

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID, TLEMCEN
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE, DES
SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire
en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Option : Biologie Moléculaire et Génétique Humaine

THÈME

***L'OBÉSITÉ ET L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE CHEZ
LA FEMME MÉNOPAUSÉE ANALYSE MULTIVARIÉE
ET POLYMORPHISME DU GÈNE ACE***

Présenté par :
M^{elle} Djazia LABLACK

Soutenu le : .../.../...
Devant le jury composé de

Présidente	M ^{me} Loukidi Bouchra	M.C.B Univ. de Tlemcen
Examinatrice	M ^{me} Mami Zoubida	M.A.A Univ. de Tlemcen
Promoteur	M ^{me} Dennouni-Medjati Nouria	M.C.B Univ. de Tlemcen

Année Universitaire 2014/2015

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَمَا أُوتِيتُمْ مِنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا ٨٥

سورة الاسراء 85

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ



Remerciements



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

J'adresse mes plus sincères remerciements à mon promoteur, «Mme Dennouni-Medjati N», Maître de conférences à l'Université de Tlemcen, qui a guidé judicieusement ces recherches, m'a aidé tout le long de ce travail, par ses orientations, ses précieux conseils, sa compréhension et son infatigable dévouement. Recevez mes meilleurs sentiments et ma profonde considération.

Je remercie « Mme Loukidi B », Maître de conférences à l'Université de Tlemcen, de l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de présider le jury. Je tiens à vous exprimer mon profond respect et toute mon estime.

Je tiens à remercier « Mme Mami Z », Maître Assistante à l'Université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'accepter

d'examiner ce travail, pour cela je la remercie chaleureusement.

Recevez Madame mon profond respect.

*J'exprime mes respectueux remerciements à «Mme DALI
YOUCEF M» Maître de conférences à l'Université de Tlemcen,
de l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail, qui a été la
meilleure enseignante qui soit pour moi. Qu'elle trouve ici le
témoignage de ma haute considération et de mon profond
respect.*

*Mes vifs remerciements vont également à «Mme BOUCHERIT
Z», Professeur à l'Université de Tlemcen, pour l'aide qu'elle m'a
apporté dans ce travail.*

*J'exprime toute ma sympathie à l'ensemble des membres du
Laboratoire de Valorisation Des Actions De L'Homme Pour La
Protection De L'Environnement Et Application En Santé
Publique, et j'adresse une pensée particulière à
Mme Atmani Salima et Mme Dali Youcef Khadija, Malti
Charafeddine et Benali*

Ingénieurs au laboratoire, qui m'ont énormément aidé

Pendant ce travail.

*Un grand merci au professeur Mr Berber ainsi que sa femme.
Pour tout le personnel du service Nucléaire de l'hôpital de
Tlemcen.*

*Je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères au
professeur de mathématiques pour toute l'aide qu'il m'a apporté,
pour son soutien, ses conseils, sa sympathie et sa grande
générosité.*

*Pour finir je tiens à remercier tous mes amis (es) de ma
promotion « Biologie Moléculaire et Génétique humaine »
particulièrement :*

*Fatima Zohra, Hanane, Amel et Yasmine pour cette aventure
qu'on a vécue ensemble, et pour tous les bons moments qu'on a
passés.*

À tous

*Ceux qui ont contribué, de près ou de loin
À l'élaboration de ce travail.*



Dédicaces



*Avec l'aide de Dieu le tout puissant qui m'a éclairé les
Chemins du savoir, j'ai pu réaliser ce modeste travail*

Que je dédie à

*Mes très chers parents, avec tout mon amour, ma
Tendresse et mon estime, je n'arriverai jamais à leurs
Rendre ce qu'ils ont fait pour moi.*

*Merci pour votre amour, votre générosité et votre passion ! Pour
l'enfance heureuse que vous m'avez offerte et qui m'a permis
d'aborder la vie d'adulte avec sérénité, bonheur et confiance en
l'avenir. Que Dieu vous Protège.*

*A mes frères et sœurs, pour tout l'amour qu'ils m'apportent et
leur Soutien.*

*À toute ma famille qui a toujours cru en moi et qui m'a toujours
soutenu.*

A mes parents en

Témoignage d'un Amour éternel...

Liste des tableaux

Liste des abréviations

<i>Introduction</i>	1
<i>Chapitre I : Synthèse Bibliographique</i>	4
1. Ménopause.....	5
1.1. Définition.....	5
1.2. Classes.....	6
1.3. Profil hormonal de la ménopause.....	7
1.4. Facteurs modulant la ménopause.....	7
1.5. Traitement substitutif.....	8
1.6. Obésité et prise de poids.....	8
1.7. Altérations métaboliques.....	9
1.8. Ménopause et risque osseux.....	10
1.9. Ménopause et risque cardiovasculaire.....	11
2. Obésité.....	11
2.1. Définition.....	11
2.2. Indice de masse corporelle (IMC).....	11
2.3. Type d'obésité.....	11
2.4. Complications de l'obésité.....	12
2.5. Relation entre l'obésité et la ménopause.....	13
3. Hypertension artérielle à la ménopause.....	14
3.1. Caractéristiques de la pression artérielle chez la femme ménopausée.....	14
3.2. Hypertension artérielle et obésité.....	15
4. Gène de l'ACE : enzyme de conversion de l'angiotensine II.....	16
4.1. La protéine ACE.....	16
4.2. Le gène de l'ACE.....	17
4.3. Polymorphisme de l'ACE I/D et la pression artérielle.....	17
<i>Chapitre II : Matériel et méthodes</i>	18
1. Population étudiée.....	19
1.1. Critères d'inclusion et d'exclusion.....	19
1.2. Enregistrement.....	20
1.3. Questionnaire.....	20
1.4. Prélèvements sanguins.....	20
2. Détermination des paramètres biochimiques.....	20
2.1. Dosage de la glycémie.....	20
2.2. Dosage du cholestérol total.....	21
2.3. Dosage des triglycérides.....	21
2.4. Cholestérol-HDL.....	23
2.5. Cholestérol-LDL.....	23

