



# REMERCIEMENTS

Mes vifs remerciements s'adressent à **Mme MOKHTARI-SOULIMANE N.**, maître de conférences à l'université de Tlemcen, qui m'a encadré, conseillé et qui a généreusement trouvé le temps et la patience de lire ce manuscrit et d'y apporter les corrections nécessaires.

Je remercie **Mme MERZOUK H.**, professeur à l'université de Tlemcen, de l'honneur de qu'elle me fait en acceptant de présider le jury ainsi de son aide et ses précieux conseils pour réaliser ce travail. Qu'elle soit assurée de ma sincère reconnaissance.

Je remercie **Mr. CHABANE SARI D.**, professeur à l'université de Tlemcen, de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de l'examiner. Qu'il soit assuré de ma sincère reconnaissance

Mes remerciements s'adressent également à **Mme ATIK F.**, professeur à l'université de Tlemcen, de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury.

Je remercie **Mr KENDOUCI TANI MS.**, médecin chef de service de médecine interne de C.H.U. Tlemcen, pour l'attention qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury. Qu'il soit assuré de ma sincère reconnaissance.

Je remercie **Mlle. SABAGH N.**, Maître de conférences à l'université de Tlemcen, pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury. Qu'elle soit assurée de ma sincère reconnaissance.

Je tiens à remercier également les personnels de la clinique de MAGHNIA, ainsi qu'au personnel de la clinique de SIDI CHAKHER. Service diabétologie (TLEMEN) pour leurs collaborations et leurs disponibilités.

# DÉDICACE

Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu arriver à réaliser ce modeste travail que je dédie :

A mes parents avec tous mes respects et ma tendresse et avec tout l'amour que je leur porte, en signe d'affection, de gratitude et de reconnaissance pour tous leurs encouragements et leurs sacrifices tout au long de mes études, que dieu les protège.

A ma sœur Soumia et son mari Fouad et son belle fille Aya nassrine.

A mes frères Mohammed et Bilal.

A toutes les familles de LAYATI, ZANOUNE et GHALEB.

A toutes mes amies .

# SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	1
--------------------	---

## SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES

I. Définition .....	5
II. Diabète de type II et métabolismes des lipoprotéines .....	6
II.1. Métabolismes des lipoprotéines .....	6
II.2. Diabète de type II et métabolismes des chylomicrons .....	8
II.3. Diabète de type II et métabolismes des VLDL .....	8
II.4. Diabète de type II et métabolismes des LDL .....	9
II.5. Diabète de type II et métabolismes des HDL .....	9
III. Diabète de type II et obésité.....	10
VI. Stress oxydatif .....	11
VI.1. Définition .....	11
VI.2. Mécanisme de défense contre les réactions radicalaires .....	12
VI.2.1. Les antioxydants enzymatiques .....	12
VI.2.2. Les antioxydants non enzymatiques .....	13
IV- Stress oxydant et Diabète de type II .....	14

## MATERIELS ET METHODES

I. population étudiée .....	16
II. Prélèvements sanguins .....	17
III. Analyses biochimiques .....	17
III.1. Dosage du glucose .....	17
III.2. Dosage de l'urée .....	17
III.3. Dosage de la créatinine. ....	17
III.4. Dosage de l'acide urique. ....	18
III.5. Dosage des protéines totales .....	18
III.6. Séparation des différentes fractions de lipoprotéines par la technique de précipitation .....	18
III.7. Analyse des lipides plasmatiques et des fractions lipoprotéines.....	19
III.7.1. Dosage des triglycérides.....	19
III.7.2. Dosage du cholestérol total.....	19

III.7.3. Dosage des apoprotéines. ....	19
IV. Détermination du statut oxydant /antioxydant .....	19
IV.1. Détermination des MDA.....	19
IV.2. Détermination du taux d'hydroperoxydes ...	20
IV.3. Détermination des protéines carbonylées.....	20
IV.4. Détermination du taux des diènes conjugués.....	21
IV.5. Dosage de l'activité de la catalase.....	21
IV.6. Dosage de la vitamine C.....	21
IV.7. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC) .....	22
V. Analyse statistique.....	23

## RESULTATS ET INTERPRETATION

I. Paramètres biochimiques chez les diabétiques non insulino-dépendants obèses.....	24
I.1. Les Teneurs sériques en glucose.....	24
I.2. Les teneurs sériques en urée, créatinine et acide urique.....	24
I.3. Les teneurs en lipides au niveau sériques et au niveau des différentes fractions des lipoprotéines .....	24
I.3.1. Les teneurs en triglycérides. ....	24
I.3.2. Les teneurs en cholestérol.....	30
I.3.3. Les teneurs en protéines totales au niveau sériques et des apoprotéines au niveau des différentes fractions des lipoprotéines... ..	30
II. Statut oxydant /antioxydant chez les diabétiques non insulino-dépendants obèses.....	35
II.1. Statut oxydant chez les diabétiques non insulino-dépendants obèses.....	35
II.1.1. Teneurs en malondialdéhydes (MDA) plasmatiques et érythrocytaires.....	35
II.1.2. Teneurs en hydro peroxydes plasmatiques et érythrocytaires.....	35
II.1.3. Teneurs en protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires. ....	35
II.1.4. Paramètres de l'oxydation <i>in vitro</i> des lipoprotéines plasmatiques.....	39
II.2. Statut antioxydant chez les diabétiques non insulino-dépendants obèses.....	39
II.2.1. Evaluation de l'activité de la catalase plasmatiques et érythrocytaires.. ..	39
II.2.2. Teneurs en vitamine C plasmatiques. ....	39
II.2.3. Pouvoir antioxydant total (ORAC)... ..	39
<b>DISCUSSION</b> .....	44
<b>CONCLUSION</b> .....	50
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	51
<b>ANNEXES</b> .....	66

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : caractéristiques de la population étudiée.....	16
<b>Tableau II</b> : Paramètres de l'oxydation <i>in vitro</i> des lipoprotéines plasmatiques chez les témoins et les diabétiques obèses.....	40
<b>Tableau III</b> : Paramètres de l'oxydation <i>in vitro</i> des lipoprotéines plasmatiques chez les témoins et les diabétiques obèses en fonction de sexes.....	40

## ANNEXES

**Tableau IV** : Teneurs sériques en glucose chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

**Tableau V** : Teneurs en urée, créatinine et acide urique chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

**Tableau VI** : Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

**Tableau VII** : Teneurs en cholestérol du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

**Tableau VIII** : Teneurs en protéines totales au niveau du sérum et au niveau des différentes fractions de lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

**Tableau IX** : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en MDA, en Hydroperoxydes et en Protéines Carbonylées chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

**Tableau X** : Teneurs en catalase plasmatiques et érythrocytaires, en vitamine C et en pouvoir antioxydants total (ORAC) chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

## LISTE DES FIGURES

<b>Fig.01 :</b> Schéma de métabolismes des lipoprotéines .....	07
<b>Fig.02 :</b> Teneurs sériques en glucose chez les témoins et chez les diabétiques obèses.....	25
<b>Fig.03:</b> Teneurs en urée, créatinine et acide urique chez les témoins et les diabétiques obèses .....	26
<b>Fig.04:</b> Teneurs en urée, créatinine et acide urique chez les témoins et les diabétiques obèses en fonction de sexes.....	27
<b>Fig.05:</b> Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses .....	28
<b>Fig.06 :</b> Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses en fonction de sexe.....	29
<b>Fig.07 :</b> Teneurs en cholestérol du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses .....	31
<b>Fig.08:</b> Teneurs en cholestérol du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses en fonction de sexe .....	32
<b>Fig.09 :</b> Teneurs en protéines totales au niveau sériques et des apoprotéines au niveau des différentes fractions des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses. ....	33
<b>Fig.10:</b> Teneurs en protéines totales au niveau sériques et des apoprotéines au niveau des différentes fractions des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses en fonction de sexe.....	34
<b>Fig.11:</b> Teneurs en Teneurs en MDA plasmatique et érythrocytaire chez les témoins et chez les diabétiques obèses .....	36
<b>Fig.12:</b> Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques et érythrocytaires chez les témoins et chez les diabétiques obèses .....	37
<b>Fig.13:</b> Teneurs en protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires chez les témoins et chez les diabétiques obèses .....	38
<b>Fig.14:</b> Activité enzymatique en catalase plasmatiques et érythrocytaires chez les témoins et chez les diabétiques obèses.....	41
<b>Fig.15:</b> Teneurs en vitamine C chez les témoins et chez les diabétiques obèses .....	42
<b>Fig.16:</b> Pouvoir antioxydant total (ORAC) chez les témoins et chez les diabétiques obèses .....	43

## ABREVIATIONS

- ADN** : acide désoxyribonucléique
- AGE** : produits de glycation avancée
- AGPI** : acides gras polyinsaturés
- CETP** : Cholesterol Ester Transfer Protein
- CL** : Cholestérol Libre
- CT** : Cholestérol Total
- DID** : diabète insulino-dépendant
- DNID** : diabète non Insulino-dépendant
- EC** : Esters de cholestérol
- EDTA** : acide éthylène-diamine-tétracétique
- EOA** : espèces oxygénées activées
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique
- HDL** : High density lipoprotéin
- HP** : Hydroperoxydes
- IDL** : Intermediar density lipoprotein
- IL-6** : interleukine-6
- IMC** : Index de masse corporelle
- LCAT** : lécithine cholestérol acyl transférase
- LDL** : Low density lipoprotein
- LPL** : lipoprotéine lipase
- MDA** : Malondialdéhyde
- NADPH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide phosphate
- PC** : protéines carbonylées
- PL** : phospholipides
- RNS** : Reactive Nitrogen Species.
- ROS** : Reactive Oxygen Species.
- SOD** : Superoxyde dismutase
- TG** : Triglycérides
- TNF $\alpha$**  : tumor necrosis factor- $\alpha$
- VLDL** : Very low density lipoprotéin

# INTRODUCTION

Le diabète sucré est devenu un grand problème de santé publique à l'échelle mondiale **(KESSLER et MOREAU, 2007)**. En effet la fréquence de cette affection est en importante augmentation au cours de ces dernières années **(WILD et al., 2004)**. La Fédération Internationale du Diabète estime qu'en 2007 il existe, 500 millions de personnes atteintes par la maladie dans le monde, et il est prévu que ce chiffre atteigne les 800 millions en 2025 **(SIMON et al., 2005; LAYBUTT et al., 2007)**. Cette prévalence augmente avec le temps, en rapport avec le changement de comportements alimentaires ainsi que la diminution de l'exercice physique entraînant le développement de l'obésité **(CALLES-EXCANDON et CIPPOLA, 2001)**.

Le diabète sucré est défini par une glycémie supérieure à 1,26 g/l (7mmol/l). Il est aussi défini par la présence de symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) associés à une glycémie supérieure ou égale 2g/l 2 heures après une charge orale de 75 g de glucose **(MOTTA et al., 2006)**.

Le diabète sucré est un syndrome regroupant un ensemble de maladies métaboliques caractérisées par la présence d'une hyperglycémie chronique **(RUTTEN et al., 2006)**. Celle-ci fait suite à une anomalie de sécrétion d'insuline (diabète insulino-dépendant) et/ou d'anomalies d'action de l'insuline sur les tissus cibles (diabète non insulino-dépendant) **(LARS RYDEN et al., 2006)**.

Le diabète insulino-dépendant (DID): est une maladie auto-immune **(BAXTER et DUCKWORTH, 2004; SEPA et al., 2005)** qui survient chez le sujet non obèse **(TONG et al., 2002)**, caractérisé par une destruction des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas **(TOURNANT et al., 2004)**, Cette destruction est provoquée par plusieurs agents de l'environnement sur un terrain génétiquement prédisposé **(FILIPPI et VON HERRATH, 2005)**. Dans ce cas l'insulinothérapie est indispensable **(RUTTEN et al., 2006)**.

Le diabète non insulino-dépendant (DNID): représente 90 % de l'ensemble des diabètes, il touche 50 % des Indiens pima de l'Arizona et les Micronésiens de l'île Nairu, près de 20 % des aborigènes d'Australie, alors que sa prévalence ne dépasse pas 6 % dans la population caucasienne **(KASSAB-CHEKIR et al., 2004)**. Sa prévalence est de 2 à 5 % en Europe, 6 à 8 % en USA **(BOSCH et al., 2006)**. En Tunisie sa prévalence est de 9 % **(HALIMI, 2003)**. En Algérie, selon une enquête réalisée par l'institut national de santé publique algérien (INSP), le diabète touche 8 % de la population algérienne âgée de 30ans et

plus, dont 90 % présente le diabète de type 2 et 10 % du type 1. À l'est et à l'ouest du pays, la prévalence du diabète de type 2 varie entre 6,4 et 8,2 % chez les sujets âgés de 30 à 64 ans (ZAOUI et al., 2007).

Le diabète de type 2 survient généralement après 40ans, chez les patients présentant des antécédents familiaux de diabète, et le plus souvent obèses (50 à 80 %) (GAHAGAN et SILVERSTEIN, 2003; FONTBONNE et SIMON, 2004).

On sait depuis longtemps que la surcharge pondérale et l'obésité prédisposent au diabète de type 2. L'obésité correspond, en effet, à un état de résistance à l'insuline. Ceci est particulièrement vrai chez les personnes ayant une obésité centrale, avec une accumulation de graisse autour de la taille, qui présentent un risque accru de devenir résistantes à l'insuline. Ce n'est donc pas une coïncidence si le nombre de cas de diabète de type 2 a rapidement augmenté en parallèle avec le nombre de cas de surcharge pondérale et d'obésité, à tel point que le diabète de type 2 est à présent surnommé "diabésité" (GAHAGAN et SILVERSTEIN, 2003; BOULÉ et al., 2007).

Le diabète représente un facteur de risque très important des maladies cardiovasculaires et les atteintes artérielles ischémiques qui sont la première cause de mortalité chez les diabétiques où elles sont responsables de plus de 66 à 75 % des décès (DRIVSHOLM et al., 2005 ; GIAMPAOLI et al., 2005 ; JUUTILAINEN et al., 2005). Cependant, le défaut de l'action de l'insuline et l'hyperglycémie induits par le diabète, semblent jouer un rôle important dans le développement de cette complication en perturbant la production et le catabolisme des lipoprotéines plasmatiques (CALLES-EXCANDON et CIPPOLA, 2001). Ces altérations conduisent à la dyslipidémie diabétiques (CARR et al., 2000), caractérisée essentiellement par une hypertriglycéridémie, liée à une augmentation des lipoprotéines riches en triglycérides (VLDL, IDL), ainsi qu'une diminution de HDL-cholestérol (BIOLETTO et al., 2000) qui est considérée par certains auteurs comme un facteur principale des maladies cardiovasculaires. Pour d'autres, la diminution de HDL-cholestérol n'est qu'un marqueur de l'accumulation de lipoprotéines riches en triglycérides (VERGÉS, 2007).

La majoration du nombre des lipoprotéines riches en triglycérides est apparemment liée à une augmentation de production hépatique des VLDL suite à l'élévation du flux d'acides gras libres et de glucose (VON ECKARDSTEIN et al., 2001). Ces anomalies modifient les propriétés biologiques et structurales des LDL ; avec formation de petites particules denses qui n'ont pas d'affinité avec les récepteurs LDL. Par ailleurs, les lipoprotéines sont soumises à des phénomènes de glycation et de peroxydation qui abaisse leur affinité pour leurs récepteurs. Ces lipoprotéines glyquées et oxydées sont captées par les récepteurs éboueurs des

macrophages et vont conduire à la formation de cellules spumeuses d'où augmentation du risque athérogène (**KANTERS et al., 2001**).

En plus des anomalies métaboliques, le stress oxydatif est reconnu comme un important facteur impliqué dans les complications dégénératives du diabète. Le métabolisme cellulaire normal produit en permanence des espèces oxygénées réactives. Par exemple, au cours de la respiration, chacune de nos cellules réduit l'oxygène en eau. Parfois, une petite partie de cet oxygène échappe à la transformation complète, ce qui aboutit à la production en permanence d'une espèce d'oxygène très réactive : l'anion super oxyde (caractéristiques des radicaux libres) (**FONTAINE, 2002**).

Ces espèces oxygénées activées (EOA) sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, glucose ...). Au niveau moléculaire, les EOA peuvent aussi agir comme messagers secondaires et activer différents facteurs ou gènes impliqués dans le développement de diverses pathologies (**PATEL et al., 2000**). Divers agents (physiques, chimiques, biologiques) sont capables de stimuler la formation des ROS (Reactive Oxygen Species) (**SALAVAYRE et al., 2003**).

Normalement, un équilibre relatif existe entre la formation de radicaux libres et la neutralisation de ceux-ci par des molécules antioxydants piègeuses qui se combinent avec les radicaux libres pour former des dérivés oxydés, comme les vitamines A, E et C, la transferrine, albumine ... (**JACQUES, 2005**). Toutefois, une production excessive de radicaux libres ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut entraîner une situation de déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante (**JACQUES, 2005**).

Il a été démontré par plusieurs auteurs que le stress oxydatif est particulièrement important au cours du diabète (**HIGDON et FREI, 2003 ; SUZUKI et al., 2003 ; URAKAWA et al., 2003**). En effet, au cours de cette pathologie et particulièrement le diabète de type 2 l'équilibre oxydant / antioxydant est modifié, en augmentant la production des radicaux libres et / ou déprimant les défenses antioxydantes (**VALABHJI et al., 2001**).

Notre travail a porté sur l'étude de quelques paramètres du métabolisme des lipoprotéines et sur l'évaluation de certains marqueurs de la balance oxydante/antioxydante chez des patients diabétiques de type II obèses de la région de Tlemcen. Pour cela, nous avons abordé deux volets :

- ❖ Afin de déterminer le métabolisme des lipoprotéines, nous avons mesuré (le cholestérol, les triglycérides et les apoprotéines au niveau sériques et au niveau des différentes fractions des lipoprotéines).
- ❖ Nous avons également dosé le taux des hydroperoxydes, le malondialdéhyde, les protéines carbonylées, la vitamine C, l'activité de catalase et le pouvoir antioxydant total (ORAC) pour évaluer la balance oxydante /antioxydante.

Cette étude permettra de mettre en évidence les troubles métaboliques (particulièrement dyslipidémie et stress oxydatif) induits par le diabète associé à l'obésité.

# **SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES**

## **I. Définition :**

Le diabète non insulino-dépendant (DNID) ou diabète de type 2, est un problème majeur de santé publique puisqu'il atteint aujourd'hui plusieurs millions de personnes (**TUBIANA-RUFI, 2007**). Ce type de diabète est également appelé diabète de maturité ou diabète gras, c'est une maladie hétérogène, non auto-immune (**HARMANS, 2004**).

Le diabète de type 2 est une maladie à prédisposition familiale. En effet, l'existence d'un père ou d'une mère diabétique multiplie le risque de survenir de la maladie par deux (**BORCH-JOHNSEN et al., 2004 ; BARROSO, 2005**). Cependant, si la prédisposition génétique est nécessaire, elle est généralement insuffisante pour conduire à l'apparition de la maladie (**LE ROITH, 2002**). L'environnement, la sédentarité, et le manque d'exercice physique associés à une alimentation riche en acide gras saturés et en sucre, et insuffisante en fibres, favorisent la préparation d'un terrain propice au développement du diabète (**FRANCIOSI et al., 2005 ; MARIE et JANNOT, 2007**).

Généralement, deux anomalies interdépendantes conduisent au diabète de type 2 : une insulino-résistance et une perturbation de l'insulinosécrétion (**PLADEVAL et al., 2004 ; ALVARSSON et al., 2005 ; CAMPBELL et MARIZ, 2007**).

L'insulino-résistance est caractérisée par une diminution de l'activité de l'insuline sur les tissus cibles (le muscle, le foie et le tissu adipeux) (**SHULMAN, 2000**). Elle se traduit au niveau hépatique par une augmentation de la production de glucose faisant principalement suite à une néoglucogenèse (**VIRALLY et al., 2007**), et au niveau des tissus insulinosensibles tout particulièrement le muscle squelettique, par une diminution de l'utilisation périphériques de glucose et de son stockage sous forme de glycogène (**BASTARD et al., 2004**). Les défauts de l'insulinosécrétion résultent d'une anomalie génétique de la cellule bêta, et d'une réduction de leur masse au sein des îlots de Langerhans (**JOHN et SCHMIEDER, 2003; RAHIER et al., 2004**). Des dépôts d'amyline (protéine cosécétrée avec l'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques) pourraient avoir un effet délétère sur l'insulinosécrétion par l'intermédiaire de dépôt amyloïdes ce qui provoqueraient l'apoptose de ces cellules (**PI-SUNYER, 2004; BOUWENS et ROOMAN, 2005; BUTTRISS et NUGENT, 2005**).

## II. Diabète de type II et métabolismes des lipoprotéines :

### II.I. Métabolismes des lipoprotéines :

Les lipoprotéines sont les transporteurs de lipides, cholestérol et triglycérides, dans le plasma sanguin. Toutes les lipoprotéines ont une même structure de base. Leur centre est une région hydrophobe où l'on trouve des TG et des CE (parfois des vitamines liposolubles). Leur périphérie est polaire et est constituée d'une couche de phospholipides (PL), de cholestérol libre (CL) et d'apolipoprotéines en proportions variables (**LEMIEX et al., 2003**).

Cette composition et la répartition des lipides au sein de ces particules facilitent le transport plasmatique de leurs constituants, qui sont, à l'exception des protéines, individuellement insolubles dans l'eau (**BIGGERSTAFF et WOOTEN, 2004**).

En période digestive, l'intestin sécrète des lipoprotéines appelées chylomicrons qui transportent les lipides d'origine alimentaire (**HAVEL, 2000**).

Elles sont sécrétées dans la lymphe puis apparaissent dans la circulation sanguine en quelques minutes. Dans le plasma, Les chylomicrons sont dégradés par la lipoprotéine lipase, qui hydrolyse les TG et le transforme en une molécule plus petite et moins riches en TG, les remnants des chylomicrons qui sont captés par le foie (**HAVEL, 2000**).

Le foie sécrète d'une part des lipoprotéines appelées VLDL, qui se transforment dans les vaisseaux en lipoprotéines LDL, et d'autre part des lipoprotéines HDL (**BARTER, 2005**).

Les VLDL sont constituées par les TG endogènes, de cholestérol, de phospholipides et d'apolipoprotéines. L'enzyme lipoprotéine lipase (LPL) située sur l'endothélium convertit une partie des triglycérides des VLDL en acides gras libres qui sont utilisés par les tissus périphériques comme source d'énergie (**BROWN et al., 2006**). Le reste du contenu des VLDL est converti d'abord en lipoprotéine IDL et ensuite en particule de LDL (**SANTAMARIA-FOJI et al., 2004**).

De plus, dans certaines espèces et en particulier chez l'homme, il existe un échange de lipides neutres entre les VLDL-IDL et les HDL, dépendant d'une protéine spécifique, la "Cholesteryl Ester Transfer Protein" (CETP). Ce processus engendre un enrichissement des HDL en TG et un enrichissement des VLDL-IDL en CE (**VANCE et VANCE, 2002**).

Les LDL (transporteur principal du cholestérol dans le sang) sont donc riches en cholestérol et pauvres en triglycérides. Les LDL délivrent le cholestérol aux tissus périphériques où il contribue à la synthèse et au maintien des membranes cellulaires (**SCHEES et al., 2007**).



Les HDL sont des lipoprotéines de petite taille, riches en cholestérol. L'apoprotéine principale des HDL, l'apoprotéine A1, est sécrétée à partir du foie dans une forme pauvre en lipides (SHEPHERD, 2005; VERGÉS, 2006). Une fois qu'elle est dans le plasma, elle acquiert rapidement du cholestérol non estérifié à partir des autres lipoprotéines, ainsi qu'à partir des membranes cellulaires (CHAPMAN et al., 2004).

L'apoprotéine A1 active l'enzyme LCAT (Lecithin Cholesterol Acyl Transferase), qui estérifie le cholestérol libre et conduit à la formation d'une particule sphérique de HDL, contenant un noyau d'esters de cholestérol (CHAPMAN, 2006). Les particules de HDL évacuent leur charge de cholestérol, soit en la retournant directement vers le foie, soit en la transférant indirectement dans la fraction VLDL-IDL-LDL, par la Cholesterol Ester Transfer Protein (CETP). (transport reverse du cholestérol) (LIMA et al., 2004). (Fig. n<sup>o</sup>1)

## **II.2. Diabète de type II et métabolismes des chylomicrons :**

Les anomalies métaboliques au cours du diabète sont particulièrement apparentes en période post-prandiale, ce qui implique que les chylomicrons remnants contribuent au risque athérogène (HAVEL, 2000).

Les chylomicrons sont augmentés chez les diabétiques de type 2 par rapport aux sujets normaux, suite à la diminution de leur catabolisme par la LPL (MERO et al, 2000).

