancreatic insufficiency (Update 2019). *Wiener Klinische Wochenschrift*, 131, 16–26.
30. **Kassab, A., Laradi, S., Ferchichi, S., Omezzine, A., & Charfeddine, B.** (2003). Paramètres du stress oxydant dans le diabète de type 2 Oxidative stress parameters in type 2 diabetes mellitus. 18, 79–85.
31. **Krinsky, N. I.** (1989). Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 7(6), 617–635.

- 32. Kristina E Ward.** (2015). Méthémoglobinémie induite par la dapsone. *Les annales de la pharmacothérapie*, 32, 549-553.

L

- 33. Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., & Fillastre, J. P.** (2004). Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie*, 52(6), 314–322.
- 34. La Mutualité Socialiste-Solidaris.** (2011). L'essentiel sur les diabetes de type 1 et 2. In: *Le diabète Les clefs pour le soigner*. 3e éd. La Mutualité Socialiste. P. 12-14.
- 35. Landon M. B. Spong C. Y. Thom E. Carpenter M. W. Ramin S. M. Casey B. and Anderson G. B.** (2009). Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes. *N Engl J Med*, 361(14),1339-1348.
- 36. Lushchak, Volodymyr I.** (2012). Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions. *Journal of Amino Acids*, 1–26.

M

- 37. Matés. José M and Francisca Sánchez-Jiménez.**(1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. 95, 339–345.
- 38. Mathie Tenenbaum, Amélie Bonnefond, Philippe Froguel, Amar Abderrahmani.**(2018). Physiopathologie du diabète. *Revue francophone des laboratoires*,26-32.
- 39. Michael j. Fowler, md.**(2011). microvasculaire et macrovasculaire complications du diabète. *diabète clinique*, 29(3), 116-122.
- 40. Mika, A., Minibayeva, F., Beckett, R., & Lüthje, S.** (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*, 3(1–2), 173–193.

O

- 41. Orban, J. C., & Ichai, C.** (2008).Complications métaboliques aiguës du diabète Acute metabolic complications of diabetes mellituse. *Reanimation médicochirurgicale*, 17(8), 761–767.

P

42. **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J.** (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. 16, 233–239.
43. **Pincemail, J., Le Goff, C., Charlier, C., Gillion, P., Cheramy-Bien, J.-P., Van Honacker, E., Chapelle, J.-P., & Defraigne, J.-O.** (2009). Evaluation biologique du stress oxydant: application en routine clinique. *Nutrition & Endocrinologie*, 16–31.

R

44. **Rahman, T., Hosen, I., Islam, M. M. T., & Shekhar, H. U.** (2012). Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 03(07), 997–1019.
45. **Rodrigo, R., Miranda, A., & Vergara, L.** (2011). Clinica Chimica Acta Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clinica Chimica Acta*, 412(5–6), 410–424.

S

46. **Sepulchre, E., Lutteri, L., Cavalier, E., Guerci, B., Radermecker, R.** (2014). A propos de l'hémoglobine glyquée : les limites de son interprétation. *Revue Médicale de Liège*, 69(9), 497–503.
47. **Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. El, Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., ... Sharifi-Rad, J.** (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 1–21.
48. **Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M.** (2012). Reactive Oxygen Species , Oxidative Damage , and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions,1–26.
49. **Sowers JR, Epstein M, Frohlich ED.** (2001). Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: an update. *Hypertension*,37(4),1053-1059.

V

- 50. Vertuani Silvia , Angela Angusti and Stefano Manfredini.** (2004). The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network : An Overview,(10), 1677–1694.

W

- 51. Wolin, M. S., Ahmad, M., & Gupte, S. A.** (2005). Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: Basic concepts, current controversies, and potential importance of cytosolic NADPH. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 289(2 33-2), 159–173.

Z

- 52. Zendjabil, M.** (2015). The glycated hemoglobin: Indication, interpretation and limitations. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 73(5), 336–339.