3. Extraction de l'ADN par la technique NaCl (Salting out).....	24
3.4. Dosage de l'ADN.....	24
4. PCR« Polymerase Chain Reaction »	25
4.1. Principe	25
4.2. Condition de l'amplification ACE	25
5. Analyses statistiques.....	26
<i>Chapitre III : Résultats et interprétations</i>	28
1. Caractéristiques de la population étudiée	29
1.1. Âge.....	30
1.2. Tour taille/Tour Hanche.....	31
1.3. Diabète	31
1.4. Indice de masse corporelle (IMC).....	31
1.5. Hypertension	31
1.6. Pression artérielle.....	31
1.7. Type d'habitat	32
2. Paramètres Biochimiques	32
2.1. Bilan glycémique	32
2.2. Bilan lipidique.....	32
3. Régression logistique binaire.....	33
3.1. Ajustement du modèle logistique.....	35
4. Exploration des données d'extraction de l'ADN.....	35
5. Résultats des indications de liaisons.....	36
<i>Discussion</i>	37
<i>Conclusion</i>	41
<i>Références bibliographiques</i>	43
<i>Annexe</i>	53

Tableau 1. Concentrations moyennes des stéroïdes sexuels en pré- et post- ménopause (Eric et al., 2009).....	7
Tableau 2. Classification des adultes en fonction de l'IMC (Didier et Mailhol, 2011).....	12
Tableau 3. Amorces utilisées pour l'amplification du gène ACE	25
Tableau 4. Niveau d'instruction de la population cas	29
Tableau 5. Données descriptives de la population cas et de la population témoin.	30
Tableau 6. Moyenne de la glycémie chez la population cas et témoins.	32
Tableau 7. Résultats du bilan lipidique	33
Tableau 8. Résultats de l'Étude du Modèle de Régression Logistique Binaire.	34
Tableau 9. Test d'adéquation de l'ajustement.....	35
Tableau 10. Moyenne de concentration des extraits d'ADN et pourcentage de pureté.	36

Liste des tableaux en annexes

Tableau A 1. Préparation des solutions d'extraction.	55
--	----

AAO	Ascorbate Oxydase
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ADP	Adénosine di-Phosphate
AG	Acides Gras
AGPI	Acides Gras Polyinsaturés
CE	Cholestérol Estérase
CRF	Corticotropin-releasing factor
DAP	Dihydroxy-acétone
DHEA	Déhydroépiandrostérone, hormone androgène
EDTA	Ethylène diamine tétra-acétique
FSH	Folliculo-stimulating hormone (hormone gonadotrophine)
GNRH	Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires
GOD	Glucose oxydase
GPO	Glycérol phosphate déshydrogénase
HDL	High Density Lipoproteins
HDL-C	High Density Lipoproteins Cholesterol
HTA	Hypertension Artérielle
IMC	Indice de la Masse Corporelle
LDH	Lactate Déshydrogénase
LDL	Low Density Lipoprotein
LDL-C	Low Density Lipoproteins Cholesterol
LH	Lutéine hormone (hormone gonadostimuline)
LPL	Lipoprotéine Lipase
NO	Oxyde Nitrique
ONS	Office National des Statistiques

PAD	Pression Artérielle Diastolique
PAS	Pression Artérielle Systolique
POD	Peroxyde
RR	Risque Relatif
TG	Triglycéride
THS	Traitement Hormonal Substitutif
TNF	Facteur de Nécrose Tumorale (Tumor Necrosis Factor)
VLDL	Very Low Density Lipoprotein

Introduction

La ménopause est une phase physiologique dans la vie des femmes que ces dernières appréhendent car elle est souvent synonyme, pour elles, de perte de féminité et annonce le début du vieillissement (Avis et *al.*, 2001).

La définition classique de la ménopause est clinique : c'est une aménorrhée de plus de un an chez une femme âgée d'environ 50 ans (Shepell, 2010).

Elle est l'objet d'un regain d'intérêt car les grands fléaux de la période ménopausique : cancer (sein, utérus), ostéoporose et maladies cardiovasculaires sont liés à la carence hormonale (Avis et *al.*, 2001).

De plus, la ménopause s'accompagne d'un déclin des fonctions cellulaires. Pour toutes ces raisons, les études fondamentales sur la ménopause se multiplient dans le monde entier. L'industrie pharmaceutique investit dans la mise au point de traitements substitutifs et les congrès médicaux et internationaux sur ce sujet sont de plus en plus fréquents et fréquentés.

La biologie est de plus en plus sollicitée pour explorer les étapes de la ménopause (Terrent et Solari, 2012).

Les hormones sexuelles agissant sur de nombreux types cellulaires ont en général des effets métaboliques incluant la régulation du métabolisme du glucose, des lipides, des protéines, et la liste est non exhaustive (Terrent et Solari, 2012).

L'installation de la ménopause est une bonne occasion pour dépister les troubles glucidolipidiques fréquemment installés à cette période de la vie ainsi que toute autre perturbation métabolique suspectée sur des signes d'appel cliniques, comme les troubles hépatique ou rénaux (Terrent et Solari, 2012).

Si le bilan lipidique est un examen utile chez la femme en période d'activité génitale, il prend une valeur toute particulière chez la femme ménopausée, qu'elle soit ou non soumise à un traitement hormonal substitutif.

La période de la ménopause se révèle critique pour la prise de poids féminine. Comme elle se traduit par une perte brutale ou progressive de la sécrétion hormonale en progestérone, puis en œstrogène, la prise de poids moyenne est modeste mais varie considérablement d'une femme à l'autre (Astrup, 1999).

La carence œstrogénique induit une modification de la répartition des graisses qui se concentrent sur le ventre, répartition dite androïde. Par ailleurs, la femme, qui est protégée des maladies cardiovasculaires avant la ménopause, rejoint l'homme après celle-ci (Duclos, 2005).

L'augmentation de la prévalence de l'obésité, chez les femmes, joue un rôle prépondérant dans l'apparition du syndrome métabolique et des comorbidités associées. Ces changements relatifs à la distribution régionale de la graisse sont généralement associés à une détérioration du bilan lipidique- lipoprotéique, une élévation de la tension artérielle de repos, une résistance à l'insuline et/ou une intolérance au glucose, ainsi qu'à un profil pro-inflammatoire et thrombotique exacerbé (Riesco, et *al.*, 2008).

Dans les sociétés industrialisées où l'alimentation hyper lipidique et la sédentarité sont ancrées dans les habitudes de vie, l'activité physique semble être un facteur clé pour minimiser le gain de poids à la ménopause et ainsi diminuer l'incidence des maladies cardiovasculaires et du diabète de type 2 associés au syndrome métabolique (Riesco, et *al.*, 2008).