De plus, les chylomicrons sont enrichis en cholestérol pendant la phase post-prandiale, suite à l'élévation de l'activité de la CETP qui augmente le transfert des EC entre les lipoprotéines riches en TG et les HDL contre un échange des TG (MERO et al., 2000 ; VANCE et VANCE, 2002) .

## **II.3. Diabète de type II et métabolismes des VLDL :**

L'hypertriglycéridémie est fréquente au cours du diabète de type 2 ; elle est liée à l'augmentation des VLDL et des IDL lorsqu'il existe une hyperlipidémie familiale, elle peut être révélée ou aggravée par le diabète (MERO et al., 2000 ; KANTERS et al., 2001).

L'augmentation de synthèse des VLDL par le foie est en étroite relation avec l'insulinorésistance responsable d'un afflux d'acide gras libres au niveau hépatique. Cet excès d'acide gras libres en présence de glucose et d'insuline augmente la synthèse et la sécrétion des VLDL. Les acides gras libres majorent l'insulinorésistance en inhibant la réponse à l'insuline de la production hépatique de glucose (BIOLETTA et al., 2000).

Au cours du diabète de type 2, le catabolisme des VLDL est diminué secondairement à une anomalie de synthèse de LPL ; ou à une diminution de son activité lipolytique générée par les anomalies qualitatives des VLDL (BALKAU, 2000).

#### **II.4. Diabète de type II et métabolismes des LDL:**

Au cours du diabète de type 2, il ne semble pas exister d'augmentation significative de LDL, mais plutôt des anomalies qualitatives. Les LDL des sujets diabétiques non insulino-dépendants sont plus denses et plus petites que les LDL normales (KOLOVOU et al., 2005 ; RIZZO et BERNEIS, 2007).

Les LDL de petites tailles se lient moins bien avec le récepteur spécifique. Ces particules sont plus susceptibles à la glycation ainsi qu'à l'oxydation (KANTERS et al., 2001).

De ce fait, les LDL ne peuvent plus être reconnues par leurs récepteurs spécifiques, elles sont alors captées par les macrophages de la paroi vasculaire par l'intermédiaire de récepteurs éboueurs (YOUNG et al., 2003 ; JENKINS et al., 2004; KRAUSS, 2004).

L'accumulation de LDL dans ces macrophages conduit à leur évolution en cellules spumeuses et au développement des plaques d'athérome (BIOLETTO et al., 2000 ; VERGÉS, 2006).

#### **II.5. Diabète de type II et métabolismes des HDL :**

Une diminution du cholestérol HDL (corrélation inverse avec la triglycéridémie) est observée au cours du diabète de type 2.

La diminution du catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides, diminue la disponibilité des éléments de surface (cholestérol libre et phospholipides) nécessaires à la formation des HDL natives (QUINTAO et al., 2000).

De plus, le transport reverse du cholestérol est détérioré chez les DNID, et ceci est en relation avec l'inhibition de la production des esters de cholestérol (EC) par la lécithine cholestérol Acyl –transférase (LCAT) (QUINTAO et al., 2000).

Au cours du diabète de type 2, les HDL sont enrichies en triglycérides et appauvries en esters de cholestérol (EC) due à l'augmentation des échanges CE-HDL et TG-(VLDL, IDL)(MERO et al., 2000).

La glycation de l'Apo AI des HDL modifie leur interaction avec les cellules périphériques et accélère aussi le catabolisme des HDL (VERGÉS, 2006).

### **III. Diabète de type II et obésité :**

La relation du diabète de type 2 avec l'obésité est extrêmement forte. Environ 80 % des patients diabétiques de type 2 ont un excès pondéral ou une obésité (**GREENBERG et MC DANIEL, 2002; KAHN, 2003**). Les études épidémiologiques ont montré qu'une prise de poids est significativement associée à un risque accru de développer un diabète de type 2 (**ARNER, 2003 ; GRUNDY, 2004**).

Dans ce type de diabète l'insuline n'est plus assez efficace pour réguler le taux de glucose sanguin (**SCHEEN, 2003; FERRE, 2005**). Il semble que la graisse intra abdominale (obésité androïde) joue un rôle majeur dans le développement de ces troubles (**FREDRIC, 2005**). Chez les obèses, on observe une augmentation de la concentration circulante d'acides gras libres provenant de la lipolyse des triglycérides du tissu adipeux (**HEPTULLA et al., 2001**). Il est connu que les acides gras circulants sont des substrats énergétiques qui peuvent être utilisés par certaines cellules à la place du glucose, en particulier par les cellules musculaires squelettiques. Plus les concentrations plasmatiques des acides gras sont élevées, plus la résistance à l'action de l'insuline est élevée (**GOLDSTEIN, 2002**). Les acides gras qui jouent un rôle majeur dans la résistance à l'insuline pourraient également jouer un rôle aussi important dans la perte de fonction des cellules  $\beta$ . En effet, ce sont des substrats énergétiques majeurs de la cellule  $\beta$  des îlots de Langerhans. À court terme, les acides gras potentialisent la sécrétion d'insuline en réponse au glucose. À long terme, ils inhibent la sécrétion d'insuline et provoquent une lipotoxicité (**ESCHWEGE, 2005**).

En plus des acides gras, les cellules adipeuses fabriquent de nombreuses substances qui agissent dans des organes clés de la régulation énergétique (**FARAJ et al., 2004 ; FREDRIC, 2005**). Parmi ces substances, la « résistine » qui réduit la sensibilité des tissus, en particulier celle du foie, à l'action de l'insuline (**VETTOR et al., 2005**). Il en résulte un double problème. Premièrement, les cellules dont la sensibilité à l'insuline est réduite, absorbent moins bien le glucose (**ALZHRANI, 2005**). Deuxièmement, l'organisme essaie de compenser cette réduction de la sensibilité par une production accrue d'insuline. Cette stratégie est efficace pendant un certain temps, car elle permet de maintenir la glycémie, mais en élevant les niveaux d'insuline dans le sang (hyperinsulinisme) (**NORRIS ,2005**). L'adiponectine est une autre substance produite par les cellules adipeuses, il a été montré, qu'une concentration faible prédisait la survenue de l'insulinorésistance à long terme (**FURUKAWA et al., 2004 ; SCHNEIDER et al., 2005**).

L'effet de l'adiponectine passe par l'activation d'une enzyme, AMP Kinase, qui active le transport musculaire de glucose et augmente l'oxydation des acides gras (**GOLDSTEIN, 2002 ; PETERSEN et al., 2002 ; FUMERON et al., 2004**). Ainsi l'amélioration de la sensibilité à l'insuline est due en grande partie à une stimulation de l'oxydation des acides gras au niveau du foie et du muscle, diminuant ainsi leur contenu en triglycérides, et à une augmentation du captage de glucose par le muscle .Au niveau du foie, l'adiponectine inhibe la sortie hépatique du glucose (**FUMERON et al., 2004**).

Le tissu adipeux produit également et sécrète de l'interleukine-6 (IL-6), le tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) et d'autres cytokines impliquées dans les processus inflammatoires augmentant l'insulino-résistance (**TRAYHURN et WOOD, 2004 ; FERRE, 2005**). Chez les obèses, on note une augmentation de la production de cytokines, qui interfère avec l'action anti-lipolytique de l'insuline et provoque la résistance à l'insuline du tissu adipeux (**KIM et al., 2006**).

#### **IV. Stress oxydatif :**

##### **IV.1. Définition :**

Le stress oxydant peut être défini comme le résultat de la rupture de l'équilibre entre la production d'espèces moléculaires hautement réactives, principalement l'oxygène (ROS, Reactive Oxygen Species) et l'azote (RNS, Reactive Nitrogen Species) et les mécanismes de défense anti-oxydantes (**ROBERTSON, 2004**).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant un ou plusieurs électrons non appariés. De ce fait, ils sont très instables et réagissent avec des molécules voisines en leur arrachant un électron et les transformant à leur tour en espèces radicalaires plus réactives (**LEVERVE, 2004**). D'autres entités non radicalaires de l'oxygène peuvent être produites comme le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou l'oxygène singulet (1O<sub>2</sub>).

La formation des EOA requiert la présence de métaux de transition comme le fer ou le cuivre qui agissent comme des catalyseurs incontournables dans toute la chimie des radicaux libres. Ces EOA ont un rôle physiologique important en agissant à faible concentration comme des messagers secondaires capables :

-de réguler le phénomène d'apoptose qui est un suicide programmé des cellules évoluant vers un état cancéreux (**CURTIN et al., 2002**).

-d'activer des facteurs de transcription (NFkB, p38-MAP kinase, ...) eux – mêmes responsables de l'activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire (**OWUOR et KONG, 2002**).

- de moduler l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes antioxydantes (**HOLGREM, 2003**).

L'excès de production de radicaux libres entraîne des conséquences cytotoxiques et des lésions tissulaires par dégradation des protéines, altération de l'ADN, des glucides et surtout des lipides constitutifs des membranes. Les AGPI non estérifiés sont aussi particulièrement sensibles à l'oxydation de par leur structure en chaîne malonique régulière (**CADET et al., 2002**).

## **IV.2.Mécanisme de défense contre les réactions radicalaires :**

Pour faire face et détruire les radicaux libres produits en excès, les cellules possèdent des défenses antioxydantes de différentes natures. Ces protections sont assurées à la fois par des composés naturels endogènes ou apportés par l'alimentation, et par des enzymes spécifiques se comportant comme des piègeurs de radicaux "scavengers" (**BÉLANGER et al., 2006**).

### **IV.2.1. Les antioxydants enzymatiques :**

Les systèmes enzymatiques représentent une parade essentielle au stress oxydant au niveau cellulaire. Les enzymes les plus connues sont le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase.

- **Le superoxyde dismutase :**

Cette enzyme assure l'élimination de l'anion superoxyde, première espèce toxique formée à partir de l'oxygène. Elle assure ainsi la première ligne de défense contre le stress oxydant. La SOD a besoin d'oligo-éléments comme le cuivre et le zinc (Cu-ZnSOD présente dans le cytosol) ou le manganèse (MnSOD présente dans la mitochondrie) pour fonctionner correctement (**ROTHFUSS et SPEIT, 2002**).

- **La catalase :**

La catalase (EC 1.11.1.6) est une enzyme tétramérique, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire. Présente dans les peroxysomes de nombreuses cellules, elle assure mal la protection vis-à-vis d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans le cytosol et les mitochondries. D'ailleurs, son

affinité pour ce peroxyde est médiocre en dessous de  $10^{-4}$  M, son activité dans les plaquettes est estimée à 2 U (JONES et al., 2002).

- **La glutathion peroxydase :**

Présentes dans les tissus de mammifères, les glutathion peroxydases sont des enzymes à sélénium catalysant la réduction du peroxyde d'hydrogène et de divers hydroperoxydes lipidiques. Cette enzyme a besoin du glutathion et du sélénium pour fonctionner correctement (NEILL et al., 2002).

#### **IV.2.2. Les antioxydants non enzymatiques :**

- **La vitamine E :**

Sous le terme vitamine E est regroupée la famille des tocophérols (alpha, beta, gamma, delta). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant (EL-SOHEMY et al., 2002).

- **La vitamine C :**

La vitamine C ou acide ascorbique n'est pas synthétisée par l'organisme. Sa concentration plasmatique dépend fortement de l'alimentation et des modifications du flux hépatique. C'est un excellent piègeur des EOA qui peut protéger divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation. Aux concentrations physiologiques, la vitamine C est capable d'empêcher l'oxydation des LDL produite par divers systèmes générateurs d'EOA (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase) (WILL et BYERS, 1996).

- **La vitamine A :**

La vitamine A a un effet antioxydant. C'est une molécule liposoluble présente dans les membranes biologiques. Sa structure chimique hautement insaturée la fait réagir adéquatement avec les radicaux peroxydes, créant ainsi des produits non radicalaires, ce qui a pour effet d'arrêter la chaîne de réaction radicalaire (RISSANEN et al., 2003).

## VI- Stress oxydant et Diabète de type II :

De nombreux travaux rapportent une augmentation du stress oxydatif au cours du diabète, tenant à la fois à l'augmentation de la production de radicaux oxygènes et la diminution des capacités de leur dégradation, par la baisse des activités des enzymes antioxydantes, et des taux des vitamines antioxydantes (FURUKAWA et al., 2004 ; MORROW, 2003). Celui-ci est la conséquence de concentrations anormalement élevées de glucose dans les milieux extra et intracellulaires (NICHOLSON et al., 2002).

Plusieurs mécanismes ont été évoqués mettant en jeu l'auto-oxydation du glucose, la voie des polyols, la glycation des protéines et la formation de produits de glycation avancée (AGE). Cette production anormale de radicaux libres est à l'origine de nombreux effets au niveau cellulaire. Ainsi, elle peut entraîner une modification de l'activité des facteurs de transcription tels que NF-kB, Spl... (GILLERY, 2006).

Les radicaux libres interviennent chez l'homme dans l'apparition des troubles de l'insulinosécrétion et de la sensibilité à l'insuline qui caractérisent le diabète de type 2, d'une part les cellules bêta sont très sensibles au stress oxydatif, d'autre part de nombreuses données expérimentales indiquent que ce dernier pourrait représenter un mécanisme par lequel l'hyperglycémie chronique aggrave la fonction insulinosécrétoire dans le diabète de type 2 (hypothèse de glucotoxicité) (MORROW, 2003).

L'hyperglycémie induit également une augmentation du rapport NADH/NAD<sup>+</sup> notamment par l'activation de la voie des polyols. Or le NADH est un cofacteur de différentes enzymes catalysant des réactions génératrices de radicaux libres (GRIENGLING et al., 2000). Enfin, le stress oxydant est de plus en plus suspecté d'être à l'origine à la fois d'une réduction de la sécrétion d'insuline par les cellules des îlots de Langerhans et d'une diminution de l'action de cette hormone hypoglycémisante aggravant l'état d'insulino-résistance dans le diabète de type 2 (EVANS et al., 2003).

Plusieurs études sur des lignées cellulaires *in vitro* démontrent que le stress oxydatif inhibe la transduction du signal de l'insuline. En inhibant l'autophosphorylation du récepteur de l'insuline (HANSEN et al., 1999). Il inhibe également la translocation du transporteur de glucose GLUT4 et l'activation de la protéine kinase B stimulées par l'insuline dans les cellules adipeuses. Ces effets sont bloqués en présence d'un antioxydant (RUDICH et al., 1999).

De nombreuses études montrent une augmentation des marqueurs de stress oxydatif dans le diabète de type 2 (LEINONEN et al., 1997), ainsi qu'une diminution des mécanismes de

défense vis-à-vis des radicaux libres (REHMAN et al., 1999), associée à une diminution du taux d'acide urique et d'acide ascorbique circulant (MAXWELL et al., 1997). On observe également une diminution de la superoxyde dismutase et de la catalase chez des patients ne présentant qu'une intolérance au glucose, chez qui une diminution de l'acide ascorbique et du glutathion réduit est également déjà présente (VIJAYALINGAM et al., 1996). PAOLISSO et al. (1994) ont observé qu'il existe une corrélation positive entre les radicaux libres plasmatiques et l'insulinémie à jeun, et une corrélation négative avec l'utilisation du glucose, en particulier son utilisation non oxydative, dont la diminution est un élément essentiel de la physiopathologie du diabète de type 2. À court terme, une simple hyperglycémie provoquée par voie orale diminue les défenses antioxydantes de l'organisme chez des sujets sains ou diabétiques non insulinodépendants (CERIELLO et al., 1998).

## **MATERIELS ET METHODES**

**I. population étudiée**

Ce travail a été réalisé chez des patients diabétiques non insulino-dépendants et obèses (DNID obèses) de la région de Tlemcen.

Le recrutement des patients s'est effectué au niveau de la maison des diabétiques (centre de santé de sidi-chaker) de TLEMEN.

L'étude a concerné 60 sujets âgés de 40 à 60 ans, dont 15 femmes et 15 hommes DNID obèses et 15 femmes et 15 hommes témoins.

**Tableau I : caractéristiques de la population étudiée**

	Femmes		Hommes	
	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses
<b>Nombre</b>	15	15	15	15
<b>Age (ans)</b>	52,11±4,64	56,66±2,73	50,58±6,97	54,2±3,37
<b>Poids (kg)</b>	67,72±4,22	83,14±6,44**	73,46±5,23	82,4±8,97*
<b>Taille (m)</b>	1,63±0,04	1,61±0,05	1,69±0,05	1,61±0,05
<b>IMC (kg /m<sup>2</sup>)</b>	25,27±0,93	32,01±1,70**	25,66±1,09	31,45±1,73**
<b>Traitement</b>	/	Comprimés hypoglycémiant	/	Comprimés hypoglycémiant

Chaque valeur représente la moyenne ± (erreur standard)

IMC = (Index de Masse Corporelle (poids/taille<sup>2</sup>))

## **II. Prélèvements sanguins**

Les prélèvements de sang sont effectués à jeun chez les sujets (après un jeûne de 12 heures au minimum). Une quantité de sang prélevé sur la veine est récupérée dans des tubes à EDTA et l'autre partie est recueillies dans des tubes secs.

Les échantillons prélevés sur tubes EDTA sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 min. Le plasma est prélevé pour le dosage des paramètres biochimiques (glycémie, protéines totales, cholestérol, triglycérides, urée, créatinine et acide urique), le dosage de vitamines, des taux d'hydroperoxydes et de protéines carbonylés, du MDA, le taux des diènes conjugués, la détermination de l'ORAC et l'activité de la catalase.

Les érythrocytes restants sont lavés avec de l'eau physiologique trois fois de suite, puis sont lysés par addition de l'eau distillée glacée et incubés pendant 15 min dans la glace.

Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 4000 t/min pendant 15 min. Le lysat est ensuite récupéré afin de doser le MDA, les hydroperoxydes, les protéines carbonylés, les diènes conjugués et l'activité enzymatique de la catalase.

Après coagulation du sang prélevé sur tubes secs, et centrifugation à 3000 tr/min pendant 15 min, le sérum est récupéré et est conservé avec une solution de  $\text{NaN}_3$  à 0,2% et de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  à 10%, à raison de 10  $\mu\text{l/ml}$ , à  $-20^\circ\text{C}$  en vue du dosage des lipoprotéines.

## **III. Analyses biochimiques**

### **III.1.dosage du glucose** (kit Prochima)

Le dosage du glucose sérique est déterminé par une méthode enzymatique colorimétrique "Glucose -oxydase -peroxydase ". Le glucose est oxydé par une oxydase en gluconate et en peroxyde d'hydrogène.

La concentration en glucose est déterminée, au moyen d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 505nm.

### **III.2.Dosage de l'urée** (Kit Prochima)

Les ions ammonium, en présence du salicylate et de l'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol). L'intensité est proportionnelle à la concentration en urée.

L'absorption du composé est mesurée à 590-600nm.

### **III.3.Dosage de la créatinine** (Kit Prochima)

Le dosage de la créatinine se fait par une méthode colorimétrique avec déprotéinisation, en présence d'acide trichloracétique. Elle est basée essentiellement sur la réaction de JAFFE (1886).

La créatinine forme avec l'acide picrique en milieu alcalin une coloration rouge -orange.

Le dosage se fait sur sérum après élimination des protéines par l'acide trichloracétique diluée. La coloration obtenue résulte d'un mélange correspondant au picrate de sodium et au picrate de créatinine. La lecture se fait à une longueur d'onde de 520nm.

#### **III.4. Dosage de l'acide urique (Kit Prochima)**

Après élimination des protéines sériques par le réactif de déprotéinisation, l'acide urique est dosé dans le surnageant par réduction du réactif phosphotungstique en milieu alcalinisé par le carbonate de sodium.

L'intensité de la coloration bleue obtenue peut être mesurée à une longueur d'onde de 620nm.

#### **III.5. Dosage des protéines totales (Kit Chemical Clinica Aplicada)**

Cette méthode de dosage est basée sur l'utilisation du réactif de biuret par GORNAL et al. (1949).

La réaction est déclenchée par addition du sérum au réactif de biuret. Les protéines de l'échantillon se combinent au cuivre en milieu alcalin pour former un complexe violet.

L'absorption du complexe est mesurée à 546nm.

#### **III.6. Séparation des différentes fractions de lipoprotéines par la technique de précipitation**

La séparation des différentes fractions de lipoprotéines est réalisée par une méthode de précipitation selon BURSTEIN et al. (1970).

A pH neutre, les polyanions, en présence de cations divalents, peuvent former des complexes insolubles avec les lipoprotéines (Lipo-polyanion cation)

La précipitation des lipoprotéines se fait grâce aux polyanions qui se combinent aux lipides des lipoprotéines. Les polyanions les plus souvent utilisés sont les sulfates ( $SO_3^-$ ), les polysaccharides (héparine) et l'acide phosphotungstique, alors que les cations sont généralement le  $Ca^{2+}$ , le  $Mg^{2+}$  et le  $Mn^{2+}$ .

L'utilisation d'un même réactif de précipitation à différentes concentrations permet de précipiter sélectivement les fractions de lipoprotéines et ainsi à concentration de plus en plus élevée, le réactif permet la séparation à partir du sérum d'abord les VLDL, ensuite les LDL et enfin HDL.

Ce principe est analogue à celui de l'ultracentrifugation en gradient de densité des lipoprotéines. En effet, lorsque la concentration varie, la densité du milieu varie aussi et permet donc une précipitation sélective.

Les (VLDL, LDL, HDL) précipitées sélectivement et recueillies sous forme de culot par la suite solubilisé par une solution de solubilisation contenant du tampon tris.

### **III.7. Analyse des lipides plasmatiques et des fractions lipoprotéiques**

#### **III.7.1. Dosage des triglycérides (Kit Chemical Clinica Aplicada)**

Le dosage des triglycérides se fait par une méthode enzymatique colorimétrique. Les triglycérides sont déterminés après hydrolyse enzymatique en présence d'une lipase. L'indicateur est la quinonéimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, 4-aminoantipyrine et 4-chlorophénol sous l'action de la peroxydase. La concentration en TG est déterminée par une longueur d'onde de 505nm.

#### **III.7.2. Dosage du cholestérol total (Kit Chemical Clinica Aplicada)**

C'est une méthode enzymatique colorimétriques. Les ester de cholestérol sont hydrolysés par la cholestérol ester hydrolase en cholestérol libre et en acides gras.

Le cholestérol libre produit et celui préexistant sont oxydés par une cholestérol oxydase en  $\Delta^4$  cholesterone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase, oxyde le chromogène en un composé coloré en rouge

La concentration en Quinoneimine colorée mesurée à 546nm est directement proportionnelle à la qualité de cholestérol contenu dans l'échantillon sérique

#### **III.7.3. Dosage des apoprotéines (Kit Sigma Diagnostics)**

Les apoprotéines A1 et B100 sont dosées sur les différentes fractions lipoproteiques par une méthode turbidimétrique, dont le principe est basé sur la combinaison des apoprotéines à des anticorps spécifiques présents dans le réactif et qui forment un complexe insoluble et induit une turbidité du milieu réactionnel.

L'importance de la turbidité ainsi formée est proportionnelle à la concentration des apoprotéines A1 et B100 dans l'échantillon.

La turbidité est mesurée par spectrophotométrie à 340nm et la concentration en apoprotéines A1 ou B100 dans l'échantillon est déterminée à partir d'une courbe d'étalon d'apoprotéines A1 ou B100 à différentes concentrations.

### **IV. Détermination du statut oxydant /antioxydant**

#### **IV.1. Détermination du MDA (Méthode NOUROOZ-ZADEH et al. (1996))**

Le dosage du MDA est basé sur la réaction de deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) avec le MDA en milieu acide et chaud selon un mécanisme nucléophile, l'absorption intense du chromogène (MDA-TBA) se fait à 532 nm. La concentration en MDA plasmatique donnée par U ml/ l est calculée en utilisant une courbe étalon du MDA ou seulement le coefficient d'extinction du complexe (MDA-TBA). ( $E = 1,56 \times 10^5 \text{ ml}^{-1} \text{ 1.cm}^{-1}$ ) à 532 nm.

Le dosage du malondialdéhyde érythrocytaire se fait selon la méthode utilisée pour le MDA plasmatique, à la seule différence que le lysat est utilisé à la place du plasma, ceci en présence d'acide thiobarbiturique (TBA).

La concentration du MDA érythrocytaire est donnée en (U mol/l).

#### **IV.2. Détermination du taux d'hydroperoxydes**

Les hydroperoxydes plasmatiques sont mesurés par l'oxydation d'ions ferriques utilisant le xylénol orange (Fox2 ; kit Peroxoquant méthanol- compatible formulation, Rockford, IL, USA) en conjugaison avec le ROOH réducteur spécifique de la triphenylphosphine (TPP), selon la méthode de NOUROOZ-ZADEH et al. (1996). Cette méthode est basée sur une peroxydation rapide transformant le  $Fe^{2+}$  en  $Fe^{3+}$  en milieu acide. Les ions  $Fe^{3+}$  en présence du xylénol orange [(O-cresolsulfonphtalein-3',3''-bis (methyliminodiacetic acid sodium)], forment un complexe  $Fe^{3+}$ -xylénol orange.