Annexes

Annexe 01

Fiche de renseignements

Date de recrutement
N° du tube :

Numéro du dossier :
Médecin traitant
N° téléphone

-Nom :

-Prénom :

-Situation familiale : Marié(e) Divorcé(e)

-âge
Célibataire

-Nombres d'enfants :

-Profession : conjoint :

-adresse : compagne ville

Type du diabète

DT1 DT2 - âge du diagnostic

Type du traitement

Mesures hygiéno-diététiques oui non

Activité physique oui non

Mesures diététiques oui non

ADO biguanides sulfamides hypo glinides acarbose autres

Insuline rapide lente Mixe

Facteurs de risques

Tabac : oui non cig/j : arrêt depuis :

Alcool : oui non V/j : arrêt depuis :

Dyslipidémies : oui non TRT :

HTA : oui non TRT :

Contraceptions : oui non si oui laquelle :
Stérilet hormonal Pilule Patch contraceptif

ATCDS Familiaux :

Diabète HTA CVX autres

Complications du diabète

Microangiopathies Macroangiopathies

Résumé

Le stress oxydatif est un processus biochimique qui se produit lorsque les niveaux de radicaux libres, comme les espèces réactives de l'oxygène (ROS), dépassent la capacité du corps à les neutraliser avec des antioxydants. Cela peut entraîner des dommages cellulaires et des complications de santé, notamment dans le cas du diabète. Des études ont montré que les patients atteints de diabète ont souvent des niveaux élevés de stress oxydatif, ce qui peut contribuer à une variété de complications liées au diabète, telles que la neuropathie diabétique, la néphropathie diabétique et la rétinopathie diabétique. La méthémoglobine est une forme oxydée de l'hémoglobine, la protéine responsable de transporter l'oxygène dans le sang. Des études ont également suggéré que la méthémoglobine peut jouer un rôle dans le stress oxydatif chez les patients diabétiques en augmentant la production de radicaux libres et en perturbant le fonctionnement normal des cellules. L'objectif du présent travail est justement d'étudier la relation que pourrait avoir la méthémoglobine avec les complications diabétiques chez la femme. Les résultats obtenus semblent montrer que la méthémoglobine reste liée à ces complications. Les valeurs de cette molécule sont associées non seulement à la présence ou non des complications, mais aussi à un certain degré à leur nombre et à leur gravité.

Mots clés : diabète, stress oxydatif, méthémoglobine, complications diabétique.

Abstract

Oxidative stress is a biochemical process that occurs when levels of free radicals, such as reactive oxygen species (ROS), exceed the body's ability to neutralize them with antioxidants. This can lead to cell damage and health complications, especially in the case of diabetes. Studies have shown that patients with diabetes often have high levels of oxidative stress, which can contribute to a variety of diabetes-related complications, such as diabetic neuropathy, diabetic nephropathy, and diabetic retinopathy. Methemoglobin is an oxidized form of hemoglobin, the protein responsible for carrying oxygen in the blood. Studies have also suggested that methemoglobin may play a role in oxidative stress in diabetic patients by increasing free radical production and disrupting normal cell function. The objective of this work is precisely to study the relationship that methemoglobin could have with diabetic complications in women. The results obtained seem to show that methemoglobin remains linked to these complications. The values of this molecule are associated not only with the presence or absence of complications, but also to a certain degree with their number and severity.

Keywords: diabetes, oxidative stress, methemoglobin, diabetic complications.

الملخص

الإجهاد التأكسدي هو عملية كيميائية حيوية تحدث عندما تتجاوز مستويات الجذور الحرة ، مثل أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) ، قدرة الجسم على تحييدها بمضادات الأكسدة. يمكن أن يؤدي ذلك إلى تلف الخلايا ومضاعفات صحية ، خاصة في حالة مرض السكري. أظهرت الدراسات أن مرضى السكري غالبًا ما يكون لديهم مستويات عالية من الإجهاد التأكسدي ، والذي يمكن أن يساهم في مجموعة متنوعة من المضاعفات المرتبطة بمرض السكري ، مثل الاعتلال العصبي السكري ، واعتلال الكلية السكري ، واعتلال الشبكية السكري: الميثيموغلوبين هو شكل مؤكسد من الهيموغلوبين ، وهو البروتين المسؤول عن حمل الأكسجين في الدم. اقترحت الدراسات أيضًا أن الميثيموغلوبين قد يلعب دورًا في الإجهاد التأكسدي لدى مرضى السكري عن طريق زيادة إنتاج الجذور الحرة وتعطيل وظيفة الخلية الطبيعية. الهدف من هذا العمل هو على وجه التحديد دراسة العلاقة التي يمكن أن يكون للميثيموغلوبين مع مضاعفات مرض السكري لدى النساء. يبدو أن النتائج التي تم الحصول عليها تظهر أن الميثيموغلوبين لا يزال مرتبطًا بهذه المضاعفات. لا ترتبط قيم هذا الجزيء بوجود المضاعفات أو عدم وجودها فحسب ، بل ترتبط أيضًا بدرجة معينة بعدها وشدها..

الكلمات المفتاحية: مرض السكري، الإجهاد التأكسدي ، الميثيموغلوبين ، مضاعفات مرض السكري