Il apparaît clairement que l'association obésité et ménopause aggrave les complications métaboliques chez la femme, et peut donc être à l'origine d'une altération accentuée de l'état de santé. De plus, l'incidence de l'HTA croît rapidement après la ménopause. Le vieillissement et la recrudescence des facteurs de risque vasculaires liés à la carence œstrogénique favorisent les modifications physiques de la paroi artérielle contribuant de façon indirecte la majoration du chiffre tensionnel (Berdah, 2010).

Les objectifs de ce modeste travail est de déterminer les modifications métaboliques chez les femmes ménopausées, de la région de Tlemcen. Cette contribution nous permettra de vérifier l'existence de perturbations métaboliques, de voir leur amplitude en cas d'existence conjointe d'obésité. Par ailleurs, cette étude permettra de fournir des données de surveillance qui font l'originalité de nos populations de l'ouest Algérien.

*Chapitre I : Synthèse
Bibliographique*

1. Ménopause

1.1. Définition

Le terme de ménopause existe depuis moins de deux siècles. En 1821, Charles Pierre Louis de Gardanne propose d'adopter le terme de ménopause et fait apparaître dans le titre de son livre « *De la ménopause ou de l'âge critique des femmes* » (Degardanne, 1816). Construit à partir des mots grecs signifiant menstrues (*menos*) et arrêt (*pausis*), ce néologisme remplace l'expression « *cessation des menstrues* » des textes médicaux des XVII^{ème} et XVIII^{ème} siècles.

Selon l'Organisation mondiale de la santé (1996), la ménopause se définit par la cessation permanente des menstruations (12 mois consécutifs d'aménorrhée) résultant d'une diminution de l'activité folliculaire ovarienne.

Habituellement, la ménopause survient entre 40 et 55 ans (60 ans chez certaines femmes) et se traduit par des symptômes définis par Taurelle et Tomborini, 1997 :

- bouffées de chaleur,
- sueurs nocturnes,
- palpitations cardiaques,
- troubles du sommeil,
- étourdissements,
- crise d'anxiété,
- nausées,
- sécheresse ; pertes ou saignements vaginaux (en raison de l'amincissement et de l'inflammation des parois vaginales),
- infection urinaire (incontinence urinaire à l'impériosité et à l'effort),
- panne du désir sexuel (libido),
- difficultés de concentration,
- fatigue,
- irritabilité,
- problèmes de mémoire,
- saute d'humeur.

L'augmentation de la durée de vie des femmes (de nos jours, la femme vivant plus de 30 ans après sa ménopause), crée une situation nouvelle avec une augmentation croissante du nombre de femmes ménopausées. C'est ainsi qu'en Algérie et selon les projections de l'ONS pour 2020, la population féminine de plus de 50 ans représentera plus de 4 million de femmes soit 10% de la population. La tranche des 50-60 ans représentera 2 millions de femmes (Arbouche, 2007).

La ménopause est une étape incontournable de la vie des femmes qui correspond à la baisse de production par les ovaires, principalement de deux hormones qui régissent la vie génitale et sexuelle de la femme : La « Progestérone » et les « Œstrogènes » (Alain et *al.*, 2005).

Ces hormones sont produites par les ovaires de la façon suivante : Une glande située à la base du cerveau et qui appelée Hypophyse produit principalement deux hormones appelées F.S.H. et L.H. Ces hormones agissent sur les ovaires et leur font produire, pour l'une des œstrogènes, et pour l'autre de la progestérone. C'est la production de ces hormones et leurs variations tout au long du cycle qui provoquent l'ovulation puis les règles en l'absence de fécondation (Alain et *al.*, 2005).

1.2. Classes

Après un certain âge, variable selon les femmes, mais surtout après un certain nombre de cycles, les fonctions de sécrétions hormonales des ovaires s'altèrent : ceux-ci répondent de moins en moins bien aux stimulations de la glande hypophyse, qui se trouve à la base du cerveau. Cette ménopause évolue en deux étapes de durée variable :

1.2.1. Péri ménopause

La péri ménopause est une période qui précède la période ménopausique. Sa durée est variable. Elle débute entre 40 et 50 ans mais peut débuter auparavant.

Dans l'ovaire, les données récentes distingues 2 phases en période péri ménopause :

- ❧ Première phase de réponse ovarienne à la stimulation de FSH, d'où une hyper-œstrogénie plasmatique avec gonflements, ballonnements, tension abdominale, irritabilité.
- ❧ Une deuxième phase de résistance des follicules ovariens à FSH : hypo-œstrogénie avec début de signes de ménopause : bouffées de chaleur, dépression, irrégularités, menstruelles de tout ordre comportant des cycles courts, cycles longs, cycles réguliers, mais anovulatoires, règles abondantes, règles de faible abondance (Greendale et *al.*, 1999).

1.2.2. Post ménopause

La post ménopause ou ménopause confirmée se définit comme la période suivant la péri ménopause, donc survenant après au moins une année d'aménorrhée, et se poursuivant jusqu'à la fin de l'existence (Greendale et *al.*, 1999). Le taux de gonadotrophine est très élevé aussi bien dans le sang que dans les urines (**tableau 1**).

Les gonadotrophines ou gonadostimulines (la FSH et LH) sont des hormones sécrétées par l'hypophyse, et qui agissent sur les glandes sexuelles, en stimulant leur fonction.

La sécrétion d'androgènes (hormone mâle) par l'ovaire, est également diminuée (Drapeau, 2004). A ce stade, il y a arrêt du cycle menstruel.

1.3. Profil hormonal de la ménopause

L'ovaire de la femme ménopausée, ne dispose plus de follicules et sa sécrétion stéroïdienne est nulle. Par un mécanisme de rétrocontrôle, le taux de gonadotrophines hypophysaires (FSH et LH) s'élève nettement.

Tableau 1. Concentrations moyennes des stéroïdes sexuels en pré- et post-ménopause (Eric et *al.*, 2009).

Hormones	Pré-ménopause	Post-ménopause
Estradiol (pg/ml)	40-400	10-20
Estrone (pg/ml)	30-200	30-70
Testostérone (ng/dl)	20-80	15-70
Androstènedione (ng/dl)	60-300	30-150
DHEA (ng/ml)	4-5	1-3

DHEA : Déhydroépiandrostérone, hormone androgène.