90  $\mu$ l de plasma sont incubés à température ambiante pendant 30 min avec 10  $\mu$ l de méthanol (pour l'essai), ou 10  $\mu$ l de triphenylphosphine (TPP) (pour le blanc). A ce mélange sont ajoutés 900  $\mu$ l de réactif Fox (contenant 250 mmol/l de sulfate d'ammonium ferrique, 25 mmol/l de  $H_2SO_4$ , 4 mmol/l de BHT et 100  $\mu$ mol de xylénol orange). Après incubation pendant 30 min et centrifugation à 6000 t/ min pendant 10 min, la lecture se fait à 560 nm.

Le taux d'hydroperoxydes plasmatique correspond à la différence entre l'absorbance du plasma et l'absorbance du blanc.

Les hydroperoxydes présents dans le plasma sont alors quantifiés par le spectrophotomètre et le coefficient d'extinction du  $H_2O_2$  ( $E = 4,4 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}$ ).

#### **IV.3. Détermination des protéines carbonylées**

Les protéines carbonylées du plasma (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4- dinitrophénylhydrazine selon la méthode de LEVINE et al. (1990).

50  $\mu$ l de plasma sont incubés 1h à température ambiante avec 1 ml de dinitrophénylhydrazine (DNPH) à 2 g/l dans 2 mol/l de HCl et avec seulement 1 ml de HCl à 2 mol/l pour le blanc. Ensuite, les protéines sont précipitées avec 200  $\mu$ l d'acide trichloroacétique à 500 g/l (TCA) et lavées 3 fois par l'éthanol: éthylacétate 1:1 (v/v) et 3 fois par le TCA à 100g/l. Le culot est solubilisé dans 6 mol/l de guanidine.

Les lectures se font à 350, 360 et 375nm. La concentration des groupements carbonylés est calculée selon un coefficient d'extinction de  $21,5 \text{ (mmol/l)} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

#### IV.4. Détermination du taux des diènes conjugués

L'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques induite par les métaux (cuivre), et déterminée par le suivi au cours du temps de la formation des diènes conjugués selon la méthode d'ESTERBAUER et al. (1989). La formation des diènes conjugués résulte au réarrangement des doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) suite à l'absorption radicalaire d'un hydrogène malonique.

Les diènes conjugués sont considérés comme produits primaires de l'oxydation des lipides et présentent une absorption dans l'ultraviolet à 234nm.

Les taux de diènes conjugués sont estimés en utilisant le coefficient d'extinction.

( $E=29.5 \text{ mmol}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$ ).

#### IV.5. Dosage de l'activité de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)

Cette activité enzymatique est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène AEBI (1974). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient 1ml de surnageant (lysate dilué au 1/500), 1 ml d' $\text{H}_2\text{O}_2$ , et 1ml de tampon phosphate (50mmol/l, pH 7,0). Après incubation de 5 min, 1 ml de réactif  $\text{TiOSO}_4$  (1,7 g dans 500 ml d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N) est ajouté.

La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du  $\text{H}_2\text{O}_2$  restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de  $\text{H}_2\text{O}_2$  avec le tampon phosphate et le réactif  $\text{TiOSO}_4$  de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l.

Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$$A = \log A_1 - \log A_2.$$

A1 est la concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de départ

A2 est la concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$  après incubation (au bout de 5 min)

L'activité spécifique est exprimée en U/g Hb.

#### IV.6. Dosage de la vitamine C

La vitamine C plasmatique est dosée selon la méthode de JACOTA et al. (1982) utilisant le réactif de coloration, le Folin et une gamme étalon d'acide ascorbique.

Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (10%) et centrifugation ; 750 $\mu\text{l}$  de surnageant sont mélangés à 750 $\mu\text{l}$  d'eau distillée et 150 $\mu\text{l}$  de Folin et incubés pendant 15 min à 37°C. La lecture de l'absorbance se fait à 769 nm. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C présente dans l'échantillon. La concentration est déterminée à partir de courbe étalon obtenue grâce à une solution d'acide ascorbique.

**IV.7. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC) : (méthode de BLANCHÉ et PROST, (1992))**

La capacité du plasma à absorber les radicaux oxygènes libres (ORAC), elle est estimée par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse induite par les radicaux libres in vitro en présence du plasma.

Cette méthode est basée sur le suivi en fonction du temps de l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres. Il s'agit de soumettre une suspension d'hématies à une agression radicalaire dans des conditions strictement contrôlées et standardisées. Tous les systèmes enzymatiques et chimiques de l'échantillon se mobilisent pour protéger l'intégrité des cellules jusqu'à leur lyse. Ainsi, l'hémolyse se fait graduellement en fonction du temps. La mesure de l'augmentation de l'absorbance à 450 nm toutes les 15mn permet de suivre la cinétique de l'hémolyse. L'addition d'une quantité déterminée d'un antioxydant vitamine E (Trolox) ou vitamine C (Acide ascorbique) permet de neutraliser une quantité de radicaux libre dans le milieu d'incubation et permet donc la protection des globules rouges contre l'attaque des radicaux libres et l'hémolyse. La courbe de cinétique de lyse des globules rouges est donc déviée et un décalage de la courbe est observé en fonction du temps. Le plasma contient plusieurs systèmes de défenses antioxydantes et permet aussi la protection des globules rouges contre l'attaque radicalaire. En présence du plasma, un décalage de la courbe de la cinétique d'hémolyse des globules rouges est aussi observé. Le pouvoir antioxydant total du plasma représente donc la capacité du plasma à neutraliser les radicaux libres générés in vitro (ORAC) et donc à freiner l'hémolyse des globules rouges attaqués donc indirectement ralentir l'augmentation de la densité optique à 450 nm. Afin de permettre une quantification de ce pouvoir antioxydant total l'utilisation des antioxydants purifiés (Trolox, Vitamine C) à concentrations connues permet l'étalonnage.

Une unité ORAC correspond à la surface de protection donnée par 1µM de Trolox ou 2µM de la Vitamine C.

L'ORAC de chaque échantillon de plasma est calculé en mesurant la surface nette de protection sous la courbe cinétique de l'hémolyse.

Ainsi  $ORAC \text{ échantillon} = (S \text{ blanc} - S \text{ échantillon}) / (S \text{ blanc} - S \text{ Antiox})$

Où : S = Aire sous la courbe cinétique de l'hémolyse

Antiox = Trolox (1µM) ou Vitamine C (2µM).

## **V. Analyse statistique**

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre les diabétiques de type 2 obèses et les témoins est réalisée par le test « t » de student.

Toutes les analyses sont réalisées à l'aide d'un logiciel informatisé Épi info 6.

Les différences sont considérées significatives à, \$,\* P<0,05; hautement significative à, \*\*, \$\$ P<0,01 et très significatives à, \$\$\$, \*\*\* P<0,001.

## **I. Paramètres biochimiques chez les diabétiques non insulinodépendants obèses**

### **I.1. Les Teneurs sériques en glucose :(Fig. 2, Tableau IV en annexes)**

Les teneurs sériques en glucose sont très significativement élevées chez les DNID obèses comparées aux témoins.

Ces variations existent quelque soit le sexe .Par ailleurs, chez les DNID obèses, la glycémie est significativement élevée chez les hommes par rapport aux femmes.

### **I.2.Les teneurs sériques en urée, créatinine et acide urique :(Fig.3 et 4, Tableau V en annexes)**

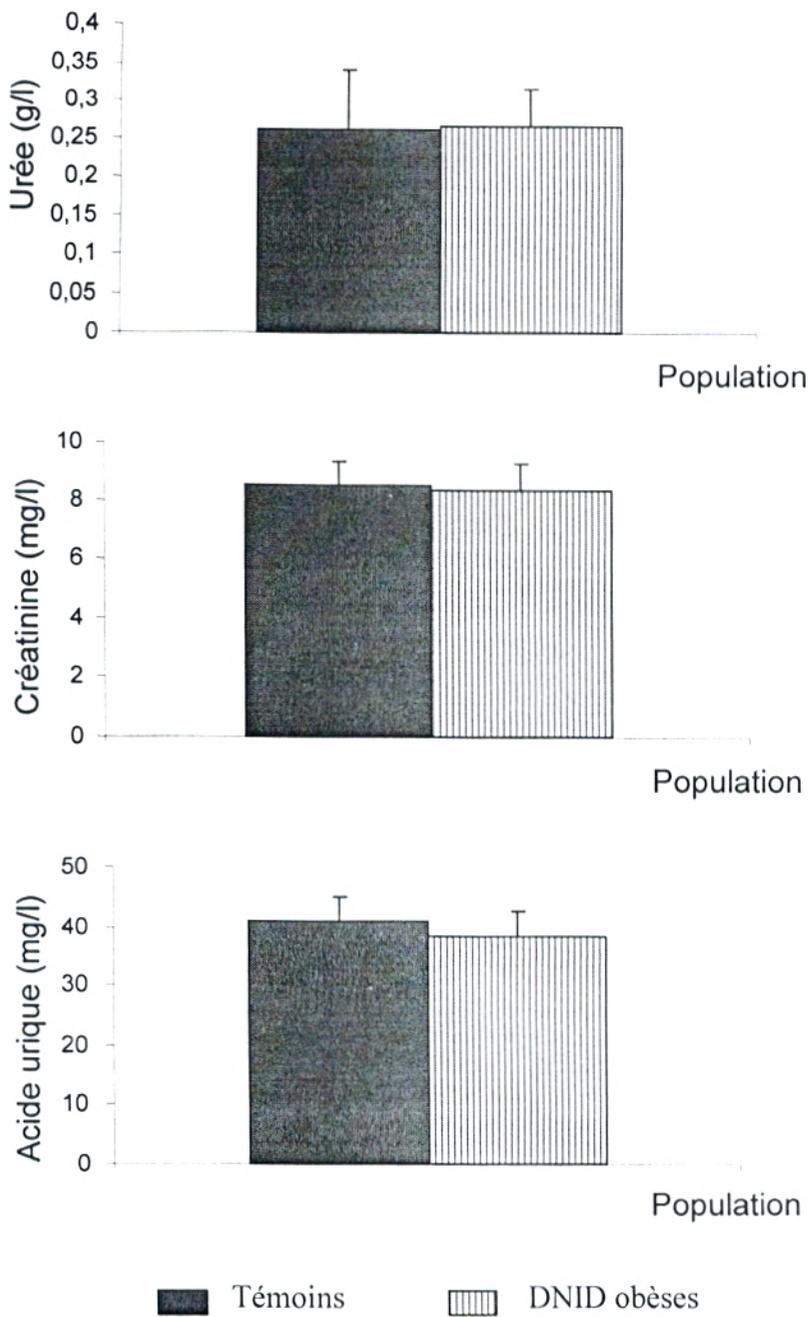
Les teneurs sériques en urée, créatinine et acide urique ne présentent aucune variation entre les DNID obèses et les témoins, et ceci quelque soit le sexe.

### **I.3.Les teneurs en lipides au niveau sériques et au niveau des différentes fractions des lipoprotéines**

#### **I.3.1.Les teneurs en triglycérides : Fig. 5 et 6, Tableau VI en annexes)**

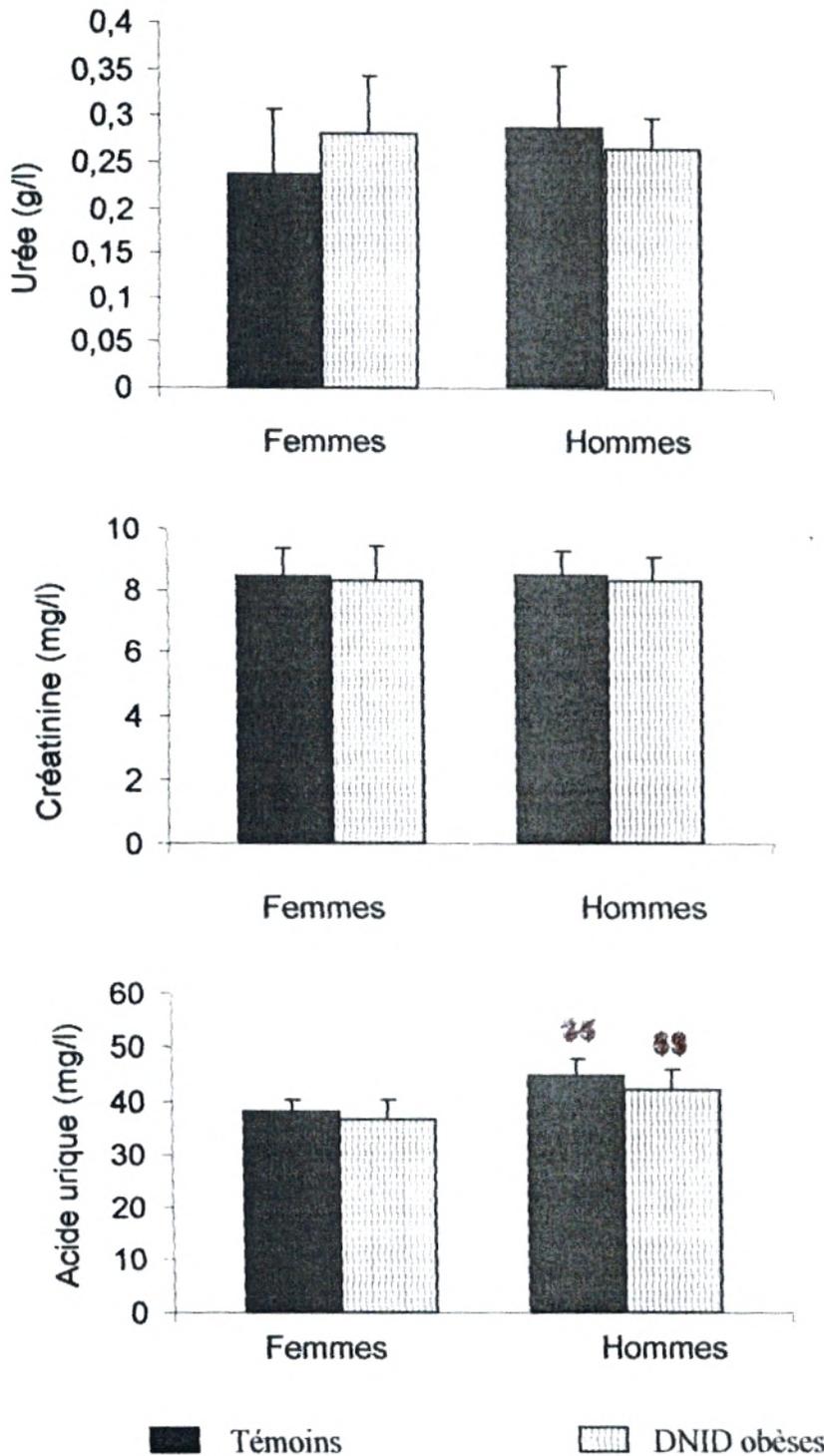
Les teneurs sériques en triglycérides sont significativement élevées chez les DNID obèses comparées aux témoins et ceci quelque soit le sexe. Par ailleurs, les triglycérides sont très significativement diminués chez les hommes DNID obèses par rapport aux femmes.

- Au niveau des VLDL, les TG augmentent très significativement chez les DNID obèses par rapport aux témoins et ceci quelque soit le sexe ; cependant, l'augmentation est significativement élevée chez les hommes DNID obèses par rapport à leurs témoins. Par contre, chez les DNID obèses une diminution significative en TG est notée chez les hommes par rapport aux femmes.
- Concernant les LDL, les teneurs en TG présentent une augmentation très significative chez les hommes et femmes DNID obèses par rapport aux témoins. Par ailleurs, une diminution très significative en TG est notée chez les hommes par rapport aux femmes.
- Le taux du TG des HDL présente une augmentation très significative chez les DNID obèses par rapport aux témoins pour les deux sexes.



**Fig. n°3 :** Teneurs en urée, créatinine et acide urique chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de stüdent.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes :  $^{\$}p < 0.05$ ,  $^{ss}p < 0.01$ ,  $^{sss}p < 0.001$



**Fig.n°4 :** Teneurs en urée, créatinine et acide urique chez les témoins et chez les diabétiques obèses en fonction de sexes.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : <sup>s</sup> $p < 0.05$ , <sup>ss</sup> $p < 0.01$ , <sup>sss</sup> $p < 0.001$

**I-3.2. Les teneurs en cholestérol: ( Fig. 7 et 8, Tableau VII en annexes)**

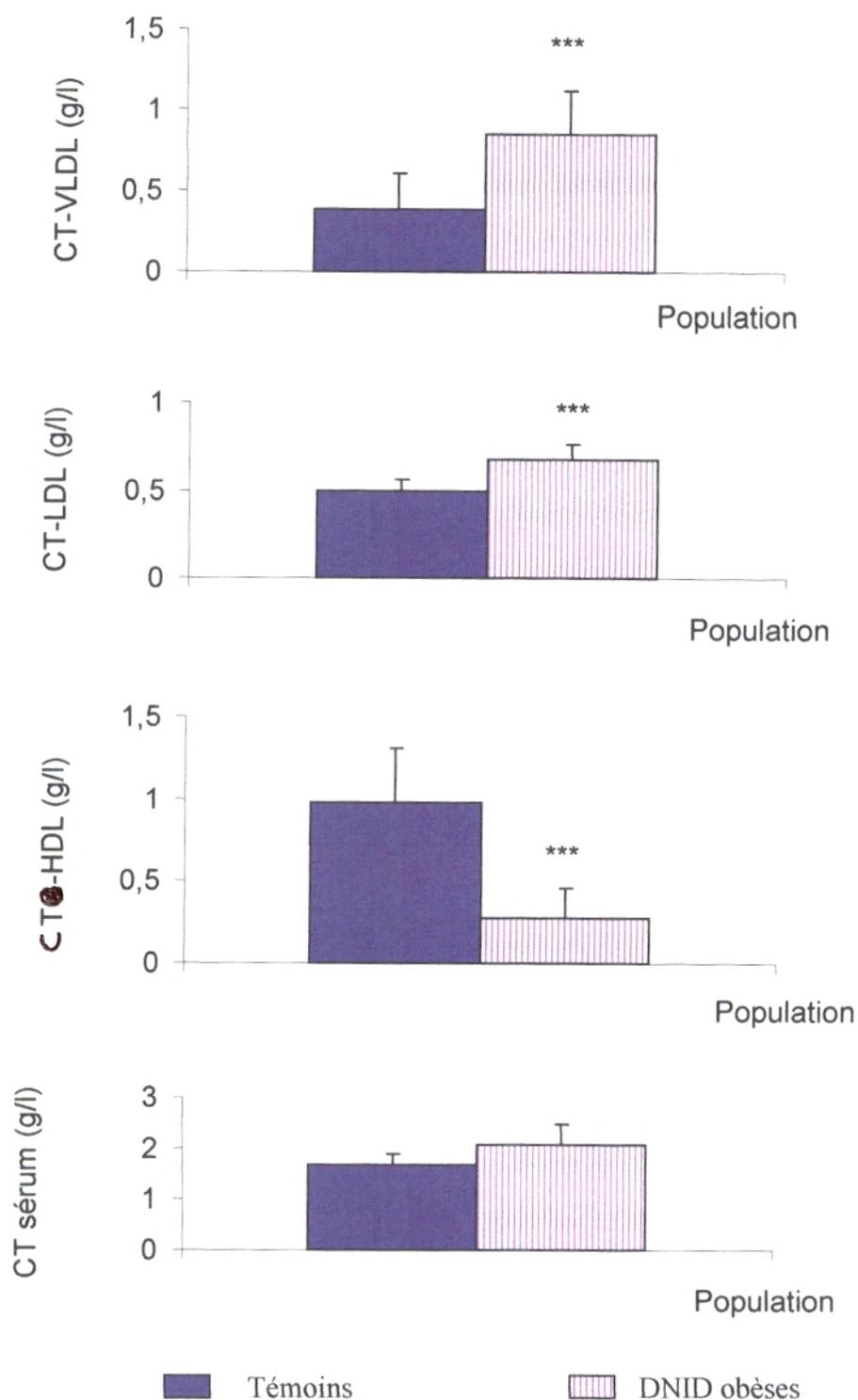
Les teneurs sériques en cholestérol ne varient pas significativement entre les DNID obèses et les témoins et ceci pour les deux sexes.

- Au niveau des VLDL, une augmentation très significative est notée chez les DNID obèses par rapport aux témoins pour les deux sexes.
- Concernant les LDL, les teneurs en CT présentent une augmentation très significative chez les DNID obèses par rapport aux témoins chez les hommes et les femmes.
- tandis que le CT des HDL présente une diminution très significative chez les DNID obèses par rapport aux témoins pour les deux sexes.

**I.3.3. Les teneurs en protéines totales au niveau sériques et des apoprotéines au niveau des différentes fractions des lipoprotéines : (Fig. 9 et 10. Tableau VII en annexes)**

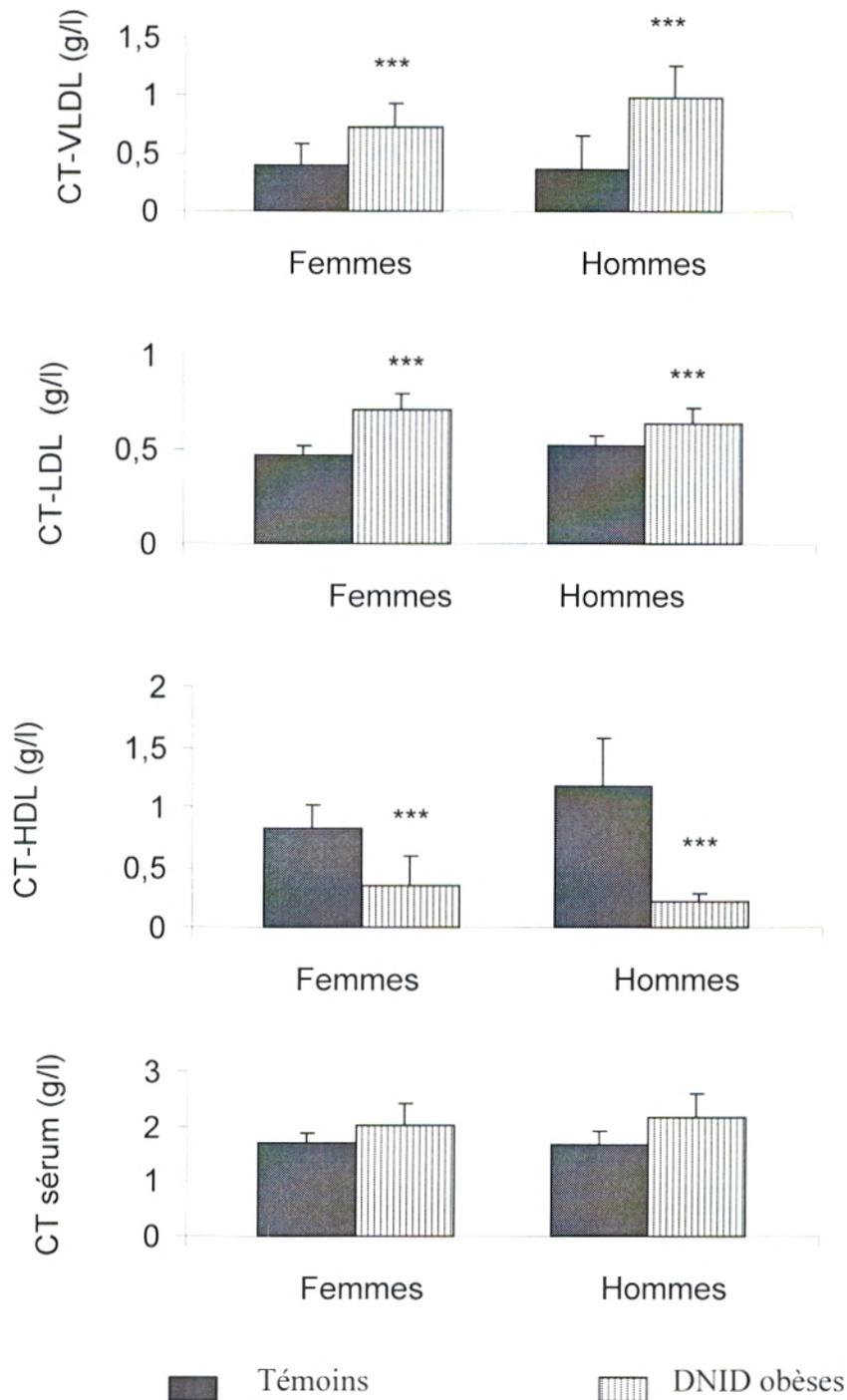
Les teneurs sériques en protéines totales restent stables chez les DNID obèses comparées aux témoins, et ceci quelque soit le sexe.