1.4. Facteurs modulant la ménopause

1.4.1. L'âge

L'âge normal de la ménopause est de 50 ans, inchangé, sous contrôle probablement génétique. Il existe cependant des âges extrêmes de la ménopause normale, précédant les 45 ans (ménopause précoce) ou succédant les 55 ans (ménopause tardive) (Day, 2005).

1.4.2. Facteurs hormonaux

La carence œstrogénique n'a que peu d'influence sur la dépense énergétique de repos. Il a été démontré qu'en inhibant l'axe hypothalamo-hypophysaire avec des antagonistes de la GnRH, l'organisme ne diminue que de moins de 100 calories par jour. En bref, être ménopausée

ne diminue que très peu la dépense énergétique (moins de 100 calories par jour) et n'explique pas la prise de poids de 5 à 10 kg que certaines femmes attribuent souvent à leur ménopause (Day, 2005).

1.4.3. Facteurs psychologiques

Il ne faut pas sous-estimer le rôle souvent prépondérant des facteurs psychologiques dans la prise de poids, réelle ou supposée, de la femme à la période ménopausique. Le stress généré par la perte de fécondité, la diminution du pouvoir professionnel, de la séduction, les enfants qui quittent le nid ou au contraire qui s'y éternisent sont autant de facteurs qui poussent les femmes à augmenter sensiblement leur consommation alimentaire. Le recours à l'alimentation comme consolation en réponse à une détresse, à une tristesse ou à une angoisse, est une stratégie d'adaptation. L'accompagnement ou la prise en charge psychothérapique ou comportementale peuvent ainsi être des compléments thérapeutiques précieux (Berdah, 2006).

1.5. Traitement substitutif

La ménopause a un effet sur la morphologie et se répercute sur une répartition androïde des graisses. La prescription d'un traitement hormonal substitutif lors de la ménopause (THS), a des effets favorables, sur les paramètres morphologiques. Il entraîne une redistribution sous-cutanée des graisses et empêche la répartition androïde des graisses. Il permet le maintien de l'IMC et du tour de taille par rapport aux femmes non traitées (Jamin, 2001).

1.6. Obésité et prise de poids

La ménopause s'accompagne, indépendamment d'une prise pondérale liée à l'évolution naturelle, d'un effet propre à la carence œstrogénique, à savoir une augmentation de la masse grasse abdominale, une accélération de la perte de masse osseuse et de masse musculaire, donc de masse maigre (Greendale et *al.*, 1999).

La ménopause entraîne une augmentation des taux de triglycérides et de VLDL, une élévation de la cholestérolémie totale et du LDL-cholestérol (LDL-C), et une baisse du HDL-cholestérol (HDL-C). La redistribution corporelle des graisses aboutit à une surcharge de type androïde corrélée avec une hyper insulïnémie et une insulino-résistance ainsi qu'une diminution des taux plasmatiques de HDL-cholestérol (Scheen, 1996).

La résistance à l'insuline augmente progressivement avec l'âge chez les femmes post ménopausées. Elle est fréquemment associée à des perturbations lipidiques (augmentation des LDL), à une HTA et une surcharge pondérale de type androïde (Virally et *al.*, 2005).

La ménopause, quant à elle, a une influence sur la morphologie et la répartition de la masse grasse qui se concentre principalement sur le ventre et la taille. Avant la ménopause les œstrogènes sont responsables d'une répartition des graisses dite « gynoïde » c'est-à-dire au niveau des hanches (Virally et *al.*, 2005).

La carence oestrogénique lors de la ménopause inverse cette tendance et les graisses se concentrent sur le ventre (répartition « androïde »), ce que démontre l'étude de l'équipe de Gambacciani. Ces auteurs ont comparé trois groupes de femmes de même âge et de même corpulence, non obèses, en pré-, péri ou post ménopause. La distribution des graisses est différente selon le statut hormonal, avec une majoration significative, par rapport aux femmes en pré ménopause, du pourcentage de masse grasse abdominale chez les femmes en péri- et post ménopause (Gambacciani et *al.*, 1999)

Cette accélération de l'accumulation des graisses au niveau viscéral contemporaine de la ménopause pourrait expliquer l'augmentation de la prévalence du syndrome métabolique constatée dans un certain nombre d'études au moment de la ménopause, quelles que soient la population et les ethnies considérées (Park et *al.*, 2003).

1.7. Altérations métaboliques

1.7.1. Ménopause et métabolisme glucidique

La ménopause s'accompagne d'un risque augmenté d'une mauvaise tolérance au glucose chez 10 à 15% des femmes de 55 à 65 ans. Une fois associée à une modification des lipides, à une hypertension et à une augmentation de la masse grasse à répartition androïde aux dépens de la masse maigre, elle majore le risque cardio-vasculaire (Kacalska-Janssen et *al.*, 2013).

Les changements induits sont liés à la disparition de la sécrétion des hormones ovariennes elles-mêmes, mais d'autres causes ont été impliquées comme une prise pondérale et une réduction de l'activité physique. En revanche, la ménopause s'accompagne souvent d'autres facteurs défavorables sur le contrôle d'un diabète, tels la sédentarité et l'excès pondéral, qui favorisent une augmentation de la résistance périphérique à l'insuline (Bernis, 2001).

1.7.2. Ménopause et métabolisme lipidique

Avec la ménopause, on observe des modifications pouvant toucher les fractions lipidiques. Ces changements sont essentiellement attribués à la diminution des taux d'œstrogènes. Le cholestérol total s'élève avec l'installation de la ménopause, lié à l'élévation

du cholestérol-LDL, secondaire à une diminution de l'activité des récepteurs cellulaires aux LDL (Turpin et Bruckert, 1999). Les particules LDL sont catabolisées moins rapidement expliquant l'élévation de leur taux plasmatique et celui du cholestérol. Les modifications du taux de HDL cholestérol sont moins clairement établies, d'une manière générale, leur taux diminue avec l'âge. Ces anomalies sont associées à un risque cardiovasculaire élevé (Yousefzadeh et *al.*, 2013).

La ménopause provoque une augmentation du taux des triglycérides, qui est favorisée par certains facteurs comme l'obésité, un déséquilibre alimentaire et la sédentarité (Harvie et *al.*, 2003).

1.7.3. Syndrome métabolique

Le concept initial, décrit par G. Reaven dès 1988 sous le terme de « syndrome X », correspond à un ensemble de facteurs de risque cardiovasculaire, comprenant la résistance cellulaire à l'action de l'insuline, l'hyper insulinémie, l'intolérance au glucose, l'augmentation des VLDL-triglycérides, la diminution du HDL-cholestérol (HDL-C) et l'hypertension artérielle (Reaven, 1988). La protection contre la maladie cardiovasculaire observée chez la femme, avant la ménopause, semble s'estomper après celle-ci. À partir du moment où les femmes atteignent la ménopause, l'incidence des maladies cardiovasculaires des femmes se rapproche de celle des hommes (Barrett-Connor, 1997).

Ce phénomène pourrait s'expliquer par l'augmentation de 60 % du risque de développer un syndrome poly métabolique à cette époque de la vie (Park et *al.*, 2003).

On observe dès l'installation de la ménopause, une augmentation de la prévalence des différents facteurs de risque de maladies cardiovasculaires : hypertension artérielle, hypertriglycéridémie, diabète de type 2, et notamment des marqueurs du profil inflammatoire et de la sensibilité à l'insuline (Zhu, 2004).

1.8. Ménopause et risque osseux

La perte osseuse est un processus inéluctable de vieillissement du tissu osseux qui survient à partir de l'âge de 30 ans et s'accélère après la ménopause en raison de la carence œstrogénique. Chez les femmes ménopausées, l'incidence des fractures entre 50 et 60 ans reste faible (de l'ordre de 5 fractures du poignet, 1 à 2 tassements vertébraux et 0,5 fracture du col fémoral pour 1 000 femmes par an). Néanmoins, ce risque est plus important chez les femmes ayant eu une ménopause précoce et présentant d'autres facteurs de risque (antécédent de

fracture du col du fémur sans traumatisme chez un parent du 1^{er} degré, maigre ou encore d'antécédent de corticothérapie de plus de trois mois consécutifs) (Cosman, 2005).

1.9. Ménopause et risque cardiovasculaire

La ménopause est associée à une augmentation du risque cardiovasculaire à long terme mais le rôle propre de la carence œstrogénique n'est pas clairement établie (Salehi *et al.*, 2013). Il pourrait tout simplement s'agir du vieillissement et de la présence plus fréquente avec l'âge de certains facteurs de risque comme la surcharge pondérale ou l'obésité, le diabète, l'hypertension artérielle ou encore l'hypercholestérolémie (Mayor, 2013 ; Maruoka *et al.*, 2014).

2. Obésité

2.1. Définition

Le terme obésité est dérivé du latin « OBESUS » qui veut dire engraisser (Adams & Murphy, 2000).

L'obésité est universellement définie comme un excès d'accumulation de tissu adipeux ayant comme origine un déséquilibre entre l'apport et la dépense énergétique. Elle a des conséquences défavorables pour la santé dans ces trois dimensions, somatique, psychologique et sociale. Cette définition s'applique à la personne âgée comme à l'enfant et à l'adulte jeune (Adams & Murphy, 2000).

2.2. Indice de masse corporelle (IMC)

L'indice de masse corporelle (IMC) est calculé par le rapport du poids (en kilogrammes) sur le carré de la taille (en mètre) et exprimé en kg/m².

$$\text{IMC} = \text{poids (kg)} / \text{taille}^2 \text{ (m}^2\text{)}$$

Cet indice sert de mesure universelle dans l'évaluation de surpoids et de l'obésité (**Tableau 2**). Il permet de définir la charge pondérale des patients comme insuffisante (IMC<18,5), normale (18,5<IMC<25), surcharge (IMC>25), ou excédentaire (IMC>30) et d'y associer un risque d'apparition de morbidité (Who, 2000).

2.3. Type d'obésité

2.3.1. Obésité androïde ou centrale

La distribution des graisses est principalement abdominale (importante accumulation de graisses péri-viscérale sous la paroi musculaire abdominale). Ces obésités sont cliniquement définies par un rapport Taille/Hanche supérieur à 0,85 chez la femme et supérieur à 1 chez

l'homme (Basdevant et Gay-Grand, 2004).

2.3.2. Obésité gynoïde ou forme poire

On parle d'obésité gynoïde quand l'excès de graisse se situe principalement dans la partie inférieure du corps : sur les hanches, en bas du ventre ou au niveau des cuisses comme c'est habituellement le cas chez la femme « culotte de cheval » (Basdevant et Gay-Grand, 2004).

2.3.3. Obésité mixte

La graisse s'accumule dans toutes les parties du corps. Elle est encore appelée obésité pléthorique (Basdevant et Gay-Grand, 2004).

Tableau 2. Classification des adultes en fonction de l'IMC (Didier et Mailhol, 2011).

Evaluation du poids corporel	IMC
Maigre	Inférieur à 18.5
Normal	Entre 18.5 et 24.9
Surpoids	Entre 25 et 29.9
Obésité classe I	Entre 30 et 34.9
Obésité classe II	Entre 35 et 40
Obésité morbide	Supérieur à 40

IMC = Poids/ Taille² (Kg/m²)

2.4. Complications de l'obésité

L'obésité ne doit pas être considérée comme un simple problème esthétique, car elle a des conséquences néfastes sur la santé. Quand on est obèse, on a un risque augmenté d'hypertension artérielle (qui est multiplié par quatre), de dyslipidémie (qui est multiplié par trois), et de diabète (qui est multiplié par neuf) (Canonica et *al.*, 2005).

L'obésité entraîne d'autres complications. Il existe une augmentation du risque de maladies thromboemboliques liées au surpoids et ce risque croît avec l'IMC (Canonica et *al.*, 2005). Le risque relatif (RR) de faire un accident thromboembolique est de 2.7 pour un IMC à 25 et monte à quatre lorsque l'IMC atteint 30.

On observe également une augmentation du risque de cancer du sein. Chez les femmes obèses, le risque de développer un cancer du sein en post ménopause est de 30 à 50 %.

L'obésité est un facteur de risque du cancer du sein en dehors de tout traitement substitutif (THS) et ce risque croît avec l'IMC (Calle et *al.*, 2003) :

- le RR est égal à 1.63 pour un IMC entre 30 et 35 ;
- le RR est égal à 1.70 pour un IMC entre 35 et 39.5 ;
- le RR est égal à 2.12 pour un IMC supérieur à 40.