Les teneurs en apoprotéines des différentes fractions des lipoprotéines (ApoB100-VLDL, ApoB100-LDL et Apo AI-HDL) chez les DNID obèses sont similaires à celles des témoins, et ceci quelque soit le sexe



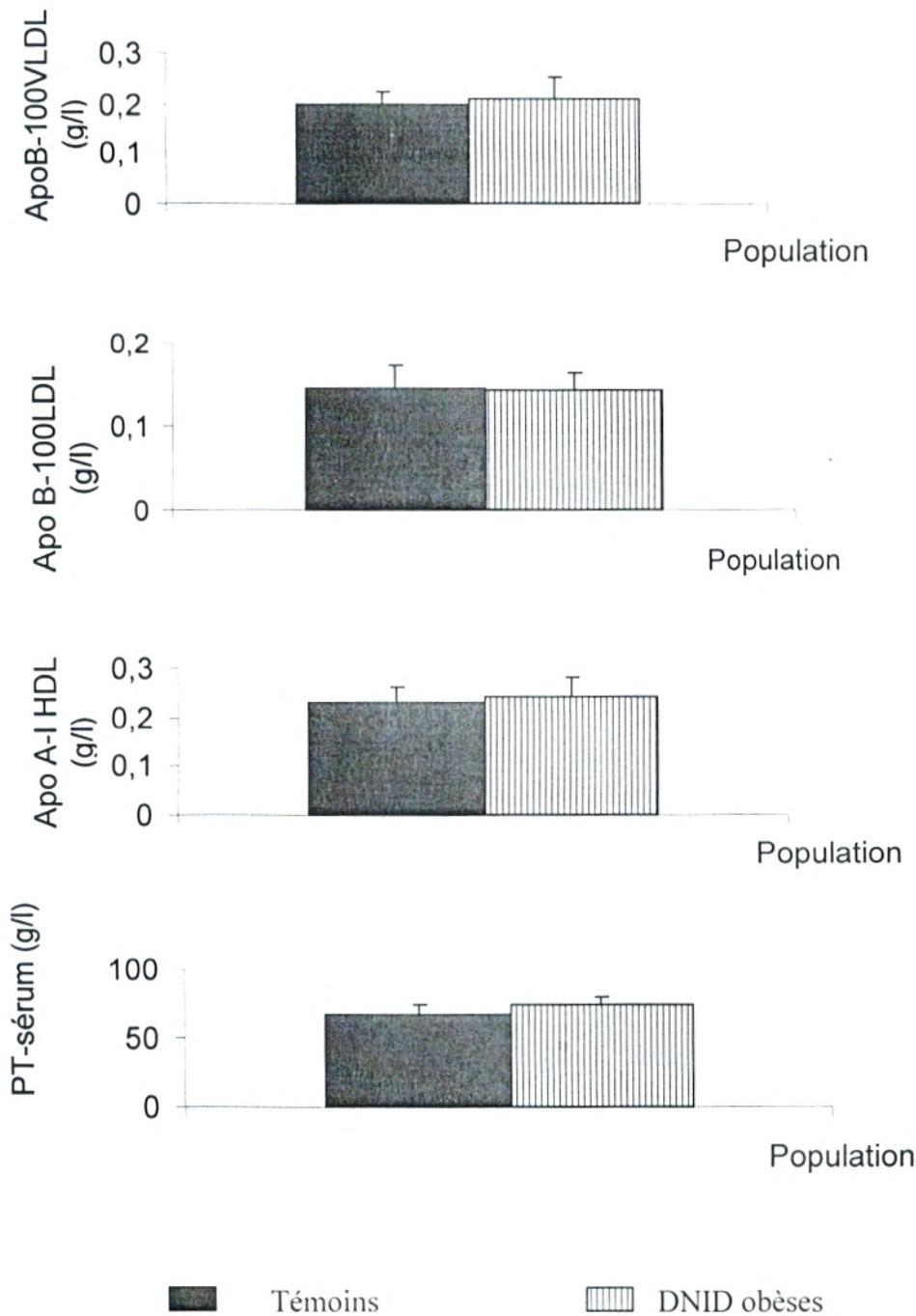
**Fig.n<sup>o</sup>7 :** Teneurs en cholestérol du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : <sup>s</sup> $p < 0.05$ , <sup>ss</sup> $p < 0.01$ , <sup>sss</sup> $p < 0.001$



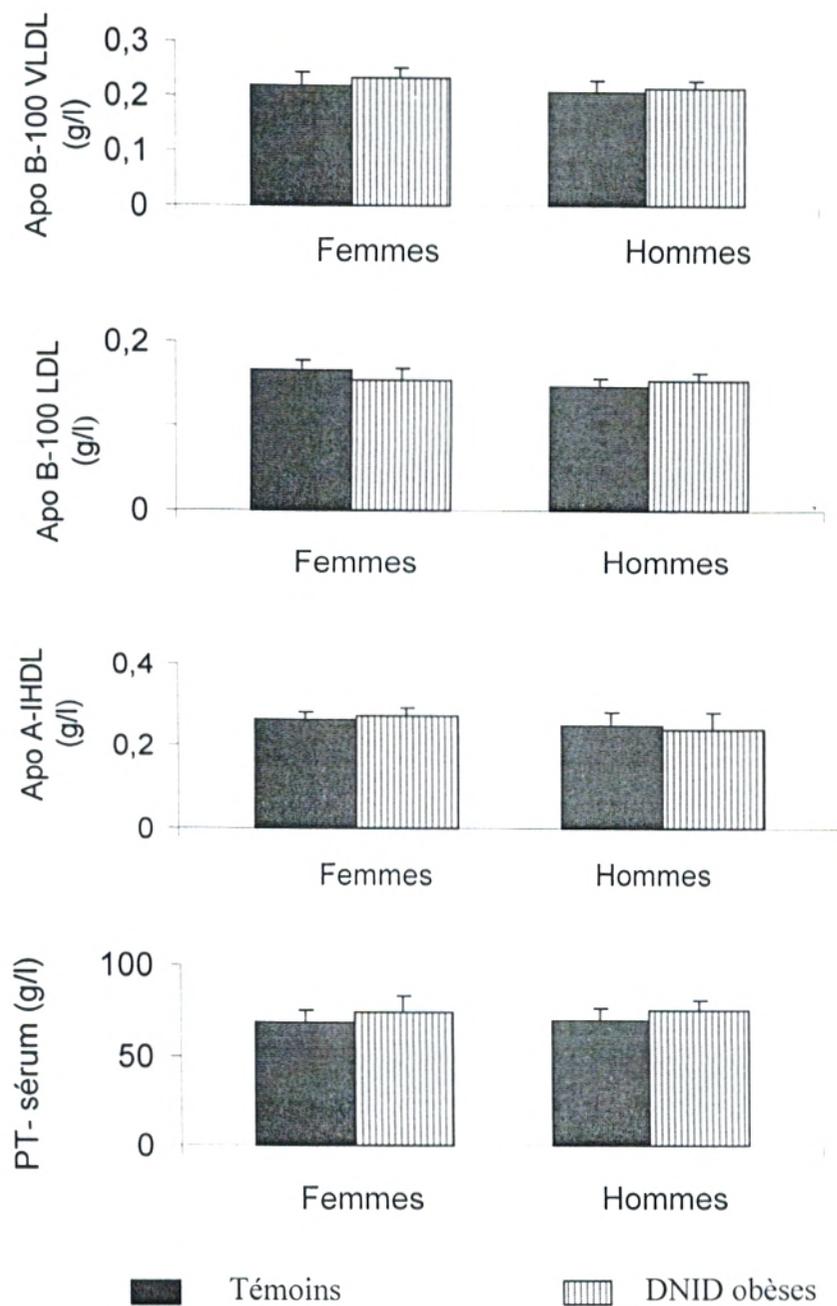
**Fig.n°8 :** Teneurs en cholestérol du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses en fonction de sexes.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes :  $^{\$}p < 0.05$ ,  $^{\$\$}p < 0.01$ ,  $^{\$ \$ \$}p < 0.001$



**Fig.n<sup>09</sup>** : Teneurs en protéines totales au niveau sériques et des apoprotéines au niveau des différentes fractions des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$ $p < 0.05$ , \$\$ $p < 0.01$ , \$\$\$ $p < 0.001$



**Fig.n<sup>o</sup>10 :** Teneurs en protéines totales au niveau sériques et des apoprotéines au niveau des différentes fractions des lipoprotéines chez les témoins et chez les diabétiques obèses en fonction de sexe.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne ± erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \*p< 0.05, \*\* p< 0.01, \*\*\* p< 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : <sup>s</sup>p< 0.05, <sup>ss</sup>p< 0.01, <sup>sss</sup>p< 0.001

## **II. Statut oxydant /antioxydant chez les diabétiques non insulino dépendants obèses**

### **II.1. Statut oxydant chez les diabétiques non insulino dépendants obèses**

#### **II.1.1. Teneurs en malondialdéhydes (MDA) plasmatiques et érythrocytaires : (Fig.11, Tableau IX en annexes)**

Une augmentation hautement significative en MDA plasmatique est notée chez les DNID obèses comparées aux témoins. Cette augmentation est très significative chez les femmes DNID obèses comparées à leurs témoins, et significatives chez les hommes DNID obèses par rapport à leurs témoins.

Par contre, aucune différence significative concernant le MDA érythrocytaire n'est notée entre les DNID obèses et les témoins pour les deux sexes.

#### **II.1.2. Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques et érythrocytaires : Fig. 12, Tableau IX en annexes)**

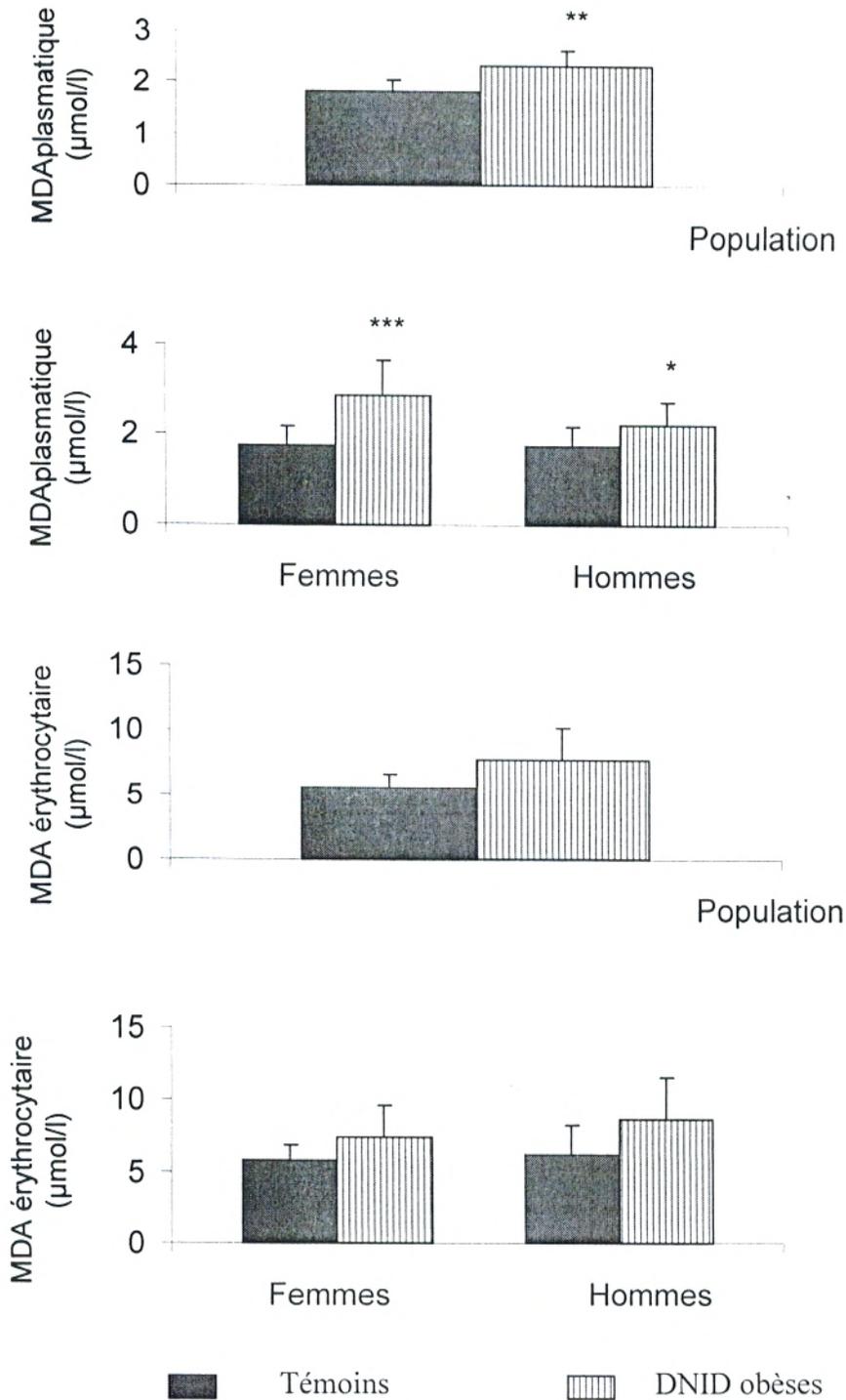
Une augmentation très significative en hydroperoxydes plasmatiques est notée chez les DNID obèses par rapport à leurs témoins et ceci pour les deux sexes.

Concernant les hydroperoxydes érythrocytaires, nous avons noté une augmentation hautement significative chez les DNID obèses par rapport aux témoins et ceci quelque soit le sexe.

#### **II.1.3. Teneurs en protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires : Fig. 13, Tableau IX en annexes)**

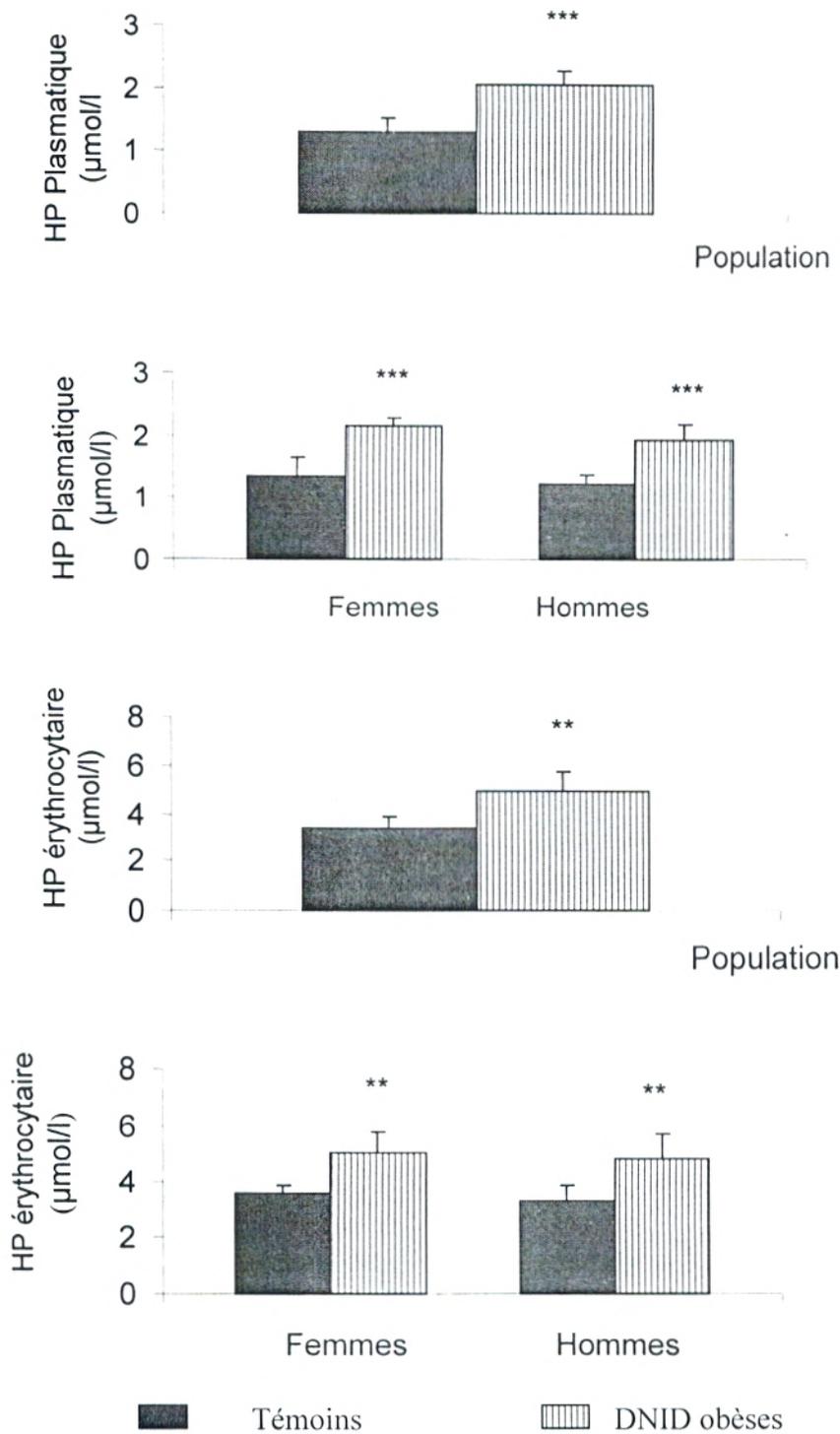
Une augmentation très significative en protéines carbonylées plasmatiques est notée chez les DNID obèses par rapport aux témoins. Cette augmentation est significative chez les femmes DNID obèses par rapport à leurs témoins, et très significative chez les hommes DNID obèses par rapport à leurs témoins.

Une augmentation hautement significative en protéines carbonylées érythrocytaires est notée chez les DNID obèses par rapport aux témoins. Les mêmes variations existent chez les femmes DNID obèses comparées à leurs témoins. Par ailleurs, chez les hommes DNID obèses l'augmentation est très significative par rapport à leurs témoins.



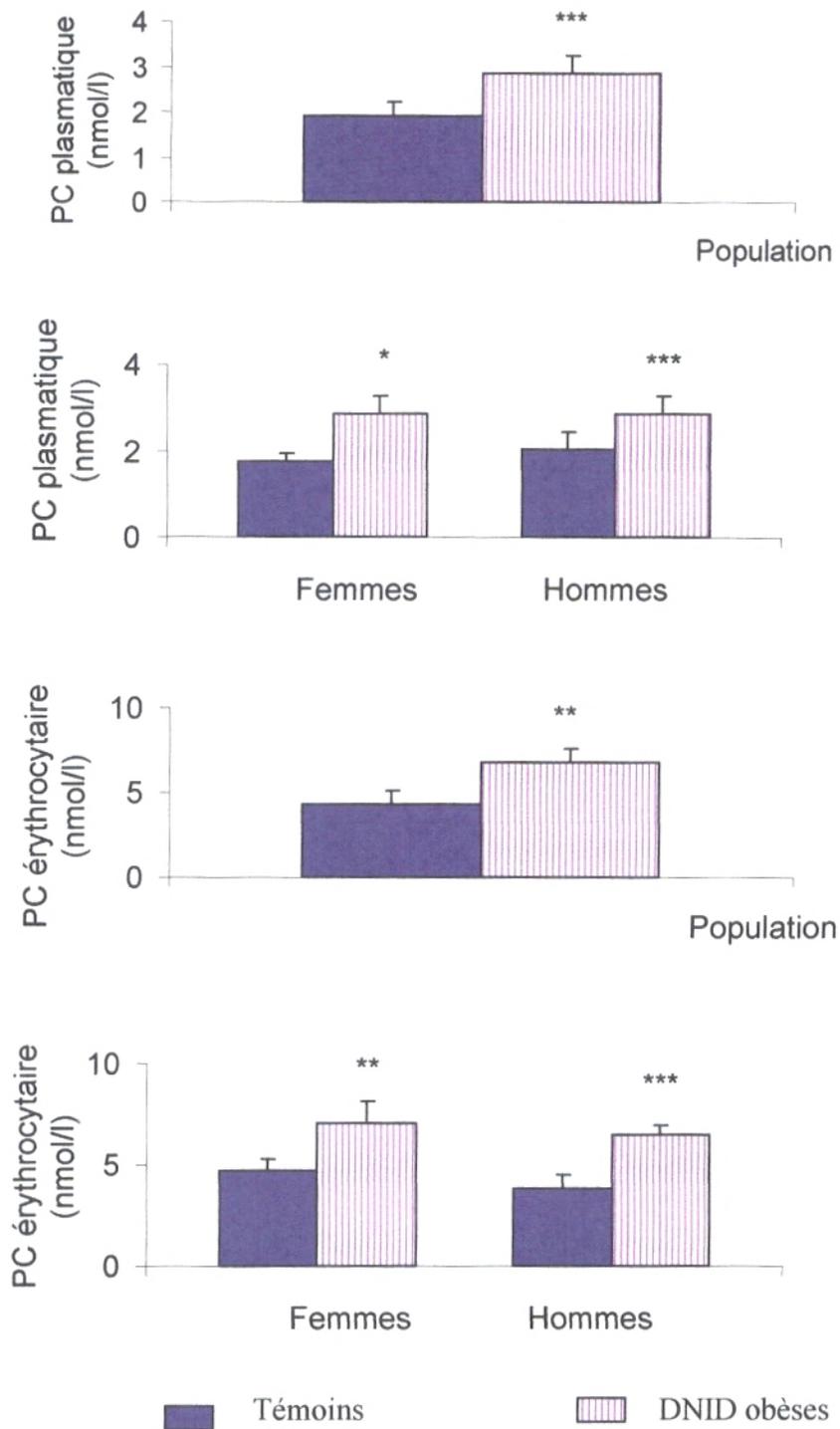
**Fig.n<sup>0</sup>11** : Teneurs en MDA plasmatique et érythrocytaire chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : <sup>s</sup>p < 0.05, <sup>ss</sup>p < 0.01, <sup>sss</sup>p < 0.001



**Fig.n<sup>o</sup>12** : Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques et érythrocytaires chez les témoins et chez les diabétiques obèses.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne ± erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \*p< 0.05, \*\* p< 0.01, \*\*\* p< 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : <sup>s</sup>p< 0.05, <sup>ss</sup>p< 0.01, <sup>sss</sup>p< 0.001



**Fig.n<sup>o</sup>13** : Teneurs en protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires chez les témoins et les diabétiques obèses.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$ $p < 0.05$ , \$\$ $p < 0.01$ , \$\$\$ $p < 0.001$

❖ Comparaison entre femmes et hommes :  $^{\$}p < 0.05$ ,  $^{ss}p < 0.01$ ,  $^{sss}p < 0.001$

#### **II.1.4. Paramètres de l'oxydation *in vitro* des lipoprotéines plasmatiques : (Tableaux II et III)**

Une diminution très significative du T (lag) est notée chez les DNID obèses par rapport aux témoins quelque soit le sexe.

Une diminution significative du T (max) est notée chez les DNID obèses par rapport aux témoins. Les mêmes variations existent chez les hommes DNID obèses par rapport à leurs témoins. Par ailleurs, chez les femmes DNID obèses, la diminution est très significative par rapport à leurs témoins.

Chez les DNID obèses, une augmentation significative est notée en TIDC et TMDC par rapport aux témoins et ceci pour les deux sexes.

#### **II.2. Statut antioxydant chez les diabétiques non insulino-dépendants obèses**

##### **II.2.1. Evaluation de l'activité de la catalase plasmatiques et érythrocytaires: (Fig. 14, Tableau X en annexes)**

L'activité de la catalase au niveau plasmatique et érythrocytaire ne montre aucune différence significative entre les DNID obèses et témoins et ceci pour les deux sexes.

##### **II.2.2. Teneurs en vitamine C plasmatiques : (Fig. 15, Tableau X en annexes)**

Une diminution hautement significative en vitamine C est notée chez les DNID obèses par rapport aux témoins. Les mêmes variations existent chez les hommes DNID obèses par rapport à leurs témoins. Par ailleurs, chez les femmes DNID obèses comparées à leurs témoins, la diminution est très significative.

##### **II.2.3. Pouvoir antioxydant total (ORAC) : (Fig. 16, Tableau X en annexes)**

Une diminution hautement significative du pouvoir antioxydant total (ORAC) est notée chez les DNID obèses par rapport aux témoins. Les mêmes variations existent chez les femmes DNID obèses par rapport à leurs témoins. Cependant, la diminution est significative chez les hommes DNID obèses par rapport à leurs témoins.

**Tableau II:** Paramètres de l'oxydation *in vitro* des lipoprotéines plasmatiques chez les témoins et les diabétiques obèses.

	Témoins	DNID obèses
T (lag) (min)	52±8.36	25,71±5,34 <sup>***</sup>
T (max) (min)	121,42±18,64	102,85±15,11 <sup>*</sup>
TIDC (µmol/l)	0.024±0.005	0.034±0.002 <sup>*</sup>
TMDC (µmol/l)	0.029±0.005	0.039±0.004 <sup>*</sup>

T (lag): Temps initial de l'oxydation ; T (max): Temps Maximal de l'oxydation.

TIDC : Taux initial des Diènes Conjugués; TMDC : Taux Maximal des Diènes Conjugués

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne ± erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* p< 0.05, \*\* p< 0.01, \*\*\* p< 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$p< 0.05, \$\$p< 0.01, \$\$\$p< 0.001

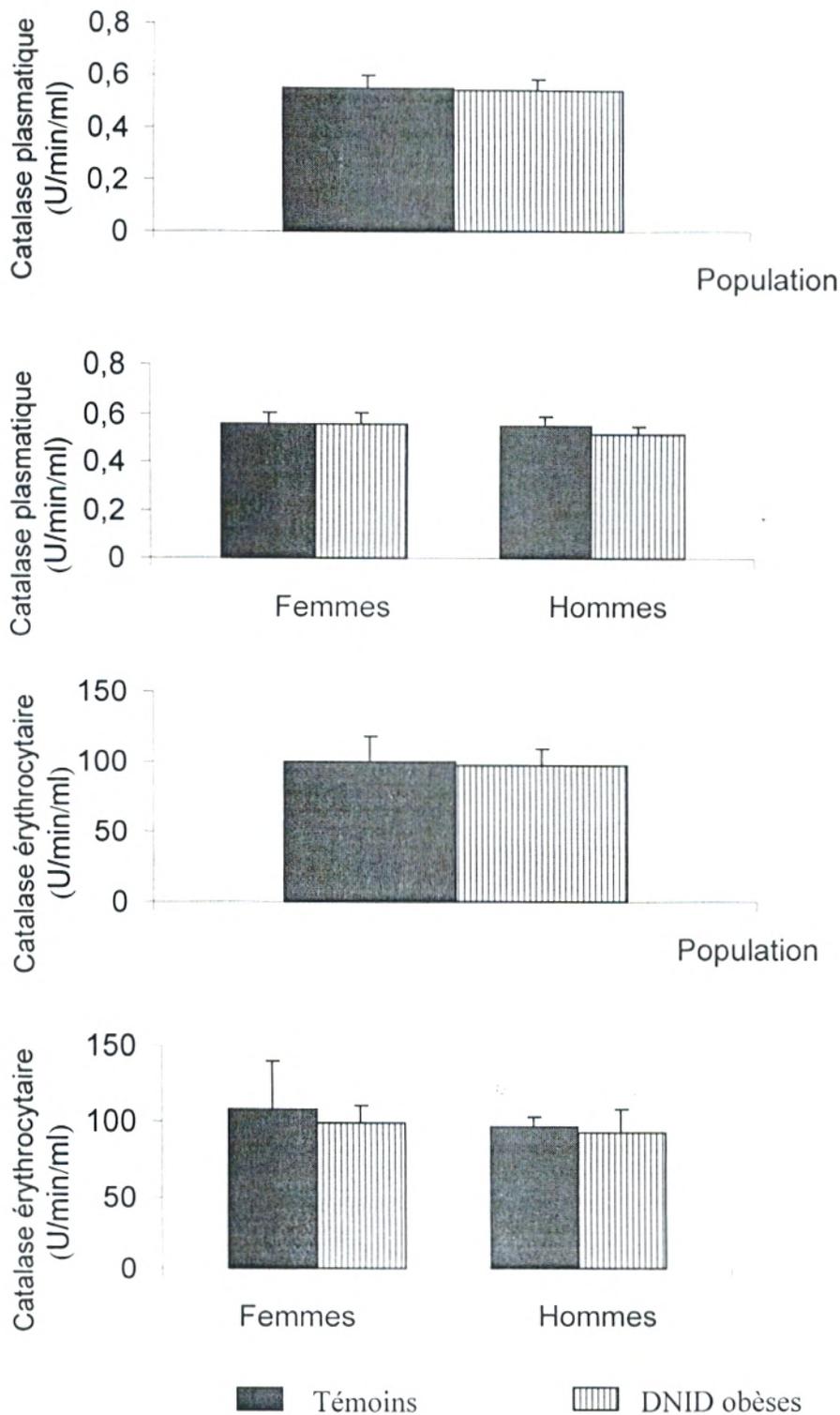
**Tableau III:** Paramètres de l'oxydation *in vitro* des lipoprotéines plasmatiques chez les témoins et les diabétiques obèses en fonction de sexes

	Témoins femmes	DNID obèses femmes	Témoins hommes	DNID obèses hommes
T (lag) (min)	55±7,07	26,66±5,77 <sup>***</sup>	50±10	25±5,77 <sup>***</sup>
T (max) (min)	120±10	100±10 <sup>***</sup>	52±8.36	105±10 <sup>*</sup>
TIDC (µmol/l)	0.024±0.006	0.034±0.001 <sup>*</sup>	0.025±0.004	0.034±0.002 <sup>*</sup>
TMDC (µmol/l)	0.026±0.001	0.036±0.003 <sup>*</sup>	0.031±0.006	0.042±0.001 <sup>*</sup>

T (lag): Temps initial de l'oxydation ; T (max): Temps Maximal de l'oxydation.

TIDC : Taux initial des Diènes Conjugués; TMDC : Taux Maximal des Diènes Conjugués

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne ± erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* p< 0.05, \*\* p< 0.01, \*\*\* p< 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$p< 0.05, \$\$p< 0.01, \$\$\$p< 0.001



**Fig.n<sup>o</sup>14 :** Activité enzymatique en catalase plasmatiques et érythrocytaires chez les témoins et les diabétiques obèses

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \*p< 0.05, \*\*p< 0.01, \*\*\*p< 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : <sup>s</sup>p< 0.05, <sup>ss</sup>p< 0.01, <sup>sss</sup>p< 0.001

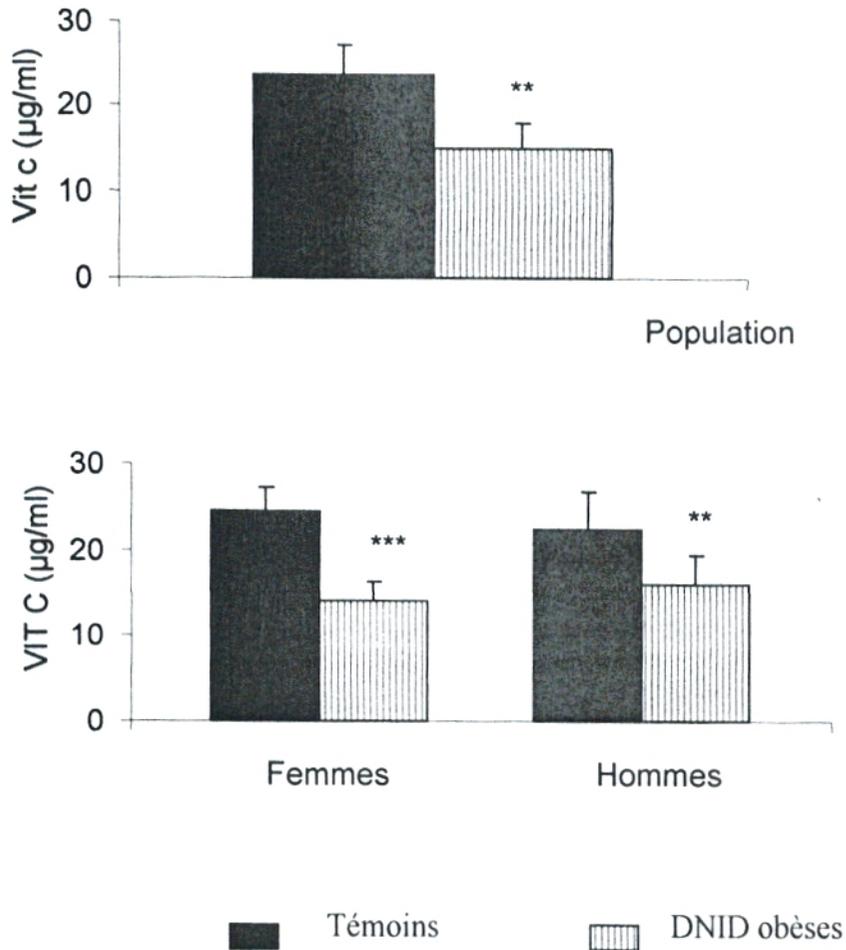


Fig. n<sup>o</sup>15 : Teneurs en vitamine C chez les témoins et les diabétiques obèses

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : <sup>s</sup>p < 0.05, <sup>ss</sup>p < 0.01, <sup>sss</sup>p < 0.001

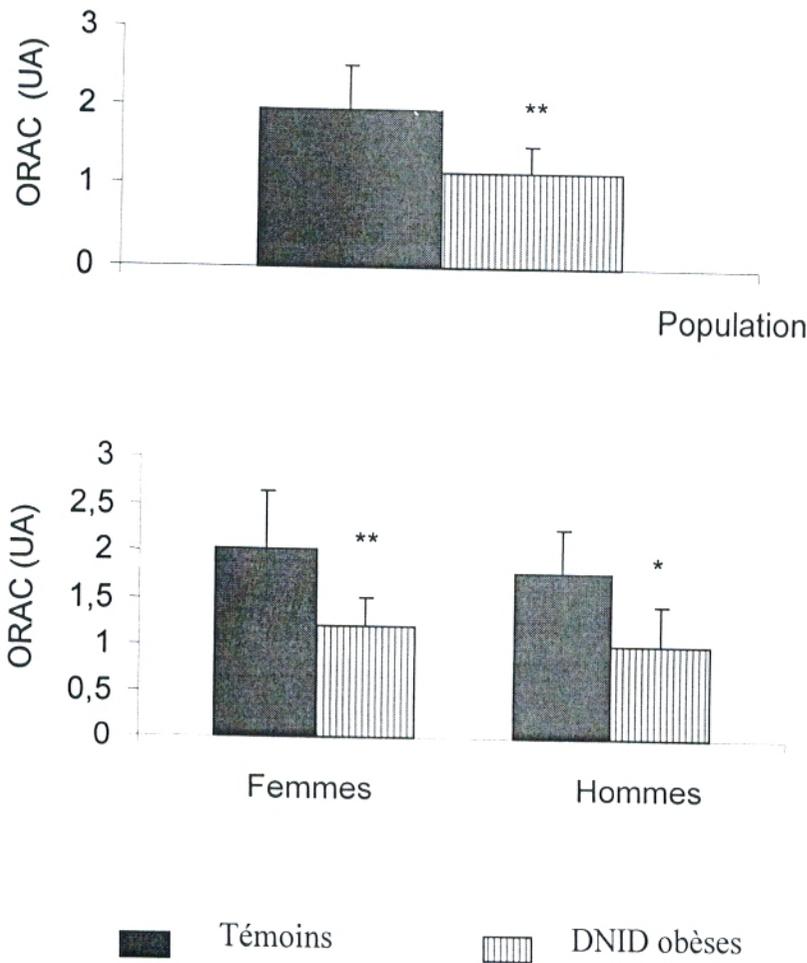


Fig. n°16 : Pouvoir antioxydant total (ORAC) chez les témoins et les diabétiques obèses.

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$  $p < 0.05$ , \$\$  $p < 0.01$ , \$\$\$  $p < 0.001$

## DISCUSSION

Au cours du diabète de type 2, les anomalies lipidiques sont fréquentes, prononcées et représentent un facteur de risque important dont l'augmentation des maladies cardiovasculaires. Par ailleurs, Le stress oxydatif est également impliqué dans cette pathologie **(DAVI et al., 2004)**.

Le stress oxydatif à un intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et le potentiel thérapeutique **(FAVIER, 2003)**.

Notre travail vise à mettre en évidence les variations de quelques paramètres du métabolisme des lipoprotéines et le statut oxydant / anti-oxydant chez des diabétiques non insulinodépendants (DNID) obèses.

Les résultats obtenus montrent une augmentation très significative des teneurs sériques en glucose chez les DNID obèses par rapport aux témoins, en particuliers chez les hommes. Cette hyperglycémie est une caractéristique du diabète sucré **(LAZAREVIC et al., 2006 ; BOULÉ et al., 2007 )**.

Concernant les paramètres rénaux (l'urée, la créatinine et l'acide urique), nos résultats ne montrent aucune différence significative entre les DNID obèses et les témoins. Ces résultats sont en accord avec **KASSAB-CHEKIR et al. (2004)**, qui indiquent, que dans la population diabétique étudiée par rapport aux témoins, la concentration en urée, créatinine et l'acide urique plasmatique étaient inchangées, signe d'une fonction rénale normale .

De plus, concernant d'éventuelles altérations du métabolisme des lipides et lipoprotéines, nos résultats montrent une augmentation en TG sériques chez les DNID obèses comparés aux témoins en particuliers chez les femmes. Ces résultats sont en accord avec ceux de **DE VRIES et al. (2005) et LAZAREVIC et al. (2006)** qui ont montré que les teneurs sériques en TG chez les DNID obèses sont plus élevées que chez les sujets témoins.

L'hypertriglycéridémie observée chez les DNID obèses est expliquée d'une part, par l'augmentation de la production hépatique des VLDL **(AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2006)** et d'autre part, par la diminution de leur dégradation **(AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2003)**. Cette réduction du catabolisme des VLDL est le reflet de la diminution de l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL). La LPL, enzyme synthétisée par de nombreux tissus, incluant le tissu adipeux et musculaires, est responsable de l'hydrolyse des triglycérides transportés par les chylomicrons et les VLDL avec libération d'acides gras qui seront utilisés par les tissus **(PRUNETTA-DELOCHE et al., 2005; SOCQUARD et al., 2007 )**.

En ce qui concerne nos résultats, les teneurs en TG des VLDL présentent une augmentation significative chez les DNID obèses comparés aux témoins. Ces résultats sont conformes avec

ceux de **DE VRIES et al. (2005)** qui indiquent que les TG des VLDL chez les DNID obèses présentent un ralentissement de leur catabolisme, donc une augmentation de leur temps de résidence plasmatique.

De même les teneurs en TG des HDL et LDL, présentent une augmentation significative chez les DNID obèses comparés aux témoins, en particulier chez les femmes par rapport aux hommes et à leurs témoins respectifs. Ces résultats sont en accord avec **KOLOVOU et al. (2005)** qui rapportent que les HDL des DNID obèses contiennent plus de TG que les non diabétiques dus probablement à l'altération de la lipase hépatique. L'accumulation des TG au niveau des HDL et LDL, peut être aussi due à l'élévation et l'activation enzymatique de la CETP assurant le transfert des EC vers les lipoprotéines riches en TG et les TG dans le sens opposé (**KANTERS et al., 2001**).

Nos résultats montrent que l'hypertriglycémie est plus importante chez les femmes diabétiques obèses comparées aux hommes. En effet, en plus du diabète et de l'obésité, les oestrogènes augmentent la synthèse hépatique des triglycérides chez les femmes (**GOURDY et al., 2005**).

D'autre part, chez les DNID obèses, les teneurs en cholestérol total au niveau sérique restent similaires à leurs témoins, pour les deux sexes ; par contre au niveau des VLDL et des LDL, les teneurs en CT augmentent significativement chez les DNID obèses comparés aux témoins. Nous avons également constaté une diminution très significative du taux de HDL-cholestérol chez les DNID obèses comparés aux témoins et ceci pour les deux sexes. Ces résultats sont en accord avec ceux de **ANAND et al. (2003)** qui rapportent que chez les DNID obèses les teneurs en CT des VLDL et LDL sont plus élevées et HDL cholestérol plus bas. En effet l'augmentation des teneurs en LDL cholestérol chez les DNID obèses est peut être liée à des perturbations qualitatives qui sont les plus importantes (prépondérance des LDL petites et denses riches en triglycérides athérogènes, glycation de l'Apo B, oxydation des LDL). Pour d'autres auteurs (**VERGÉS, 2001**), l'augmentation du LDL cholestérol est le résultat d'une insulino-résistance, qui entraîne une réduction de leur catabolismes.

De plus, la réduction du HDL cholestérol chez les DNID obèses, est liée à un catabolisme accéléré. L'augmentation des acides gras libres et de l'activité de la cholesteryl ester transfer protein (CETP) induit une perte de cholestérol estérifié et un enrichissement en triglycérides des HDL (par échange avec les lipoprotéines riches en TG. Les HDL ainsi transformées sont alors plus sensibles à l'action de la lipase hépatique (**BARTER, 2004**).

La baisse des HDL peut favoriser l'oxydation des LDL par une baisse de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) protectrice. Ainsi, ces patients auront des TG augmentés,

un taux de HDL bas, et des LDL plus petites et denses propices à l'oxydation, donc un profil très à risque du point de vue cardiovasculaire (COSTA et al., 2006).

À côté de ces anomalies de métabolisme lipidique, nos résultats indiquent que les sujets diabétiques obèses ne présentent pas de perturbations protéiques, car les teneurs en protéines totales aux niveaux sériques et au niveau des différentes fractions de lipoprotéines (ApoB100-VLDL, ApoB100-LDL et Apo AI-HDL) restent stables pour les diabétiques obèses comparés aux témoins, et ceci quelque soit le sexes. Ces résultats sont en accord avec MARÇAIS et al. (2005). Par contre, d'autres études montrent que les dyslipoprotéïnémies sont plus fréquentes chez les diabétiques obèses que dans la population témoins (MCENENY et al., 2000).

Par ailleurs, l'hyperglycémie ainsi que les autres troubles métaboliques liés au défaut de l'insuline, au cours du diabète de type 2 (associé à l'obésité) peuvent induire également un stress oxydatif (WOLD et al., 2005; MONNIER et al., 2007) qui correspond à un déséquilibre entre la production des radicaux libres et les défenses antioxydantes (PARIS et al., 2003; HALENG et al., 2007).

L'augmentation du stress oxydatif au cours du diabète a donc été principalement démontrée par une augmentation des dommages causés par les radicaux libres sur les protéines et les lipides (LOUIS et al., 2006).

Nos résultats indiquent que chez les DNID obèses, les produits de la peroxydation lipidiques : les diènes conjugués, les hydroperoxydes et le MDA plasmatique sont significativement plus élevés chez les DNID obèses.

Le principal marqueur de l'augmentation des radicaux libres est l'augmentation de la peroxydation lipidique (NEGRE-SALVAYRE et SALVAYRE, 2003). Plusieurs études ont mis en évidence l'augmentation du taux des produits de peroxydation lipidiques (diènes conjugués, hydroperoxydes) dans le plasma des diabétiques obèses (FERRETTI et al., 2002).

Chez des patients dont le diabète est mal équilibré, des périodes prolongées d'hyperglycémie peuvent entraîner une élévation du stress oxydant et des modifications des lipoprotéines. Ces modifications sont le résultat de phénomènes de glycation (union du glucose à des protéines), d'oxydation et d'agrégation (VERICEL et al., 2004; WATALA et al., 2005).

Il a été récemment démontré que toutes les perturbations micro et macrovasculaires sont la conséquence du stress oxydant. Les espèces réactives à l'oxygène favorisent l'oxydation des lipoprotéines au niveau extracellulaire et altèrent le fonctionnement cellulaire endothélial (GILLERY, 2006).

L'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) est considérée comme un des facteurs critiques de l'athérogénèse. Cette oxydation est le résultat de l'équilibre entre la stimulation prooxydative et les antioxydants endogènes présents à l'intérieur des LDL, équilibre dépendant strictement de la concentration de substrats oxydables, c'est-à-dire les acides gras insaturés (**WATALA et al., 2005**).

**LAZAREVIC et al. (2006)** indiquent que chez les DNID obèses les diènes conjugués produits de la peroxydation lipidique sont augmentés de façons significatives par rapport aux témoins.

Des études sur l'homme **MOHORA et al. (2003)** et **MERZOUK et al. (2004)** montrent que le diabète est associé à une augmentation dans le sang des produits issus de la peroxydation lipidique et essentiellement des hydroperoxydes, résultant de l'hyperglycémie. Il est connu que, l'augmentation du glucose augmente la production des radicaux libres et diminue la défense naturelle antioxydante (**BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2000**).

Le MDA est un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés médies par les radicaux libres, il excellent substrat des peroxydases (**HARNETT et al., 2000**). Le MDA plasmatique augmenté dans le plasma des diabétiques obèses. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **LAZAREVIC et al. (2006)** qui suggèrent qu'il y a une augmentation de MDA et des hydro peroxydes plasmatique chez les diabétiques de type 2 obèses.

L'hyperglycémie chronique induit une augmentation de l'oxydation des protéines chez les diabétiques de type 2. Cette augmentation serait susceptible de contribuer au développement des complications vasculaires liées au diabète (**JAKUS et RIETBROCK, 2004**).

Nos résultats montrent que les produits de l'oxydation des protéines (protéines carbonylées) sont significativement élevés chez les diabétiques de type II. Ces résultats sont confirmés par **ÇAKATAY. (2005)**, qui indique chez les DNID obèses les protéines carbonylées sont augmentés significativement par rapport aux témoins. L'oxydation des protéines est un signe de l'endommagement tissulaire, causé par le stress oxydatif, l'augmentation du taux des carbohydrates, ou les deux (**MAYNE, 2003**).

Pour se défendre des effets délétères des radicaux libres, l'organisme humain possède une variété de système de protection, capable de neutraliser ou dégrader les ROS.

Les systèmes antioxydants sont soit des molécules qui captent rapidement les ROS (antioxydants proprement dits), soit des systèmes enzymatiques qui catalysent la conversion des molécules pro-oxydantes (**SCHULZ et al., 2004 ; WASSMANN et al., 2004**).

L'activité des enzymes antioxydants au cours du diabète reste controversée ; elle peut augmenter, diminuer ou rester inchangée, mais semble dépendre de plusieurs facteurs qui peuvent être spécifiques au diabète comme le type et la durée du diabète, le type de traitement ainsi que le contrôle glycémique, qui reste le facteur principale (**SALVAYRE et al., 2003**).

Dans notre travail, l'activité de la catalase érythrocytaire et plasmatique chez les diabétiques de type 2 est similaire à celles des témoins et ceci quelque soit le sexe. Ces résultats sont en accord avec ceux **CZERNICHOW et al. (2006)** qui ont montré que l'activité de la catalase érythrocytaire, enzyme antioxydante qui dégrade spécifiquement les H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>, ne semble pas être altérée chez les patients diabétiques de type 2 (**CANGEMI, 2005**). Par contre **RAMAZAN-SEKEROGLU et al. (2000)** décrivent une diminution de l'activité de la catalase érythrocytaire chez les diabétiques de type II obèses.

Le stress oxydant est considéré comme un mécanisme important à l'origine des lésions des cellules  $\beta$  dans le diabète type 2 (**LUPI et al., 2007**). Ces cellules, seraient particulièrement vulnérables au stress oxydatif, en raison d'une faible expression d'enzymes antioxydantes, comme la catalase et la glutathion peroxydase (**MONTONEN et al., 2004**). Il est donc probable que le stress oxydatif soit impliqué dans la dégradation des cellules  $\beta$ , observée dans le diabète de type 2 (**WONG et BRUBAKER, 2006**).

Des études chez l'animal viennent conforter cette hypothèse, suggérant ainsi une éventuelle utilité des antioxydants dans la prévention du diabète (**CERIOLO et MOTZ, 2004**; **KANETO et al., 2005**).

Chez le rat obèse et diabétique OLETF, la troglitazone prévient l'augmentation des produits de peroxydation des lipides (**FUKI et al., 2000**). **SREENAN et al.(1996)** ont initialement montré que le traitement des rats diabétiques ZDF par la metformine et la troglitazone, deux molécules ayant des propriétés antioxydantes, prévient l'apparition de l'hyperglycémie.

Plusieurs chercheurs ont montré que les concentrations plasmatiques et tissulaires de certains antioxydants comme l'acide ascorbique antioxydant plasmatiques majeur, sont diminuées chez les diabétiques de type2 (**TESSIER et al., 2007**).

Le statut en vitamine C dépend de l'interaction entre la consommation alimentaire de cette vitamine et les concentrations plasmatiques d'insuline et de glucose (**ABRAHAM et KAPPAS, 2005**). Ainsi, la diminution de la vitamine C au cours du diabète peut être la conséquence d'une ; réduction de la captation cellulaire de l'acide ascorbique, puisque le glucose (qui se trouve en excès) entre en compétition avec l'acide ascorbique, et d'une augmentation d'excrétion urinaire de l'acide ascorbique ainsi qu'une réduction de la

concentration du glutathion indispensable à la régénération enzymatique de l'acide ascorbique à partir du déhydroascorbate (**VIOLI et CANGEMI, 2005**).

Dans notre étude, la faible teneur en vitamine C peut être en faveur de son utilisation accrue, suggérant des besoins importants afin de réduire le stress oxydatif chez les diabétiques. D'un autre côté, elle peut refléter une consommation réduite en cette vitamine ou d'une réduction de sa captation cellulaire due à l'hyperglycémie.