L'obésité est significativement associée à un certain nombre de pathologies. Parmi ces complications somatiques, on peut distinguer :

Les conséquences immédiates de l'inflation de la masse grasseuse, parfois graves à court terme, telles que l'insuffisance respiratoire et/ou cardiaque.

L'obésité est un facteur de risque indépendant d'insuffisance cardiaque, en particulier chez les femmes (Kenchalah et *al.*, 2002). L'effet de l'obésité sur la fonction cardiaque résulte probablement de la combinaison de plusieurs facteurs incluant HTA, dyslipidémie, diabète, hypertrophie ventriculaire gauche, dysfonction endothéliale et athérosclérose (Haslam et *al.*, 2005).

L'obésité a également été associée avec certaines formes de cancers (Abu-Abid et *al.*, 2002). Chez la femme, les œstrogènes produites uniquement par le tissu adipeux après la ménopause, seraient impliqués dans certains cancers dits hormono-dépendants (endomètre et sein, notamment) (Key et *al.*, 2003; Kaaks et *al.*, 2002). Il semble même que le surplus poids empêche le diagnostic précoce de cancers, ce qui viendrait donc expliquer en partie le risque de mortalité par cancer dû à l'obésité (Wee et *al.*, 2004).

Les anomalies lipidiques les plus fréquentes sont l'augmentation des triglycérides et la diminution du cholestérol HDL, ce qui s'accompagne d'une augmentation du risque cardiovasculaire (Wannamethee et *al.*, 1998). Le taux de LDL peut être normal mais les particules LDL sont petites et denses et donc plus athérogènes (Ziegler et Dedry, 1998).

2.5. Relation entre l'obésité et la ménopause

La ménopause, l'obésité et le cancer du sein sont liés. L'obésité est un facteur déterminant car les cellules qui produisent des œstrogènes extra glandulaires (plus particulièrement de l'œstrone) sont des cellules du tissu adipeux blanc (fraction vasculaire du stroma du tissu adipeux). Les hormones libérées agissent sur les cellules cibles de ces

substances (mais aussi de façon paracrine sur les adipocytes dotés de récepteurs aux hormones stéroïdes) (Kenchalah et *al.*, 2002).

3. Hypertension artérielle à la ménopause

L'HTA a un impact plus important chez la femme que chez l'homme. Sa prévalence chez les femmes se rapproche de celle des hommes à partir de l'âge de 55 ans et la dépasse à partir de 65 ans (Arnal et *al.*, 2003).

La pression artérielle augmente avec l'âge dans les deux sexes, mais la prévalence de l'hypertension, plus faible chez la femme dans les tranches d'âge les plus jeunes, rejoint celle de l'homme dans la cinquantaine et la dépasse dans les tranches d'âge les plus élevées (Burt et *al.*, 1995).

La ménopause est aussi associée à une augmentation substantielle du risque cardiovasculaire global. L'effet des œstrogènes sur la paroi vasculaire a été extensivement étudié sur divers modèles expérimentaux (Arnal et *al.*, 2003).

La privation œstrogénique s'accompagne de nombre de corollaires métaboliques. La prévalence du syndrome métabolique augmente rapidement dans cette période, avec une modification de la répartition des graisses, une augmentation du cholestérol total et de sa fraction LDL (*Low Density Lipoprotein*), une diminution de la fraction HDL (*High Density Lipoprotein*), et une augmentation des triglycérides (Carr, 2003).

3.1. Caractéristiques de la pression artérielle chez la femme ménopausée

La pression artérielle de la femme ménopausée se caractérise par :

- une augmentation de la pression artérielle systolique ;
- une augmentation de la pression pulsée (ou pression différentielle ; différence entre la pression systolique et la pression diastolique) ;
- une augmentation de la réponse tensionnelle au stress émotionnel.

La ménopause majore différents facteurs de risque cardiovasculaires dont un des plus étudiés est le métabolisme lipidique. En revanche, très peu d'études se sont intéressées au retentissement artériel de la carence œstrogénique. Il apparaît cependant, dans une étude récente que la réduction ou l'absence d'estrogènes circulants conduit à une diminution de la distensibilité artérielle qui s'accompagne, au niveau des artères centrales, d'une augmentation des ondes de réflexion artérielles qui sont un élément déterminant de la post-charge cardiaque (London et *al.*, 1995).

De tels effets artériels pourraient, au moins en partie, expliquer :

- la prévalence d'une hypertension systolique et d'une hypertrophie cardiaque qui se traduit, chez la femme ménopausée, par une augmentation de l'épaisseur de la paroi ventriculaire gauche (Pines et *al.*, 1993).
- l'augmentation de la pression pulsée qui représente, de façon spécifique chez la femme de plus de 55 ans, un facteur péjoratif de risque d'hypertrophie ventriculaire gauche et de mortalité coronarienne, indépendant de la pression artérielle moyenne (Darne et *al.*, 1989).

La ménopause, naturelle ou chirurgicale, influence, de plus, la réponse au stress émotionnel mais ne modifie pas la réponse au stress physique. Ainsi, l'élévation de pression artérielle observée chez la femme ménopausée, normo tendue ou hypertendue, en réponse à un stress mental, est significativement plus importante que celle enregistrée respectivement chez la femme non ménopausée ou chez la femme ménopausée normo tendue (Muneta et *al.*, 1992 ; Owens et *al.*, 1993).

3.2. Hypertension artérielle et obésité

La prévalence de l'HTA est plus élevée chez les sujets obèses, en particulier, chez le sujet jeune. L'effet du poids se manifeste pour des surcharges pondérales modérées et est considérablement accru en cas d'obésité à distribution abdominale. Le risque d'HTA est 5 fois plus supérieur chez les sujets obèses que chez ceux ayant un poids normal. Dans plus de 85% des cas, l'HTA survient chez des sujets dont l'IMC est supérieur à 25 kg/m² (Kastarinen et *al.*, 2000).

Le risque de coronaropathie est d'autant plus grand que l'obésité est associée au diabète, à une dyslipidémie et/ou à une hypertension artérielle. Les effets de l'obésité sur la fonction cardiaque sont multiples et complexes. Chez le sujet obèse, l'insuffisance cardiaque gauche peut être secondaire à l'insuffisance coronarienne et à l'hypertension artérielle, mais certaines données suggèrent un rôle direct de l'inflation adipeuse. Par ailleurs, les anomalies respiratoires et la pathologie thromboembolique peuvent contribuer à la constitution d'une insuffisance cardiaque droite. Le problème clinique le plus préoccupant est celui du risque accru des thromboses veineuses profondes, dont l'obésité constitue un obstacle au diagnostic (Kastarinen et *al.*, 2000).