Par ailleurs, plusieurs auteurs montrent que l'ORAC est un bon indice du stress oxydant chez les diabétiques (**COURDEROT-MASUYER et al., 2000**). Nos résultats montrent que le pouvoir antioxydant total (ORAC) chez les diabétiques obèses est plus faible que celui des témoins. Ceci peut s'expliquer par une défaillance du système de défense antioxydant, et une élévation de la production des radicaux libres (**MERZOUK et al., 2004**).

Dans l'étude réalisée par **KASSAB-CHEKIR et al. (2008)**, les patients diabétiques montrent une activité antioxydante sérique totale considérablement plus faible que celle des témoins. Cette étude montre également 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.

En effet, le statut antioxydant total est le reflet de l'ensemble des paramètres, enzymatiques et non enzymatiques, participant au maintien de l'équilibre de la balance oxydante /antioxydantes (**KASSAB-CHEKIR et al., 2008**).

## CONCLUSION

Le diabète non insulino-dépendant associé à l'obésité est à l'origine de nombreux troubles métaboliques, qui sont susceptibles de provoquer des complications à moyen et à long terme.

Nos résultats montrent que le métabolisme lipidique et lipoprotéique sont perturbés chez les diabétiques de type 2 obèses.

Au niveau sérique, il y a une augmentation significative de la glycémie, par contre aucune différence en urée, créatinine, acide urique, cholestérol total (CT) et protéine totale, n'est observée.

De plus les dyslipidémies associées au DNID sont caractérisées par une augmentation des taux en TG au niveau sériques et au niveau des fractions lipoprotéiques, ainsi qu'une élévation des taux de cholestérol au niveau des VLDL et LDL et la diminution de celui-ci au niveau des HDL. Ces variations constituent des anomalies indiquant dans un risque d'athérosclérose.

En plus, il apparaît clairement que la balance oxydante/antioxydante est altérée au cours du diabète de type 2.

Nos résultats indiquent que les taux plasmatiques et érythrocytaires des hydroperoxydes et des protéines carbonylées augmentent chez les DNID obèses comparés aux témoins. Par ailleurs, le taux du MDA plasmatiques et diènes conjugués augmentent chez les DNID obèses. Par contre, une diminution du pouvoir antioxydant total et de la vitamine C a été notée chez les DNID obèses comparés aux témoins, tandis que, l'activité plasmatique et érythrocytaire de la catalase ne varie pas chez les DNID obèses.

Ces résultats sont en faveur d'une dyslipidémie et d'un déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante chez les DNID obèses due soit à une diminution des défenses antioxydantes soit à une augmentation de la production radicalaire.

Il est donc nécessaire de réduire l'incidence de l'obésité en recommandant une hygiène de vie et plus particulièrement par une alimentation équilibrée riche en antioxydants, un suivi régulier de la glycémie et la pratique du sport.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. ABRAHAM NG., KAPPAS A. (2005). Heme oxygenase and the cardiovascular-renal system. *Free Radic Biol Med.* **39**: 1-25.
2. AEBI H. (1974). Catalase in methods of enzymatic analysis. 2<sup>nd</sup>. H.U Bergmeyer. *Verlag Chemie GmbH, Weinheim.* **2**:673-684.
3. ALVARSSON M., WAJNGOT A., CERASI E., EFENDIC S.K. (2005). value and low insulin secretion in a non-obese white population predicted glucose tolerance after 25 years. *Diabetologia.* **48** : 2262-2268.
4. ALZHRANI AS. (2005). Resistin: can we resist its role in insulin resistance? *Ann Saudi Med.* **25** :281–282.
5. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. (2003). Management of dyslipidemia in adults with Diabetes. *Diabetes Care.* **26** : 83-86.
6. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. (2006). Nutrition Recommendations and Interventions for Diabetes (position statement). *Diabetes Care.* **29 (9)** : 2140-2157.
7. ANAND SS., YI Q., GERSTEIN H., LONN E., JACOBS R. (2003). Relationship of metabolic syndrome and fibrinolytic dysfunction to cardiovascular disease. *Circulation.* **108** :420–425.
8. ARNER P. (2003). The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol Metab.* **14** :137-145.
9. BALKAU B. (2000). L'étude DECODE (Diabetes Epidemiology : Collaborative analysis of Diagnostic criteria in Europe). *Diabetes & metabolism, hors série.* **26** :92-96.
10. BARROSO I. (2005) .Genetics of type 2 diabetes, *Diabet Med.* **22**:517-535.
11. BARTER PH. (2005). The role of HDL-cholesterol in preventing atherosclerotic disease. *European Heart Journal.* **7** : F4-F8.
12. BARTER PH. (2004). Metabolic abnormalities: high-density lipoproteins–Endocrinolo. *Metab Clin North Am.* **33**:393-403.
13. BASTARD JP., VIGOUROUX C., CAPEAU J. (2004). Syndrome métabolique ou d'insulinorésistance et diabète de type 2. Ed ELSEVIER.P :103-107,113.
14. BAXTER AG., DUCKWORTH RC. (2004) .Model of type I (autoimmune) diabetes, *Drug Discov Today: Disease Models.* **1**:451-455.
15. BÉLANGER MC., DEWAILLY E., BERTHIAUME L., NOEL M., BERGERON J., MIRAULT ME. (2006). Dietary contaminants and oxidative stress in Inuit of Nunavik. *Metabolism.* **55 (8)**:989-995.

16. BIGGERSTAFF KD., WOOTEN JS. (2004). "Understanding Lipoproteins as Transporters of Cholesterol and Other Lipids." *Adv Physiol Educ.* **28** :105-106.
17. BIOLETTO S., GOLAY A., MUNGER R., KALIX B., JAMES R. (2000) .Acute hyperinsulinemia and very –low-density and low-density lipoprotein subfractions in obese subjects .*Am J Clin Nutr.*71:443-449.
18. BLANCHÉ D, PROST M. (1992) .Free radical attack: biological test for human resistance capability .In: *A Lunar-Based Chemical Analysis Laboratory*: 82-98.
19. BONNEFONT-ROUSSELOT D., BASTARD JP., JAUDON MC., DELATTRE J. (2000).Consequences of diabetic status on the oxidant/antioxidant balance.*Diabetes Metab.*26:163-176.
20. BORCH-JOHNSEN K., COLAGIURI S., BALKAU B., CARSTENSEN B., RAMACHANDRA A. (2004). Creating a pandemic of prediabetes: the proposed new diagnostic criteria for impaired fasting glycaemia. *Diabetologia.* **47** :1396–1402
21. BOSCH J., YUSUF S., GERSTEIN H C., POGUE J., SHERIDAN P., DAGENAIS S. (2006). Effect of ramipril on the incidence of diabetes, *N Engl J Med.*355:1551-1562.
22. BOULÉ NG., HADDAD E., KENNY GP. (2007). Effects of exercise on glycaemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus. A meta-analysis of controlled clinical trials. *JAMA.*286 :1218-1227.
23. BOUWENS L, ROOMAN I. (2005). Regulation of Pancreatic  $\beta$ -cell mass. *Physiol Rev.* **85** : 1255-1270.
24. BROWN BG., SUKOVSKY KH., ZHAO XQ. (2006). Simultaneous low-density lipoprotein- C lowering and high-density lipoprotein-C elevation for optimum cardiovascular disease prevention with various drug classes, and their combinations: a meta-analysis of 23 randomized lipid trials. *Current Opinion in Lipidology.* **17** :631-636.
25. BURSTEIN M., SCHOLNICK HR., MORFIN R. (1970).Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions, *J.Lipid.Res.*11:583.
26. BUTTRISS J., NUGENT A. (2005). LipGene: an integrated approach to tackling the metabolic syndrome. *Actes de la Nutrition Society.* **64** : 345-347.

27. CADET J., BELLON S., BERGER M., BOURDAT A.G., DOUKI T., DUARTE V., FRELON S., GASPARUTTO D., MULLER E., RAVANAT J.L., SAUVAIGO S. (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage : guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases, *Biol. Chem.* **383**(6) : 93.
28. ÇAKATAY U. (2005). Protein oxidation parameters in type 2 diabetic patients with good and poor glycaemic control Paramètres d'oxydation des proteins chez des diabétiques de type 2 en équilibre glycémique correct et insuffisant .*Diabetes Metab. Masson.* **31** :551-557.
29. CALLES-EXCANDON J., CIPPOLA M. (2001). Diabetes and endothelial dysfunction: A clinical perspective .*Endocrine reviews.* **22** :36-52.
30. CAMPBELL IW., MARIZ S. (2007).  $\beta$ -cell preservation with thiazolidinediones. *Diabetes Res Clin Practice* **76** : 163-176.
31. CANGEMI R. (2005). Antioxidants and cardiovascular disease. *Curr Opin Investig Drugs* . **6** : 895-900.
32. CARR AC., ZHU BZ., FREI B. (2000). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (Vitamin C) and  $\alpha$ -tocopherol (Vitamin E). *Circulation recherche.* **87**:349.
33. CERIELLO A., BORTOLOTTI N., CRESCENTINI A. (1998). Antioxidant defences are reduced during the oral glucose tolerance test in normal and noninsulin-dependent diabetic subjects. *Eur J Clin Invest.* **28** : 329-333.
34. CERIOLLO A., MOTZ EA. (2004). Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol. May.* **24**(5):816-823.
35. CHAPMAN MJ. (2006). Fibrates therapeutic review. *The British Journal of Diabetes and Vascular Diseases.* **6**:11-20.
36. CHAPMAN MJ., ASSMANN G., FRUCHART J-C., SHEPHERD J., SIRTORI C. (2004). Raising high-density lipoprotein cholesterol with reduction of cardiovascular risk: the role of nicotinic acid – a position paper developed by the European Consensus Panel on HDL-C. *Current Medical Research and Opinion.* **8** :1253-1268.
37. COSTA J., BORGES M., DAVID C., VAZ CARNEIRO A. (2006). Efficacy of lipid lowering drug treatment for diabetic and non-diabetic patients: meta-analysis of randomised trials. *BMJ.* **332**(7550): 1115-1124.
38. COURDEROT-MASUYER C., DALLOZ F., MAUPOIL V. (2000). Antioxidant and oxydative stress. *Nutrition Res.* **13** :535-540.

39. CURTIN JF., DONOVAN M., COTTER TG. (2002). Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Methods*. **265** : 49-72.
40. CZERNICHOW S., COUTHOUIS A., BERTRAIS S. (2006). Antioxidant supplementation does not affect fasting plasma glucose in the Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals (SU.VI.MAX) study in France: association with dietary intake and plasma concentrations. *Am J Clin Nutr*. **84** (2) :395-399.
41. DAVI G., FALCO A., PATRONO C. (2004). Determinants of F2-isoprostane biosynthesis in man. *chem phy Lipids*. **128** (1-2):149-163.
42. DE VRIES R, PERTON FG, DALLINGA-THIE GM, VAN ROON AM. (2005). Plasma cholesteryl ester transfer is a determinant of intima-media thickness in type 2 diabetic and non diabetic subjects:role of CETP and triglycerides. *Diabetes*. **54**(12) : 3554-3559.
43. DRIVSHOLM T., NIELSEN ABS., SIERSMA. (2005). Symptoms, signs and complications in newly diagnosed type 2 diabetic patients, and their relationship to glycaemia, blood pressure and weight. *Diabetologia*. **48** :210–214.
44. EL-SOHEMY A., BAYLIN A., SPIEGELMAN D., ASCHERIO A., CAMPOS H et al. (2002). Dietary and adipose tissue gamma-tocopherol and risk of myocardial infarction. *Epidemiology*. **13** :216-223.
45. ESCHWEGE E. (2005). Diabète de type 2 : l'épidémie mondiale, données françaises. *Officiel Santé*. **29** : 60-62.
46. ESTERBAUER H., STRIEGL G., PUHL H., ROTHENE DER M. (1989). Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Biol Med* .**6**:67-75.
47. EVANS JL., GOLDFINE ID., MADDUX BA., GRODSKYGM. (2003). Are oxidative stress - activated signalling pathways mediators of insulin resistance and b-cell dysfunction? *Diabetes*. **52** :1-8
48. FARAJ M., LU HL., CIANFLONE K. (2004). Diabetes, lipids, and adipocyte secretagogues. *Biochem Cell Biol*. **82** :170–190.
49. FAVIER A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, **13**:341-390.
50. FERRE P. (2005). Tissu adipeux et insulino-résistance. In *Traité de Diabétologie*, coordonnateur Grimaldi A. Médecine Sciences Flammarion. **271**-2764.

51. FERRETTI G., RABINI RA., MAZZANTI L. (2002). "Glycated Low Density Lipoproteins Modify Platelet Properties: A Compositional and Functional Study." *J Clin Endocrinol Metab.* **87** : 2180–2184.
52. FILIPPI C., VON HERRATH M. (2005). How viral infections affect the autoimmune process leading to type 1 diabetes. *Cell Immunol.* **233(2)** :125-132.
53. FONTAINE E. (2002). Production et élimination des radicaux libres oxygénés *.J.diabetologie.***16** :1-4.
54. FONTBONNE A., SIMON D., (2004). Epidémiologie du diabète. In Diabète de type II, coordonné par Grimaldi A. *EMC référence*, Elsevier, Paris : 23-44.
55. FRANCIOSI M., DE BERARDIS G., ROSSI MCE., SACCO M., BELFIGLIO M., PELLEGRINI F. (2005). Use of the diabetes risk score for opportunistic screening of undiagnosed diabetes and impaired glucose tolerance. The IGLOO (Impaired Glucose Tolerance and Long- Term Outcomes Observational) study. *Diabetes Care.* **28 (5)** :1187–1194.
56. FREDRIC F. (2005). De l'obésité au diabète de type 2: épidémiologie et physiopathologie. INSERM U695. Déterminants génétiques du diabète de type 2 et de ses complications vasculaires Facultés de Médecine Xavier Bichat, Paris ,88.
57. FUKUI T., NOMA T., MIZUSHIGE K., AKI Y., KIMURA S., ABE Y. (2000). Dietary troglitazone decreases oxidative stress in early stage type II diabetic rats *.Life Sci.* **66**:2043-2049.
58. FUMERON F., AUBERT R., SIDDIQ A., BETOULLE D., PEAN F., HADJADJ S.(2004). Adiponectin gene polymorphisms and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a three-year period: the D.E.S.I.R. prospective study. *Diabetes.* **53** :1150-1157.
59. FURUKAWA S., FUJITA T., SHIMABUKURA M., WAKI M., YAMADA Y., MAKAJIMA Y., NAKAYAMA O., MAKISHIMA M., MATSUDA M., SHIMURA I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact metabolic syndrome *.J. Clin. Invest.***114 (12)** :1752-1761.
60. GAHAGAN S., SILVERSTEIN (2003). Prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus in children, with special emphasis on American Indian and Alaska Native children. *Pediatrics.* **112** :4.
61. GIAMPAOLI S., PALMIERI L., MATTIELLO A., PANICO S. (2005). Definition of high risk individuals to optimise strategies for primary prevention of cardiovascular diseases. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* **15** : 79-85.

62. GILLERY P. (2006). Stress oxydatif et glycation des protéines au cours du diabète sucré. *Ann Biol Clin* (Paris). **64** :309-314.
63. GOLDSTEIN BJI. (2002). Insulin resistance as the core defect in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. **90**(1) :3-10.
64. GOURDY P., FRANCIS BAYARD., JEAN-FRANÇOIS A. (2005). Oestrogènes et risque cardiovasculaire. *Sang Thrombose Vaisseaux .Mini revue*. **17**(3) :148-154.
65. GREENBERG AS., MC DANIEL ML. (2002). Identifying the links between obesity, insulin resistance and b-cell function: potential role of adipocyte-derived cytokines in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest*. **32** (3) : 24-34.
66. GRIENGLING KK., SORESCU D., USHIO-FUKAI M. (2000). NADPH oxidase: Role in cardiovascular biology and diseases. *Circ Res*. **86** : 494-501.
67. GRUNDY SM. (2004). Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab*. **89** :2595-2600.
68. HALENG J., PINCEMAIL J., DEFRAIGNE JO., CHARLIER C., CHAPELLE JP. (2007). Oxydative stress. *Rev Med Leige*. **62** (10):628-638.
69. HALIMI S. (2003). Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID) .Corpus Médical –Faculté de Médecine de Grenoble. *Alpes Med*. **223** :1-12.
70. HANSEN LL., IKEDA Y., OLSEN GS et al. (1999). Insulin signaling is inhibited by micromolar concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J Biol Chem*. **274** : 25078-25084.
71. HARMANS MP. (2004). Le syndrome métabolique : nouvelle définitions et approches thérapeutiques .*Louvan Med* . **123** :140-149.
72. HARNETT ME., STRATTON RD., BROWNE RW., ROSNER BA., LANHAM RJ., ARMSTRONG D. (2000). Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabete Care*. **23**(2) :234-240.
73. HAVEL RJ. (2000). Remnant lipoproteins as therapeutic targets .*Curr Opin Lipidol*; **11**:615-620.
74. HEPTULLA R., SMITTEN A., TEAGUE B., TAMBORLANE WV., MA YZ., CAPRIO S. (2001). Temporal patterns of circulating leptin levels in lean and obese adolescents: relationships to insulin, growth hormone, and free fatty acids rhythmicity. *J Clin Endocrinol Metab*. **86** :9017-9617.
75. HIGDON JV., FREI B. (2003). Obesity and oxidative stress : a direct link to CVD. *Arteriosclr .Thromb.Vasc. Biol*. **23**:365-367.
76. HOLGREM A. (2003). Redox regulation of genes and cell function. In: Critical review of oxidative stress and aging. Eds. *World Scientific*. **2** : 102-111.

77. JACOTA SK., DAHA HM. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry*. **127**:178-182.
78. JACQUES M, 2005. Manuel pratique de nutrition. L'alimentation préventive et curative. *Editions De Boeck Université*. **2**:8041-4804.
79. JAKUS V., RIETBROCK N. (2004). "Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications." *Physiol Res*. **53** :131-142.
80. JENKINS AJ., BEST JD., KLEIN RL., LYONS TJ. (2004). "Lipoproteins, Glycooxidation and Diabetic Angiopathy." *Diabetes Metab Res Rev*. **20** : 349–368.
81. JOHN S., SCHMIEDER RE. (2003). Potential mechanisms of impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia. *Curr Hypertens Rep*. **5** :199-207.
82. JONES DP., MODY VC., CARLSON JL. (2002). Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses. *Free Rad Biol Med*. **33** :1290-1300.
83. JUUTILAINEN A., LEHTO S., RONNEMAA T., PYORALA K., LAAKSO M. (2005). Type 2 Diabetes as a Coronary Heart Disease Equivalent. Age 18-year prospective population-based study in Finnish subjects. *Diabetes Care*. **28**: 2901-2907.
84. KAHN SE. (2003). The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia*. **46** : 3-19.
85. KANETO H., NAKATANI Y., KAWAMORI D. (2005). Role of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and c-Jun N-terminal kinase in pancreatic beta-cell dysfunction and insulin resistance. *Int J Biochem Cell Biol. Aug*. **37(8)** :1595-1608.
86. KANTERS S.D.J.M., BANGA J.D., ERKELENS D.W. (2001). Lipid-lowering therapy in diabetes mellitus. *The Netherlands journal of medicine*. **58**:214-222.
87. KASSAB-CHEKIR A, LEBANNES N, FERCHICHIL M, FEKI H, BENLIMEN L, CHAEIB A, MILED. (2008). Stress oxydant et risques cardiovasculaire absolu chez des diabétiques de type 2 du centre tunisien. *Ann. Biol. Clin.* **66** (2).
88. KASSAB-CHEKIR A., FERCHICHI S., KERKENI M., HAMMEMI S., HAMMEMI M., LARADI S., MILED A. (2004). Composition en acides gras des esters de cholestérol chez des diabétiques de type 2 tunisiens avec et sans complications cardiovasculaires. *Annales de Biologie Clinique*. **62** (5) :555-562.

89. **KESSLER L. et MOREAU F. (2007).** Stratégie D'exploration Fonctionnelle et de suivi thérapeutique. Conduite à tenir devant une glycémie « limite supérieure » Management of impaired fasting glycaemia. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* . **22** : 156–159
90. **KIM MJ., MAACHI M., CAPEAU JP., BASTARD J. (2006).** Adiponectine et syndrome métabolique Adiponectin and the metabolic syndrome. Elsevier SAS. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. **21** : 1–7.
91. **KOLOVOU GD., ANAGNOSTOPOULOU KK., COKKINOS DV. (2005).** Pathophysiology of dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Postgrad Med*. **81** : 358-366.
92. **KRAUSS RM. (2004).** "Lipids and Lipoproteins in Patients with Type 2 Diabetes." *Diabetes Care*. **27** : 1496–1504.
93. **LARS RYDEN MD., PETER SEVER MD., AJAY GUPTA MD. (2006).** Les déterminants du diabète de diagnostic récent chez les patients hypertendus : Resultats de l'essai ASCOT-BPLA; *diabétologie Clinique* .Université S.a. Ed De Boeck. **2** : -5027--8041.
94. **LAYBUTT DR., PRESTON AM., AKERFELDT MC. (2007).** Endoplasmic reticulum stress contributes to beta-cell apoptosis in type 2 diabetes. *Diabetologia*. **50** : 752-763.
95. **LAZAREVIC G., ANTIC S., CVETKOVIC T., VLAHOVIC P., TASIC I., STEFANOVIC V. (2006).** A physical activity programme and its effects on insulin resistance and oxidative defense in obese male patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & metabolism*, Ed Masson, ISSN 1262-3636. Paris. **32(6)** : 583-590.
96. **LE ROITH D. (2002).** B-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: Role of metabolic and genetic Abnormalities, *Am .J.Med*. **113**:3-11.
97. **LEINONEN J., LEHTIMAKI T., TOYOKUNI S. (1997).** New biomarker evidence of oxidative DNA damage in patients with non- insulin-dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett*. **417** : 150-152.
98. **LEMIEX C., PICARD F., LABRIE F., RICHARD D., DESHAIES Y. (2003).** The estrogen antagonist EM.652 and dehydroepiandro-sterone prevent the metabolic disturbances induced by an obesity-promoting diet and ovariectomy .*Obesity Research*. **11**:477-490.
99. **LEVERVE X. (2004).** Stress oxydant en reanimation: quelle place pour les antioxydants? *Elsevier SAS* : 295-302.

100. LEVINE RL., GARLAND D., OLIVER CN., AMICI A., CLIMENT I., LENZ AG., AHN BW., SHANTIEL S., STADTMAN ER (1990). Determination of carbonyl content in oxydatively modified proteins. *Methods Enzymol* .186:464-478.
101. LIMA VLM., COELHO CBB., KENNEDY JF., OWEN JS., DOLPHIN PJ. (2004)."Lecithin- Cholesterol Acyltransférase (LCAT) as a Plasma Glycoprotein." *Carbohydr Polym*. 55 :179–191.
102. LOUIS M., EMILIE M., CHRISTINE G., FRANÇOISE M., LAETITIA V., JEAN-PAUL C., CLAUDE C. (2006). Comparaison de l'activation du stress oxydant dans les fluctuations glycémiques aliguës et dans l'hyperglycémie Permanente chez les diabétiques de type 2 jama. 295(3) :1681-1687.
103. LUPI R., DEL GUERRA S., MANCARELLA R., NOVELLI M., VALGIMIGLIF L., PEDULLI GF., PAOLINI M. (2007). Insulin secretion defects of human type 2 diabetic islets are corrected in vitro by a new reactive oxygen species scavenger *Diabetes & Metabolism*. Elsevier Masson. 33: 340–345.
104. MARÇAIS C., VERGÉS B., CHARRIÈRE S., PRUNETA V., MERLIN M., BILLON S., PERROT L., DRAI J., SASSOLAS A., PENNACCHIO L. A., FRUCHART-NAJIB J., FRUCHART J. C., DURLACH V., MOULIN P. (2005). "Apoa5 Q139x Truncation Predisposes to Late-Onset Hyperchylomicronemia Due to Lipoprotein Lipase Impairment." *J Clin Invest*. 115(10) : 2862–2869.
105. MARIE F et JANNOT L. (2007).Nutrition –Endocrinologie Maladies Métaboliques .Association Marseille- Diabète; 12 :55-66.
106. MAXWELL SR, THOMASON H, SANDLER D. (1997). Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest*. 27 : 484-490
107. MAYNE ST. (2003). Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research..*J.Nutr*.133 :933S-940S.
108. MCENENY J., O'KANE MJ., YOUNG IS. (2000). "Very Low Density Lipoprotein Subfractions in Type II Diabetes Mellitus: Alterations in Composition and Susceptibility to Oxidation." *Diabetologia*. 43 : 485-493.
109. MERO N., MALMSTROMÖM R., STEINER G., TASKINEN M.R., SYVÄNME M. (2000).Postprandial metabolism of apolipoprotein B-48 and B-100-containing particles in type 2 diabetes mellitus: relation to angiographically verified serverity of coronary artery disease .*Atherosclerosis*. 150:167-177.