4. Gène de l'ACE : enzyme de conversion de l'angiotensine II

Le risque cardio-vasculaire implique plusieurs facteurs, principalement le diabète, l'hypercholestérolémie, l'obésité, l'hypertension artérielle, la ménopause et leur interaction aggrave le risque cardio-vasculaire dans des proportions considérables. (Jacob et *al.*, 1999).

Depuis quelques années un intérêt particulier avait été accordé au polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) qui semble être un excellent marqueur de risque de l'IDM (Sourbier et *al.*, 1988).

Le gène de l'ACE humain est localisé sur le chromosome 17 en position 17q23 (Cambien et sourbier, 1995). Le polymorphisme dans ce gène comprend deux variantes : **I** (Insertion) et **D** (Délétion) d'un fragment de 287 paires de bases présentes dans l'intron 16 de ce gène (Rigat et *al.*, 1990).

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) joue un rôle essentiel dans deux systèmes physiologiques, l'un conduisant à la production de l'angiotensine II et l'autre à la dégradation de la bradykinine (vasodilatateur puissant). Sa localisation principale est la surface luminale des cellules endothéliales principalement au niveau de la circulation pulmonaire mais aussi d'autres lits vasculaires (épididyme, rein, intestin . . .).

La grande distribution et les propriétés multifonctionnelles de cette enzyme suggèrent que l'ACE pourrait être impliqué dans divers processus physiopathologiques (Carluccio et *al.*, 2001).

4.1. La protéine ACE

L'enzyme de conversion de l'angiotensine ACE est une métallo-peptidase largement distribuée sur la surface des cellules endothéliales et épithéliales. L'ACE convertit l'angiotensine I (décapeptide inactif) en angiotensine II (octapeptide actif et puissant vasoconstricteur), qui est le principal produit actif du système rénine-angiotensine (SRA). Une régulation à long terme de la pression artérielle et le volume de sang dans le corps est commandée par le SRA (Sayed-Tabatabaei et *al.*, 2006).

L'angiotensine II est un puissant vasoconstricteur. Elle possède la propriété d'engendrer la prolifération des cellules musculaires lisses ainsi que d'activer la synthèse de la matrice extracellulaire, et de l'agrégation plaquettaire. Il a été montré qu'un niveau élevé de rénine plasmatique est associé à une augmentation du risque d'infarctus (Brewster, 2004).

Les effets de l'ACE font en sorte qu'elles agissent directement pour augmenter la quantité de fluide dans le sang (compensant une perte en volume) et à augmenter la pression

artérielle. L'angiotensine II médie également la croissance et la prolifération cellulaire par stimulation de diverses cytokines et facteurs de croissance (Carluccio *et al.*, 2001).

En outre, l'angiotensine II peut induire un dysfonctionnement endothélial, en réduisant la biodisponibilité de l'oxyde nitrique (NO) (Rajagopalan *et al.*, 1996).

Ces résultats soulignent l'importance de l'angiotensine II dans la physiopathologie cardiovasculaire et motivent l'exploration du rôle du SRA dans l'athérosclérose et d'autres résultats cardiovasculaires.

4.2. Le gène de l'ACE

Le gène de l'ACE est localisé sur le bras long du chromosome 17 (17q23), Il est composé de 21 kilo bases (kb) de long et comprend 26 exons et 25 introns.

Selon le National Center for Biotechnology Information (NCBI), il a été répertorié plus de 160 polymorphismes génétiques pour le gène de l'ACE, dont la plupart sont des polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs : single nucléotide polymorphismes). Seulement 34 de ces polymorphismes sont situés dans les régions de codage ; 18 d'entre eux sont des mutations faux-sens (Sayed-Tabatabaei *et al.*, 2006).

Les allèles du gène de l'ACE sont **I** (insertion) et **D** (délétion). La concentration d'ACE plasmatique est étroitement liée au génotype. Elle est significativement plus basse en cas de génotype II, intermédiaire en cas de ID, et élevée en cas de DD (Rigat *et al.*, 1990).

4.3. Polymorphisme de l'ACE I/D et la pression artérielle

Plusieurs études ont rapporté une association positive entre l'allèle D et l'hypertension artérielle (Giner *et al.*, 2000 ; Agachan *et al.*, 2003).

La première méta-analyse sur ce sujet, publié par Staessen *et al.* (1997), incluant 23 études et composée de 28 groupes de cas-témoins avec un total de 6923 sujets, a indiqué un risque accru de 10% pour l'hypertension chez les sujets ayant un génotype DD par rapport à ceux portant le génotype II (Staessen *et al.*, 1997).

Des analyses de sensibilité ont été effectuées en sous-groupes en fonction du sexe, l'origine ethnique, l'âge moyen. Il y avait une relation significative entre l'allèle D et l'hypertension chez les femmes et chez les Asiatiques (Staessen *et al.*, 1997).

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Population étudiée

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de Valorisation Des Actions De L'Homme Pour La Protection De L'Environnement et Application En Santé Publique, au sein du département de Biologie.

Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen (CHU-Tlemcen).

L'étude que nous avons entreprise est une étude cas témoins. Notre travail est réalisé sur des femmes volontaires de la région de Tlemcen, lors de bilans de routine. Nous considérons deux groupes de femmes :

- 1^{er} groupe : femmes jeunes (âge compris entre 22 et 39 ans) comportant 30 individus non ménopausées, et en bonne santé. Ce groupe représente les femmes témoins.
- 2^{ème} groupe : se compose de 40 femmes ménopausées depuis au moins une année (âge compris entre 48 et 74 ans).

1.1. Critères d'inclusion et d'exclusion

La population témoin :

❖ Critères d'inclusion :

- Sujets jeunes résidants à Tlemcen, âgés entre 22 à 39 ans.
- Sujets sains ne développant aucune pathologie (présupposés en bonne santé).

❖ Critères d'exclusion :

- Sujets prenant des médicaments au moment du prélèvement.
- Femmes enceintes.

La population cas :

❖ Critères d'inclusion :

- Sujets ménopausées depuis au moins un an, résidants à Tlemcen.