110. MERZOUK S., HICHAMI A., SARI A., MADANI S., MERZOUK H., YAHIA BERROUIGUET A., LENOIR-ROUSSEAUX JJ., CHABANE SARI N., KHAN NA. (2004). Impaired Oxidant/antioxidant status and LDL-Fatty Acid Composition Are Associated with Increased Susceptibility to peroxidation of LDL in Diabetic Patient. *Gen. Physiol. Biophys.* **23**:387-399.
111. MOHORA M., VIRGOLICI B., PAVELIU F., LIXANDRU D., MUSCUREL C., GEABU M. (2003). Free radical activity in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* . **18**(2) : 79-85.
112. MONNIER L., COLETTE C., BOEGNER C., PHAM TC., LAPINSKI H., BONIFACE H. (2007). Continuous glucose monitoring in patients with type 2 diabetes: Why? When? Whom? *Diabetes & Metabolism*. **33** : 247-252.
113. MONTONEN J., KNEKT P., JARVIEN R., REUNANEN A. (2004). Dietary antioxidant intake and risk of diabetes de type II. *Diabetes Care*. Feb; **27**(2) :362-366.
114. MORROW JD. (2003). Is oxidant stress a connection between obesity and atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc. Biol.* **23**(3) :368-370.
115. MOTTA M., BENNATI E., FERLITO L., PASSAMONTE M., MALAGUARNERA M. (2006). Value and significance of new diagnostic criteria of diabetes mellitus in older people *Arch. Gerontol. Geriatr.* **1**(632) : 6.
116. NEGRE-SALVAYRE A, SALVAYRE R. (2003). Aspects cellulaires et mécanismes de l'apoptose dans l'athérosclérose. *Eds Masson* : 313-332.
117. NEILL S., DESIKAN R., HANCOCK J. (2002). Hydrogen peroxide signalling. *Curr Opin Plant Biol.* **5**: 388-395.
118. NICHOLSON JP., WOLMARANS MR., PARK GR . (2002). The role of albumin in critical illness. *Br J Anaesth* . **85** : 599-610.
119. NORRIS S. (2005). «La Diabésité » : L'Epidemie du XXI<sup>e</sup> Siècle *.Division des Sciences et de la technologie* : 3-5.
120. NOUROOZ-ZADEH J., TAJADDINI-SARMADI J., LING KLE., WOLFF SP. (1996). Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxydes in plasma *.Biochem.J.* **313**:781-786.
121. OWUOR ED., KONG AN. (2002). Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol.* **1** (64) :765-770.
122. PAOLISSO G., D'AMORE A., VOLPE C. (1994). Evidence for a relationship between oxidative stress and insulin action in non-insulin-dependent (type II) diabetic patients. *Metabolism*. **43** : 1426-1429.

123. PARIS M., BERNAD-KARGAR C., BERTHAULT MF., BOUWENS., KTORZA. (2003). Specific and combined effects of insulin and glucose on functional pancreatic B cell .*Endocrinology*. **144**(6):2727.
124. PATEL RP., MOELLERING D., MURPHY-ULLRICH J., JO H., BECKMAN JS., DARLEY-USMAR VM. (2000). Cell signaling by reactive nitrogen and oxygen species in atherosclerosis. *Free Radic Biol Med*. **28** : 1780-1794.
125. PETERSEN KF., ORAL EA., DUFOUR S.(2002). Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest*. **109** :1345-1350.
126. PI-SUNYER FX. (2004). Pathophysiology and long-term management of the metabolic syndrome. *Obesity Research* .**12** : 174-80.
127. PLADEVAL M., WILLIAMS KL., POTTS LA. (2004). Clinical outcomes and adherence to medications measured by claims data in patients with diabetes. *Diabetes Care*. **27** :2800-2805.
128. PRUNETA-DELOCHE V., MARÇAIS C., PERROT L., SASSOLAS A., DELAY M., ESTOUR B., LAGARDE M., MOULIN P. (2005). "Combination of Circulating Antilipoprotein Lipase (Anti-LPL) Antibody and Heterozygous S172 Fsx179 Mutation of LPL Gene Leading to Chronic Hyperchylomicronemia." *J Clin Endocrinol Metab*. **90** : 3995–3998.
129. QUINTAO E.C.R., MEDINA W.L., PASSARELLI M. (2000). Reverse cholesterol transport in diabetes mellitus .*Diabetes Meta Res Rev*. **16** :237-250.
130. RAHIER J., GUIOT Y., SEMPOUX C. (2004). Diabète de type 2 et déficit des cellules B. In : Selam JL, ed. Journées annuelles de diabétologie de l'Hôtel-Dieu. Paris : Flammarion Médecine-Sciences: 15-20.
131. RAMAZAN-SEKEROGLU M., SAHIN H., DULGER H., ALGUN E. (2000). The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation ,superoxide dismutase ,gluthathion peroxidase and serum lipid peroxidation in patients with type IIdiabetes mellitus .*Clin Biochem* . **33**:669-674.
132. REHMAN A., NOUROOZ-ZADEH J., MOLLER W. (1999). Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *FEBS Lett*. **448** : 120-122.

133. RISSANEN TH., VOUTILINEN S., NYSSONEM K., SALONEN R., KAPLAN GA., SALONEN JT. (2003). Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Clin Nutr.* **77** :133-138.
134. RIZZO M., BERNEIS K. (2007). "Small, Dense Low-Density-Lipoproteins and the Metabolic Syndrome." *Diabetes Metab Res Rev.* **23** :14–20.
135. ROBERTSON RP. (2004). Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet  $\beta$ -cells in diabetes. *J Biol Chem.* **279**: 42351-42354.
136. ROTHFUSS A., SPEIT G. (2002). Investigations on the mechanism of hyperbaric oxygen (HBO)-induced adaptive protection against oxidative stress. *Mutat Res.* **508** : 157-65.
137. RUDICH A., TIROSH A., POTASHNIK R. (1999). Lipoic acid protects against oxidative stress induced impairment in insulin stimulation of protein kinase B and glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia.* **42** : 949-957.
138. RUTTEN G, NIJPELS G., GOUDSWAARD AN., HEINE RJ., BOUMA M. (2006). NHG-Standaard Diabetes mellitus type 2. *Huisarts Wet.* **49** : 137-152.
139. SALAVAYRE R., AUGE N., NEGRE-SALAVAYRE A. (2003). Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. Eds. *L'athérosclérose.* Paris : Masson : 269-290.
140. SANTAMARIA-FOJI S., GONZALEZ-NAVARRO H., FREEMAN L., WAGNER E., NONG Z. (2004). "Hepatic Lipase, Lipoprotein Metabolism, and Atherogenesis." *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **24**:1750-1754.
141. SCHEEN AJ. (2003). Current management of coexisting obesity and type 2 diabetes. *Drugs.* **63** : 1165-1184.
142. SCHEES AJ., RADERMECKER R., DE FLINES J., DUCOBU J. (2007). Actualités thérapeutiques en lipidologie. *Revue Médicale de Liège.* **62** : 5-6 :324-328.
143. SCHNEIDER JG., EYNATTEN M., SCHIEKOFER S., NAWROTH PP., DUGI KA. (2005). Low plasma adiponectin levels are associated with increased hepatic lipase activity *in vivo*. *Diabetes Care.* **28** :2181–2186.
144. SCHULZ E., ANTER E., KEANEY JP. (2004). Oxidative stress, antioxidants, and endothelial function. *Curr Med Chem.* **11** : 1093-1094.

145. SEPA A, WAHLBERGJ, VAARALA O, FRODI A, LUDVIGSSON J. (2005). Psychological stress may induce diabetes-related autoimmunity in infancy. *Diabetes Care*. **28(2)** :290-295.
146. SHEPHERD J. (2005). Raising HDL-cholesterol and lowering CHD Risk: does intervention work? *European Heart Journal*. **7** : 15-22.
147. SHULMAN G.I. (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance, *J Clin Invest*. **106**:171-176.
148. SIMON D., FAGOT-CAMPAGNA A., ESCHWEGE E., BALKAU B. (2005). Diabète : définition, dépistage et épidémiologie. In *Traité de Diabétologie*, coordonnateur Grimaldi A. *Médecine-Sciences Flammarion* : 3-21.
149. SOCQUARD E., DURLACH A., CLAVEL C., NAZEYROLLAS P., DURLACH V. (2007). Association of Hind III and Pvu II genetic polymorphisms of lipoprotéin lipase with lipid metabolism and cardiovascular events in type 2 diabetic patients. Ed Elsevier Masson. **32 (3)** : 262-269.
150. SREENAN S., STURIS J., PUGH W. (1996) .Prevention of hyperglycemia in the Zucker diabetic fatty rats by treatment with metformin or troglitazone *Am.J.Physiol*. **271** :742-747.
151. SUZUKI K., ITO Y., OCHAILA J., KUSUHARA Y., HASHIMOTO S., TOKUDOME S., KOJIMA M., WAKAI K., TOYOSHIMA H., TAMAKOSHI K., WATANABE Y., HAYAKAWA N., MARUTA M., WATANABE M., KATO K., PHTA Y., TAMAKOSHI A. (2003). Relationship between obesity and serum of oxidative stress and inflammation in japenese. *Asian Pac J cancer Prev*. **4(3)** :295-266.
152. TESSIER DM., KHALIL A., TROTTIER L .(2007). Effects of vitamin C supplementation on antioxidants and lipid peroxidation markers in elderly subjects with type 2diabetes.*Ed Elsevier*. **5(3)**:35-66.
153. TONG J.C, MYERS M.A., MACKAY I.R., ZIMMET P.Z., ROWLEY M.J. (2002). The PEVKEK region of the pyridoxal phosphate binding domain of GAD65 expresses a dominant B cell epitope for type 1 diabetes sera. *Ann N Y Acad Sci*. **958** :182-189.
154. TOURNANT F., HEURTIER A., BOSQUET F., GRIMALDI A. (2004). Classification du diabète sucré critères diagnostiques et dépistage. In *Diabète de type II*, coordonné par Grimaldi A. *EMC référence*, Elsevier, Paris : 45-82.

155. TRAYHURN P., WOOD IS. (2004) .Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr.* **92** :347–355.
156. TUBIANA-RUFI N. (2007). Augmentation de l'incidence du diabète de type 2 dans une large cohorte pédiatrique française, 2001-2003. *BEH* : 44-45.
157. URAKAWA H., KATSUKI A., SUMIDA Y., GABAZZA EC., MURASHIMA S., MARIOKA K., MARUYAMA N., KITAGAWA N., TANAKA T., HORI Y., NAKATANI K., YANO Y., ADACHI Y. (2003). Oxidative stress in associated with diposity and insulin resistance in men *J Clin Endocrinol Metab.* **88(10)**:4673-4676.
158. VALABHJI J., MC COLL A.J., RICHMOND W. (2001).Total Antioxidant Status and Coronary Artery Calcification in type 1Diabetes. *Diabetes Care.* **24** :1608-1613.
159. VANCE DE., VANCE JE. (2002)."Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes." *Elsevier.* **2** :22.
160. VERGÉS B. (2001). Insulinosensibilité et lipides, *Diabetes Metab.***27** :233-227.
161. VERGÉS B. (2006). Fenofibrate therapy and cardiovascular protection in diabetes: recommendations after FIELD. *Current Opinion in Lipidologie.* **17** :653-658.
162. VERGÉS B. (2007). Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutrition Clinique et Métabolisme.***21 (1)** : 9-16.
163. VERICEL E., JANUEL C., CARRERAS M., MOULIN P., LAGARDE M. (2004). "Diabetic Patients without Vascular Complications Display Enhanced Basal Platelet Activation and Decreased Antioxidant Status." *Diabetes.* **53** : 1046–1051.
164. VETTOR R., MILAN G., ROSSATO M., FEDERSPIL G. (2005). Review article: adipocytokines and insulin resistance. *Aliment Pharmacol Ther.* **22(2)** :3 -10.
165. VIJAYALINGAM S., PARTHIBAN A., SHANMUGASUNDARAM KR., MOHAN V. (1996).Abnormal antioxidant status in impaired glucose tolerance and noninsulin- dependent diabetes mellitus. *Diabet Med.* **13** : 715-719.
166. VIOLI F., CANGEMI R. (2005). Antioxidants and cardiovascular disease. *Curr Opin.Investig Drugs.***6** :895-900.
167. VIRALLY M., BLICKLE J.F., GERALD J., MALIMI S., SIMON D., GUILLAUSSEAU P. (2007) .Type 2 diabetes mellitus :epidemiology ,pathophysiologie ,unmet needs and therapeutical perspectives ,*Diabetes Metab* .**33**:231-244.
168. VON ECKARDSTEIN A., NOFER J., ASSMAN R. (2001). Hight density Lipoproteins Arthériosclérosis .Role of cholesterol flux and reserve cholesterol Transport –Arterioscler. *Throm.Vasc.Biol.* **21** :13.

169. WASSMANN S., WASSMANN K., NICKENUNG G. (2004). Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*. **44** : 381-386.
170. WATALA C., BONCLER M., GRESNER P. (2005). "Blood Platelet Abnormalities and Pharmacological Modulation of Platelet Reactivity in Patients with Diabetes Mellitus." *Pharmacol Rep*. **57** : 42-58.
171. WILD S., ROGLIC G., GREEN A., SICREE R., KING H. (2004). Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabète Care*. **27**:1047-1053.
172. WILL JC., BYERS T. (1996). Does diabetes mellitus increase the requirement for vitamin A, C and E. *New Rev*. **54**:193-202.
173. WOLD LE., CEYLAN-ISIK AF., REN J. (2005). Oxidative stress and stress signaling: menace of diabetic cardiomyopathy *Acta Pharmacol Sin*. **26**:908-917.
174. WONG VSC., BRUBAKER PL. (2006). From cradle to grave: pancreatic  $\beta$ -cell mass and glucagons-like peptide-1. *Minerva Endocrinol*. **31**: 107-124.
175. YOUNG I. S., MCFARLANE C., MCENENY J. (2003). "Oxidative Modification of Triacylglycerol-Rich Lipoproteins." *Biochemical Society Transactions*. **31(5)** :1062-1065.
176. ZAOUI S., BIÉMONT C., MEGUENNI K. (2007). Approche épidémiologique du diabète en milieux urbain et rural dans la région de Tlemcen (Ouest algérien). *Cahier d'étude et de recherche francophones /Santé*. **17 (1)** :15-21.

## ANNEXES

**1-Dosage de glucose (KIT PROCHIMA)**

Réactif 1: étalon de glucose à 1g/l

Réactif 2: solution phénolique

Réactif 3: enzyme +amino-4-antipyrine+tampon phosphate 0.1M.

Solution de travail: dans une fiole de 500ml, verser le contenu du réactif 3, ajouter le contenu du flacon 2, rincer le du flacon 2, compléter à 500ml avec de l'eau distillée . La Solution de travail est stable 1 mois à +4<sup>0</sup> c.

Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Dosage
Solution de travail	2ml	2ml	2ml
Réactif 1	-	20µl	-
Sérum	-	-	20µl

Mélanger, attendre 20minutes à température ambiante, lire la densité optique de l'étalon (DOE) et du dosage (DOD) à une longueur d'onde : 505nm

Calcul : Concentration (glucose) g/l = (DO échantillon / DO étalon) × 1g/l

**2-Dosage de la créatinine (Méthode colorimétrique avec déprotéinisation par méthode de JAFFE)**

Réactif 1: étalon créatinine

Réactif 2: d'acide trichloroacétique dilué

Réactif 3: Réactif alcalin

Réactif 4: Réactif à l'acide picrique

Mode opératoire :

Echantillon : sérum recueilli sur sang héparine

Préparation de l'échantillon : induire dans un tube à centrifuger

1. 1ml sérum
2. 1mlde réactif 2

	Blanc	Etalon	Dosage
Eau distillée	500µl	500µl	-
Réactif 1	-	500µl	-
Réactif 1	500µl	-	-
Déféquat	-	-	1000µl
Réactif 1	500µl	500µl	500µl
Réactif 1	500µl	500µl	500µl

Mélanger, lire la DO après 20 minutes à une longueur d'onde : 520nm

Calcul: Taux de créatinine en mg/l = (DO échantillon / DO étalon) × 20

### 3-Dosage de l'urée (KIT PROCHIMA)

Réactifs:

Réactif1: Tompon

Réactif2: EDTA

Salicylate de sodium

Nitroprussiate de sodium

Uréase

Phosphate PH=6,7

Réactif3: Etalon urée

Réactif4: Hypochlorite de sodium

Hydroxyde de sodium

Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon	-	10µl	-
Echantillon	-	-	10µl
Réactif	1ml	1ml	1ml

Mélanger, incuber 10min à 20-25°C. Ajouter ensuite.

Réactif4	1ml	1ml	1ml
----------	-----	-----	-----

Mélanger, incuber 10min à 20-25°C. Ajouter ensuite.

Lire l'absorbance de l'échantillon et de l'étalon contre le blanc à 590nm.

Calcul: Concentration en urée mg/dl = (DO échantillon / DO étalon) × 0,5mg/dl.

### 4-Dosage d'acide urique (KIT PROCHIMA)

Réactifs:

Réactif1: Réactif de protéinisation

Réactif2: Réactif étalon d'acide urique à 100mg/l

Réactif3: Réactif carbonate

Réactif4: Réactif phosphotungstique

Mode opératoire :

Sérum frais non hémolysé	1ml
Réactif 1	1ml

Mélanger puis centrifuger pendant 10mn.

## Réaction colorée

	Blanc	Étalon	Dosage
Défécât lipide	-	-	1ml
Réactif2	-	1ml	-
Eau distillée	1ml	-	-
Réactif3	3ml	3ml	3ml
Réactif4	0,15ml	0,15ml	0,15ml

Agiter, après 10min, procéder à la lecture au photomètre.

Lecture : longueur d'onde : 620nm.

Calcul: Concentration en acide urique mg/l = (DO échantillon / DO étalon) × 100mg/l.

**5-Dosage de protéines totales (KIT PROCHIMA)**

Réactifs:

Réactif Biuret

Réactif Blanc

Étalon

Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Dosage
Eau distillée	0.02ml	-	-
étalon	-	0.02ml	-
Sérum ou plasma	-	-	0.02ml
Solution 1	1ml	1ml	1ml

Mélanger, incuber pendant 30 minutes entre (20 et 25°C).

Mesuré l'absorbance de l'échantillon et de l'étalon contre le blanc réactif à 620nm.

Calcul: Concentration en protéines totales g/l = (DO échantillon / DO étalon) × 60mg/dl.

**6-Les solutions nécessaires pour la préparation des lipoprotéines :**

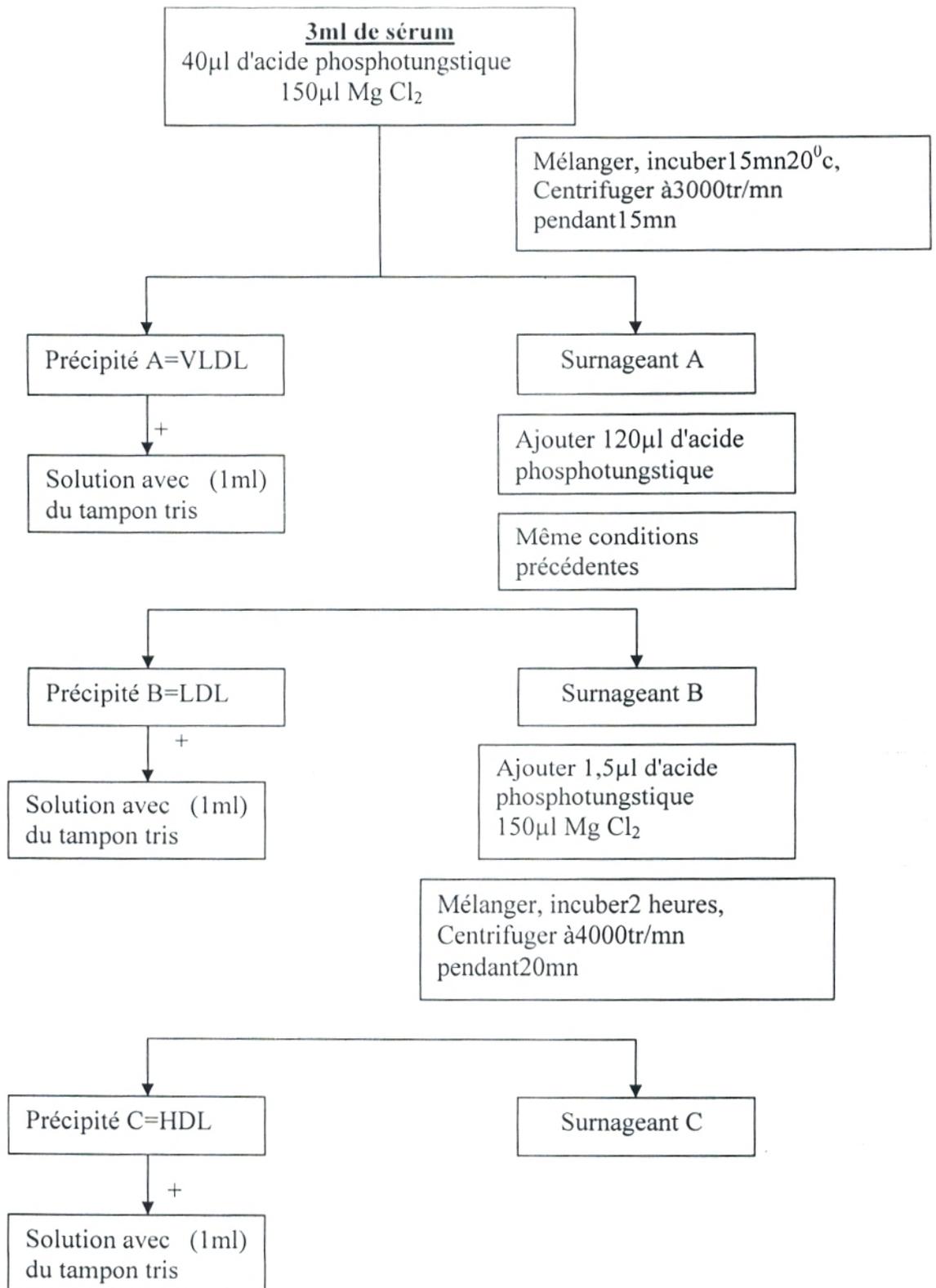
1-Na OH 1N: 4g Na OH dans 100ml d'H<sub>2</sub>O.

2- Acide phosphotungstique: 4g d'acide phosphotungstique+16ml Na OH (1N)+50ml d'eau distillé, PH= 7,6.compléter à100ml

3-Mg Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>M: 40,66g dans 100ml d'eau distillé

4-Solution de solubilisation, citrate trisodique: 3,83g dans 100ml d'eau distillé (tampon tris), PH=7,6.

### 6.1-Méthode utilisée dans séparation des différentes fractions de lipoprotéines par précipitation (Burstein et al., 1970)



**7-Dosage de cholestérol (KIT PROCHIMA)**

Réactifs:

Réactif cholestérol prêt à l'emploi .Stocké entre +2 et+8<sup>0</sup>c.

Étalon : 200mg/dl (2,29mmol/l).

Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Dosage
Echantillon	-	-	10µl
étalon	-	10µl	-
Réactifs	1000µl	1000µl	1000µl

Mélanger, incuber10min à 37<sup>0</sup>c.

Lire l'absorbance de l'échantillon contre le blanc réactif dans les 60nm.

Calcul: Concentration en triglycéride g/l = (DO échantillon / DO étalon) × 200mg/l.

**8-Dosage des triglycérides (KIT PROCHIMA)**

Réactifs:

Étalon : 200mg/dl (2,29mmol/l).

Réactif triglycérides:prêt à l'emploi .Stocké entre +2 et+8<sup>0</sup>c.

Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Dosage
Echantillon	-	-	10µl
étalon	-	10µl	-
Réactifs	1000µl	1000µl	1000µl

Mélanger, incuber5min à 37<sup>0</sup>c.

Lire l'absorbance de l'échantillon contre le blanc réactif dans les 60nm.

Calcul: Concentration en triglycéride g/l = (DO échantillon / DO étalon) × 200mg/l.

**9-Dosage des apoprotéines A1 et B100 (KIT SIGMA)****9.1-Dosage d'apoprotéine A1****Réactifs utilisée**

Etalon d'apoprotéine A1

Antiserum d'apoprotéine A1

Diluant Antiserum

**Préparation de la solution de travail**

15ml de diluant Antisérum +1ml anticorps (apoA1)

**Mode opératoire**

	Blanc	Etalon	Echantillon (dilué1/20)
étalon	-	50µl	-
Echantillon	-	-	50µl
Solution de travail	2ml	2ml	2ml

Mélanger, incuber 5min à 35<sup>0</sup>c.

Lire l'absorbance à 340nm.

## 9.2-Dosage d'apoprotéine B100

### Réactifs utilisée

Etalon d'apoprotéine B100.

Antiserum apoprotéine B100.

Diluant Antiserum

### Préparation de la solution de travail

12ml de diluant Antisérum +0,5ml anticorps (B-100)

Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon (dilué1/20)
étalon	-	100µl	-
Echantillon	-	-	100µl
Solution de travail	1,2ml	1,2ml	1,2ml

Mélanger, incuber 5min à 35<sup>0</sup>c.

Lire l'absorbance à 340nm.

## 10-Dosage du malondialdéhyde (Méthode de NOROOZ-ZADEH et al. (1996)

### Solutions préparées :

A/ TBA à 0,67% :

0,67 g TBA +100ml d'eau distillée

B/ TCA à 20% :

20g de TCA+ 100ml d'eau distillée

### Mode opératoire

#### Dans un tube à essai on introduit:

- 100µl de plasma /lysa +1ml de TBA à 0,67% + 500µl TCA à 20% .
- Vortex, incubation 20nm à 100<sup>0</sup>C.
- Refroidir, centrifuger à 5000tr/mn pendant 10nm.

- Prélever le surnageant qui contient le malondialdéhyde.
- La lecture se fait au spectrophotomètre à 532nm, contre le blanc qui est l'eau distillée.

Le calcul de la concentration du MDA:

Le calcul se fait grâce au coefficient d'extinction du MDA

$E = 1,56 \times 10^5 \text{ l.cm}^{-1}$  selon la formule suivante :

$$[\text{MDA}]_{\text{échantillon}} = \text{DO}/E.L$$

OÙ

**L : longueur de la cuve qui est égale à 1cm**

**DO : Densité optique de l'échantillon à 532nm.**

### 11-Dosage des hydroperoxydes plasmatiques et érythrocytaire (Méthode de NOROOZ-ZADEH et al. (1996)

#### Réactifs nécessaires:

- Sulfate d'ammonium ferrique.
- Méthanol.
- Xylenol orange.
- Peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) à 30%.
- Acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

#### Solutions préparées :

Réactif de Fox

Dans une fiole de 250ml, dissoudre 9,8g de Sulfate d'ammonium ferrique dans 10ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

- Ajouter 80ml de méthanol.
- Agiter doucement et régulièrement afin d'obtenir un mélange
- Ensuite ajouter 7,6g de xylenol orange et bien mélanger la solution obtenue

#### Mode opératoire

- Tube blanc : 90ml d' d'eau distillée +10ml de méthanol.
- Tube test: 90ml de plasma /lysa +10ml de méthanol.
- Vortex, incuber 30nm à température ambiante
- Ajouter 900ml de réactif de fox.
- Vortex, incuber pendant 30nm.
- Centrifuger à 6000 trs/mn pendant 10mn.
- Lire la DO du surnageant à 560nm

- Calculer la différence :  $DO_{\text{test}} - DO_{\text{blanc}} = DO$ .
- $[HP] = DO/\varepsilon$   $\varepsilon = 4,4.10^4$

## 12-Oxydation *in vitro* des lipoprotéines plasmatiques (ESTERBAUER et al., 1989)

### Solutions préparées :

A/ l'eau physiologique :

9g de chlorure de sodium (NaCl) ;

1 litre d'eau distillée

B/Solution de CuSO<sub>4</sub> :

0,016g CuSO<sub>4</sub> ;

1 litre d'eau distillée

### Mode opératoire

Dans un tube à essai, on introduit :

- 10µl de plasma;
- 300µl de CuSO<sub>4</sub> à 100µM;
- 2ml 960µl d'eau physiologique;
- Vortex, lire directement la DO à 234nm qui désigne le début de la formation des diènes conjugués ;
- Incuber 6 heures en lisant la DO à 234nm au spectrophotomètre d'ultraviolet et à l'aide d'une cuve en quartz, toutes les 10mn;
- La lecture s'arrêtera lorsqu'on obtient une DO maximale qui correspond à l'oxydation totale, *in vitro*, des lipoprotéines plasmatiques une courbe cinétique est alors obtenue.

## 13-Dosage des protéines carbonylées (Méthode de LEVINE et al. (1990)

### Réactifs nécessaires:

- Hcl: 2 mmol/l
- TCA (acide trichloroacétique): 500g/l.
- TCA 100g/l.
- Ethanol/ethylacetate
- Réactif DNPH (Dinitrophenylhydrazine )
- NaOH 2M

### Mode opératoire

- Préparer un blanc et les échantillons
- Blanc : 50µl de plasma +1ml de HCl 2mol/l
- Test: 50µl de plasma +1ml de réactif DNPH

- Vortex, incuber 1h à température ambiante
- Ajouter par la suite à chaque tube : 200 $\mu$ l TCA (500g/l)  $\longrightarrow$  Précipitation des protéines
- Centrifuger, jeter le surnageant
- Le culot est en suite solubilisé dans 2ml de NaOH 2M
- Lire les DO à 350, 360 et 375nm.
- Calculer la différence :  $DO_{\text{test}} - DO_{\text{blanc}} = DO$ .
- $[PC] = DO/\epsilon$  (mmol/l) ,  $\epsilon = 21,5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

#### 14-Dosage de la vitamine C (Méthode de JACOTA et al. (1982))

Solution préparer :

- TCA (acide trichloroacétique): 10%.
- Folin diluée au 1/10.
- Gamme acide ascorbique :
- Solution mère (SM) : 100mg/l  $\longrightarrow$  soit 10 $\mu$ g/ml
- S<sub>1</sub>: 1ml SM +9ml H<sub>2</sub>O  $\longrightarrow$  10 $\mu$ g/ml
- S<sub>2</sub>: 2ml S<sub>1</sub> +2ml H<sub>2</sub>O  $\longrightarrow$  5 $\mu$ g/ml
- S<sub>3</sub>: 1ml S<sub>2</sub> +1ml H<sub>2</sub>O  $\longrightarrow$  2,5 $\mu$ g/ml

#### Mode opératoire

- 1ml plasma + 0,5ml TCA  $\longrightarrow$  Vortex
- Placer le tube dans un bain à glace pendant 30min
- Centrifuger 10min à 3000t/min
- Prélever 0,75 ml du surnageant dans un tube sec
- Ajouter 0,75ml H<sub>2</sub>O distillée vortex
- Ajouter 150 $\mu$ l Folin .Vortex
- Incuber 37<sup>0</sup>C/15min
- Lire la DO à 769nm
- Pour la gamme : 0,75 ml+0,75 ml H<sub>2</sub>O D +15l Folin
- Incuber et lire à 760nm

#### 15-Evaluation de l'activité de la catalase (AEBI ,1974).

Solutions préparées:

- Solution d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 30mmol/l
- Réactif TISO<sub>4</sub> (Titamium oxyde sulfate)

- Faire bouillir pendant 10mn en couvrant l'erien, laisser reposer une nuit, puis le filtrer (filtre whatman) et le conserver à l'abri de la lumière à température ambiante.

### Mode opératoire

Pour le blanc dans un tube sec on introduit:

1,5 ml d'eau physiologique +500 $\mu$ l de TISO<sub>4</sub>

Pour le plasma dans un tube sec, introduire :

- 500 $\mu$ l de sérum
- 500 $\mu$ l de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- 500 $\mu$ l d'eau physiologique
- Agiter puis incuber 5mn
- Ajouter 500 $\mu$ l de TISO<sub>4</sub>
- Lire la DO à 420nm contre le blanc

Pour le lysat, chaque lysat d'échantillon est dilué à 1/50.

### Gamme d'étalon

	0,5 mM	1 mM	1,5 mM	2 mM	2,5 mM
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> à 30 mM	50	100	150	200	1000
Eau physiologique (ml)	2,95	2,90	1,85	1,80	2
Réactif TISO <sub>4</sub> (ml)	1	1	1	1	1

### Calcul de l'activité de la catalase

On trace la courbe de la gamme d'étalon : DO=F (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), on obtient une droite d'où on va projeter les DO des échantillons pour voir les concentrations d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> restantes.

Le calcul de l'activité de la catalase se fait suivant cette méthode:

$$A = \log [ ] \text{ de départ} - \log [ ] \text{ restante}$$

$$= \log 10 - \log [H_2O_2]$$

Volume de l'incubation = 1,5; Dilution 1/3 pour l'obtention du lysat, puis 1/50; Volume de l'échantillon = 500 $\mu$ l (0,5ml); Temps de l'incubation = 5mn;

La formule est donc :

$$\text{Activité de la catalase plasmatique} = A \times 1,5 / 0,5 / 5 \text{ min/ml}$$

$$\text{Activité de la catalase érythrocytaire} = A \times 1,5 \times 150 / 0,5 / 5 \text{ (U/min/ml)}$$

## 16-Dosage du pouvoir antioxydant total (ORAC)

### Solutions préparées

Solution de  $CuSO_4$  (2mM)

Solution d' $H_2O_2$  à 30mmol/l

Solution d'acide ascorbique à 91g/l

### Mode opératoire

Prélever 5ml de sang sur tube avec anticoagulant

- Centrifuger 3000trs/min pendant 10mn
- Jeter le surnageant, récupérer le culot (globules rouges)
- Laver le culot avec l'eau physiologique à pH=7,4
- Mélanger doucement à fin d'éviter l'hémolyse
- Centrifuger 2000trs/min
- Jeter le surnageant
- Prélever 1ml de globules rouges

#### Préparation du blanc:

- Dans un tube sec, on introduits 1ml de globules rouges +2ml d' $H_2O_2$  physiologique
- Ajouter 20 $\mu$ l de  $CuSO_4$  (2mM) ensuite 20 $\mu$ l d' $H_2O_2$  à 30%
- Mélanger doucement
- Incuber 5mn à température ambiante
- Centrifuger 2000trs/min pendant 5mn
- Lire la DO du surnageant à 450nm
- Remettre le surnageant dans le tube du départ
- Mélanger légèrement
- Incuber 15mn
- La centrifugation et la lecture se font toutes les 15mn à 5mn, 20mn, 35mn, 50mn, 65mn, et 80mn.

#### Préparation de l'étalon:

- Dans un tube sec, on introduits 1ml de globules rouges +2ml d' $H_2O_2$  physiologique
- Ajouter 20 $\mu$ l de  $CuSO_4$  (2mM) ensuite 20 $\mu$ l d' $H_2O_2$  à 30%+20 $\mu$ l d'acide ascorbique
- Mélanger doucement
- Incuber 5mn à température ambiante
- Centrifuger 2000trs/min pendant 5mn
- Lire la DO du surnageant à 450nm

- Remettre le surnageant dans le tube du départ
- Mélanger légèrement
- Incuber 15mn
- La centrifugation et la lecture se font toutes les 15mn à 5mn, 20mn, 35mn, 50mn, 65mn, et80mn.

**Préparation de l'échantillon:**

- Dans un tube sec, on introduits 1ml de globules rouges +2ml d' $H_2O_2$  physiologique
- Ajouter 20 $\mu$ l de  $C_uSO_4$  + 20 $\mu$ l d' $H_2O_2$  à 30%+20 $\mu$ l de sérum
- Mélanger doucement
- Incuber 5mn à température ambiante
- Centrifuger 2000trs/min pendant 5mn
- Lire la DO du surnageant à 450nm
- Remettre le surnageant dans le tube du départ
- Mélanger légèrement
- Incuber 15mn
- La centrifugation et la lecture se font toutes les 15mn à 5mn, 20mn, 35mn, 50mn, 65mn, et80mn.

## TABLEAUX

**Tableau IV :** Teneurs sériques en glucose chez les témoins et chez les diabétiques obèses (DNID obèses) en fonction de sexes

	Population		Femmes		Hommes	
	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses
<b>Glucose (g/l)</b>	0,88 ± 0,15	1,63±0,32 ***	0,87± 0,15	1,49±0,24***	0,89± 0,14	1,83±0,31 ***\$

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne ± erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \*p< 0.05, \*\*p< 0.01, \*\*\*p< 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$p< 0.05, \$\$p< 0.01, \$\$\$p< 0.001

**Tableau V :** Teneurs en urée, créatinine et acide urique chez les témoins et les diabétiques obèses (DNID obèses) en fonction de sexes

	Population		Femmes		Hommes	
	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses
<b>Urée (g/l)</b>	0,26±0,08	0,26±0,05	0,23±0,07	0,28±0,06	0,28±0,06	0,26±0,03
<b>Créatinine (mg/l)</b>	8,49±0,82	8,30±0,97	8,48±0,89	8,30±1,12	8,51±0,76	8,30±0,79
<b>Acide urique (mg/l)</b>	41,03±4,05	38,42±4,26	38,32±1,88	36,78±3,45	44,79±3,12	42,24±3,62

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne ± erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \*p< 0.05, \*\*p< 0.01, \*\*\*p< 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$p< 0.05, \$\$p< 0.01, \$\$\$p< 0.001

**Tableau VI :** Teneurs en triglycérides du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et les diabétiques obèses en fonction de sexes.

	Population		Femmes		Hommes	
	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses
<b>TG VLDL</b> (g/l)	0,37±0,11	0,85±0,16 <sup>***</sup>	0,37±0,15	1,07±0,21 <sup>***</sup>	0,38±0,07	0,62±0,02 <sup>*\$</sup>
<b>TG LDL</b> (g/l)	0,27±0,20	0,94±0,31 <sup>***</sup>	0,47±0,17	1,16±0,24 <sup>***</sup>	0,17±0,15	0,72±0,22 <sup>****\$</sup>
<b>TG HDL</b> (g/l)	0,49±0,11	0,89±0,07 <sup>***</sup>	0,46±0,03	0,89±0,04 <sup>***</sup>	0,52±0,15	0,9±0,10 <sup>***</sup>
<b>TG sérum</b> (g/l)	1,71±0,37	2,28±0,34 <sup>**</sup>	1,73±0,29	2,69±0,34 <sup>***</sup>	1,45±0,25	1,87±0,23 <sup>****\$</sup>

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne ± erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \*p< 0.05, \*\*p< 0.01, \*\*\*p< 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$p< 0.05, \$\$p< 0.01, \$\$\$p< 0.001

**Tableau VII :** Teneurs en cholestérol du sérum et des lipoprotéines chez les témoins et les diabétiques obèses.

	Population		Femmes		Hommes	
	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses
<b>CT VLDL</b> (g/l)	0,38±0,22	0,84±0,26 <sup>***</sup>	0,40±0,18	0,72±0,29 <sup>***</sup>	0,35±0,29	0,97±0,27 <sup>****\$</sup>
<b>CT LDL</b> (g/l)	0,49±0,10	0,67±0,08 <sup>***</sup>	0,46±0,05	0,70±0,08 <sup>***</sup>	0,52±0,05	0,63±0,08 <sup>***</sup>
<b>CT HDL</b> (g/l)	0,97±0,32	0,27±0,18 <sup>***</sup>	0,82±0,20	0,33±0,25 <sup>***</sup>	0,17±0,3	0,20±0,06 <sup>***</sup>
<b>CT sérum</b> (g/l)	1,77±0,30	0,79±0,33	1,69±0,22	1,76±0,38	1,76±0,71	1,82±0,32

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes :  $^{\$}p < 0.05$ ,  $^{\$\$}p < 0.01$ ,  $^{\$ \$ \$}p < 0.001$

**Tableau VII :** Teneurs en protéines totales au niveau du sérum et au niveau des différentes fractions de lipoprotéines chez les témoins et les diabétiques obèses

	Population		Femmes		Hommes	
	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses
<b>ApoB100VLDL (g/l)</b>	0,2 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,04	0,22 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,01	0,20 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,01
<b>ApoB100LDL (g/l)</b>	0,14 $\pm$ 0,03	0,14 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01
<b>ApoA1HDL (g/l)</b>	0,23 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,04	0,26 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,02	0,25 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,04
<b>PT-sérum (g/l)</b>	65,7 $\pm$ 7,03	72,8 $\pm$ 6,23	68,84 $\pm$ 7,2	74,65 $\pm$ 8,23	70,2 $\pm$ 6,33	75,36 $\pm$ 5,58

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes :  $^{\$}p < 0.05$ ,  $^{\$\$}p < 0.01$ ,  $^{\$ \$ \$}p < 0.001$

**Tableau IX** : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en MDA, en Hydroperoxydes et en Protéines Carbonylées chez les témoins et les diabétiques obèses (DNID obèses)

	Population		Femmes		Hommes	
	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses
<b>MDA plasmatiques</b> ( $\mu\text{mol/l}$ )	1.82 $\pm$ 0.20	2.32 $\pm$ 0.32**	1.73 $\pm$ 0.42	2.86 $\pm$ 0.77***	1.72 $\pm$ 0.46	2.23 $\pm$ 0.51*
<b>MDA érythrocytaires</b> ( $\mu\text{mol/l}$ )	5,49 $\pm$ 1,08	7,66 $\pm$ 2,48	5,75 $\pm$ 1,06	7,36 $\pm$ 2,23	6,13 $\pm$ 2,17	8,66 $\pm$ 2,91
<b>HP plasmatiques</b> ( $\mu\text{mol/l}$ )	1,29 $\pm$ 0,23	2,05 $\pm$ 0,21***	1,35 $\pm$ 0,29	2,16 $\pm$ 0,12***	1,23 $\pm$ 0,14	1,94 $\pm$ 0,23*** <sup>sss</sup>
<b>HP érythrocytaires</b> ( $\mu\text{mol/l}$ )	3,43 $\pm$ 0,47	4,92 $\pm$ 0,82**	3,58 $\pm$ 0,27	5,03 $\pm$ 0,76**	3,27 $\pm$ 0,59	4,81 $\pm$ 0,93**
<b>PC plasmatiques</b> ( $\text{mmol/l}$ )	1.89 $\pm$ 0.33	2.86 $\pm$ 0.36***	1.76 $\pm$ 0.18	2.85 $\pm$ 0.41*	2.03 $\pm$ 0.42	2.86 $\pm$ 0.38***
<b>PC érythrocytaires</b> ( $\text{mmol/l}$ )	4.62 $\pm$ 0.80	6.77 $\pm$ 0.81**	4.74 $\pm$ 0.55	7.07 $\pm$ 1.04**	3.77 $\pm$ 0.76	6.48 $\pm$ 0.47***

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$ $p < 0.05$ , \$\$ $p < 0.01$ , \$\$\$ $p < 0.001$

**Tableau X :** Teneurs en catalase plasmatiques et érythrocytaires, en vitamine C et en pouvoir antioxydants total (ORAC) chez les témoins et les diabétiques obèses (DNID obèses)

	Population		Femmes		Hommes	
	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses	Témoins	DNID obèses
<b>Catalase plasmatiques</b> (U/min/ml)	0,55±0,04	0,54±0,04	0,55±0,04	0,55±0,04	0,54±0,04	0,51±0,03
<b>Catalase érythrocytaires</b> (U/min/ml)	100,2±18,47	97,29±11,89	108±32,12	99±11,27	96,3±6,47	93,3±14,85
<b>Vitamine C</b> (µg/ml)	23,50±3,59	15,10±2,87**	24,46±2,74	14,14±2,29***	22,55±4,28	16,22±3,25**
<b>ORAC</b> (UA)	1,93±0,57	1,15±0,34**	2,02±0,61	1,21±0,29**	1,77±0,47	1,02±0,42*

- ❖ Chaque valeur représente la moyenne ± erreur standard ES. La comparaison des moyennes entre témoins et diabétiques obèses est effectuée par le test « t » de student.
- ❖ Comparaison entre diabétiques obèses et témoins : \*p< 0.05, \*\*p< 0.01, \*\*\*p< 0.001
- ❖ Comparaison entre femmes et hommes : \$p< 0.05, \$\$p< 0.01, \$\$\$p< 0.001

## Résumé

Le but de ce travail est de déterminer les altérations métaboliques (lipides, protéines et lipoprotéines) et le statut oxydant /antioxydant chez des diabétiques non insulino-dépendants obèses de la région de Tlemcen.

Nos résultats montrent une augmentation des teneurs en glucose et triglycérides (TG), tandis que les teneurs en urée, créatinine, acide urique, cholestérol total (CT) et protéine totale ne montrent aucune différence significative chez les DNID obèses.

Les altérations de la composition des lipoprotéines chez les diabétiques obèses sont caractérisées par une augmentation des teneurs en TG au niveau des fractions lipoprotéiques (VLDL, LDL, HDL); une augmentation des teneurs en CT-VLDL et CT-LDL et réduction du CT-HDL, tandis que, les teneurs en apoprotéines au niveau des fractions lipoprotéiques sont similaires à celles des témoins.

De plus, les résultats obtenus indiquent que les DNID obèses présentent un stress oxydatif marqué par une augmentation du MDA plasmatique et des diènes conjugués, ainsi qu'une augmentation des protéines carbonylées et des hydroperoxydes au niveau plasmatique et érythrocytaire. Par contre, une diminution du pouvoir antioxydant total et de la vitamine C est notée, tandis que, la catalase plasmatique et érythrocytaire ne montre aucune différence.

En conclusion, le diabète de type 2 (associés à l'obésité) induit des altérations du métabolisme des lipoprotéines et du système oxydant /antioxydant qui peuvent aggraver les complications du diabète.

**Mots clés :** DNID- obésité- lipoprotéines- stress oxydant.

## Abstract

The aim of this study was to determine the metabolic alterations (lipids, proteins and lipoproteins) and the oxidant /antioxidant status in non-insulin dependant diabetic obese (NIDDM) in Tlemcen area.

Our results showed a significant increase in glucose and triglycerides (TG) serum concentrations while there are no significant differences in urea, creatinin, uric acid, cholesterol (CT) and proteins (PT) in NIDDM related to obesity.

The alterations of lipoproteins composition in NIDDM related to obesity were characterized by a raise in TG lipoproteins fractions (VLDL, LDL, HDL); an increase in CT-VLDL, CT-LDL concentrations and a decrease in CT-HDL while the concentrations of apoproteins remain unchanged. Moreover, our results showed that NIDDM related to obesity presented oxidant stress marked by high plasma MDA and conjugated dienes. Also, plasma and erythrocyte carbonyl proteins and hydroperoxide were increased. In contrast, the total antioxidant status and vitamin C were decreased while plasma and erythrocyte catalase activity no showed significant differences.

In conclusion, type 2 diabetes (related to obesity) was associated to several alterations of lipoprotein metabolism and oxidant/antioxidant status, which could aggravate diabetic complications.

**Keys words:** NIDDM- obesity- lipoproteins- oxidant stress.

## المخلص

يهدف هذا العمل إلى تحديد التأثيرات على أيض (الدهون, البروتينات و البروتينات الدهنية) و نظام الأوكسدة / مضاد للأوكسدة عند مرضى السكري الغير معتمدين على الأنسولين و المصابين بالسمنة بمنطقة تلمسان.

أشارت نتائجنا لزيادة معتبرة في تراكيز الجلوكوز و الدهنيات الثلاثية (TG). بينما لم يظهر أي فرق معنوي في مستوى تراكيز البولة (urée), créatinine, حمض البولة (acide urique), كولسترول (CT) و البروتينات الكلية (PT).

إن الخلل الذي يصيب مكونات البروتينات الدهنية عند مرضى السكري النوع 2 المصابين بالسمنة يتميز بارتفاع في الدهنيات الثلاثية (TG) على مستوى الجزيئات الدهنية (VLDL, LDL, HDL) و ارتفاع CT-VLDL, CT-LDL, CT-HDL و نقص CT-HDL; بينما لم يظهر أي تغير على مستوى البروتينات apoprotéines الموجودة في الجزيئات الدهنية.

زيادة على ذلك, النتائج المحصلة عليها تبين أن مرضى السكري الغير معتمدين على الأنسولين و المصابين بالسمنة يعانون من اختلال في النظام التأكسدي الملاحظ من خلال ارتفاع مالونات ثنائية الإلدهيد البلاسمية و diènes conjugués. أيضا, ارتفاع في كمية البروتينات الكربونية و الهيدروبيروكسيد البلاسمية و في خضاب الدم بينما تم ملاحظة انخفاض في الفعالية الكلية و المضادة للتأكسد (ORAC) و فيتامين ت, في حين نسبة الكاتالاز البلاسمية و في خضاب الدم لم يظهر عليها أي تغير.

نستخلص من ذلك كله أن داء السكري غير المعتمد على الأنسولين (و المرتبط بالسمنة) تصاحبه مضاعفات و تغيرات على مستوى كل من أيض البروتينات الدهنية و نظام الأوكسدة / مضاد للأوكسدة و التي من شأنها تعميق المضاعفات الناجمة عن داء السكري.

**الكلمات المفتاحية :** مرضى السكري النوع 2 - السمنة- البروتينات الدهنية- النظام التأكسدي.