❖ Critères d'exclusion :

- Sujets refusant de faire le prélèvement.

1.2. Enregistrement

Sur chaque questionnaire est mentionné un numéro du sujet et le lieu du prélèvement. Tous les prélèvements sont étiquetés soigneusement, portant le nom et prénom du sujet ainsi que la numérotation d'enregistrement. Cette dernière est également inscrite sur un registre.

1.3. Questionnaire

Les données nécessaires pour chaque sujet sont recueillies par l'intermédiaire d'un questionnaire. Un interrogatoire minutieux est mené auprès des patientes sélectionnées à fin de définir les paramètres sociodémographiques et biochimiques. Nous nous sommes intéressés à quelques paramètres (glycémie, cholestérol total, triglycérides, ainsi que le cholestérol-HDL, et cholestérol-LDL).

1.4. Prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins se font le matin à jeûne, au niveau de la veine du pli du coude. Le sang est recueilli dans des tubes EDTA et héparinés.

Les tubes EDTA (anticoagulant et inhibiteur des nucléases, permettant ainsi à l'ADN de rester intact et ne pas se dégrader) : nous ont permis de constituer notre banque d'ADN. Les tubes héparinés ont servi à réaliser les dosages biochimiques.

2. Détermination des paramètres biochimiques

Le sang ainsi prélevé est centrifugé à 3000 tours pendant 15 minutes pour la séparation du sérum. Le plasma est conservé dans des eppendorfs qui sont utilisés pour le dosage des différents paramètres biochimiques (glycémie, cholestérol total, triglycérides, cholestérol-HDL, cholestérol-LDL). Le dosage du glucose se fait le jour même du prélèvement. Les échantillons ont été stockés au congélateur pendant un temps très court, ne dépassant pas un mois, afin d'éviter la dégradation des protéines et des lipides.

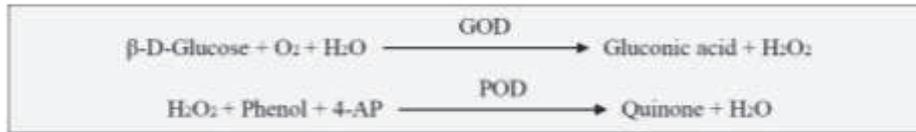
2.1. Dosage de la glycémie

Le glucose plasmatique est déterminé par une méthode enzymatique et colorimétrique en présence de la glucose oxydase (GOD) en utilisant un kit «SPINREACT ».

Le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde (POD) d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase et de phénol, oxyde un chromogène (Le 4-amino-antipyrine) incolore en couleur rouge à structure quinone imine. La coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose présente dans l'échantillon.

La lecture se fait en spectrophotométrie (Biowave II Biochrom) à une longueur d'onde de 505 nm.

Le schéma réactionnel est le suivant :

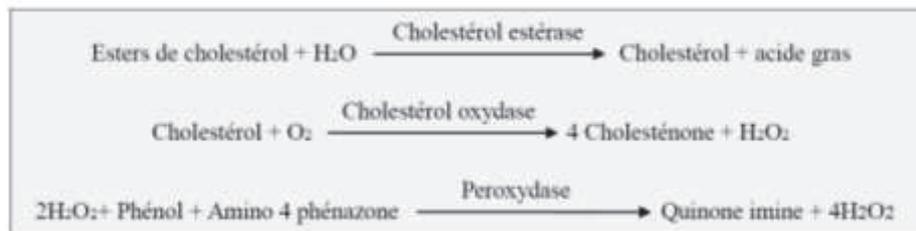


2.2. Dosage du cholestérol total

Le dosage du cholestérol total plasmatique est réalisé par une méthode colorimétrique enzymatique kit «CYPRESS DIAGNOSTICS».

Les esters de cholestérol sont hydrolysés par un cholestérol estérase en cholestérol libre et acide gras. Le cholestérol libre (CL) produit et celui préexistant sont oxydés par un cholestérol oxydase en cholesténone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase, est oxydé en composé coloré.

Le schéma réactionnel est le suivant :



L'intensité de la coloration de la quinone imine à 505 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon du sérum.

2.3. Dosage des triglycérides

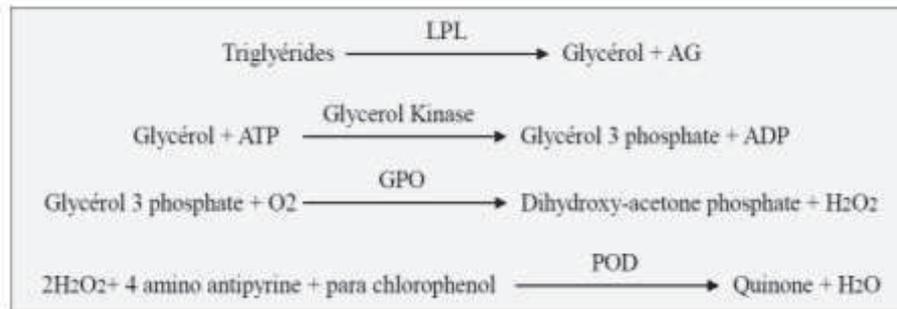
Le dosage des triglycérides a été effectué par une méthode enzymatique en utilisant un kit « SPINREACT ».

Grâce à l'action de la lipoprotéine lipase (LPL), les triglycérides sont hydrolysés en glycérol et en acide gras libre.

Le glycérol est ensuite transformé en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine diphosphate (ADP) par glycérol kinase et ATP. Le G3P est ensuite converti par glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en Dihydroxy-acétone (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Ce dernier réagit avec 4-aminophenazone (4-AP) et p-chlorophenol en présence de peroxydase (POD) donne un composé coloré en rouge.

Le schéma réactionnel est le suivant :



La concentration en quinone colorée (rose) mesurée à 505 nm (500-550) est directement proportionnelle à la quantité de TG contenue dans l'échantillon.

2.4. Cholestérol-HDL

Le dosage du cholestérol-HDL est effectué par méthode direct « détergent sélectif et accélérateur », en utilisant le kit «BIOLABO».

Au cours de la première phase, les particules lipoprotéines de basse densité (LDL), Lipoprotéines de très basse densité (VLDL), et Chylomicrons libèrent du Cholestérol libre qui est soumis à une réaction enzymatique, produit du peroxyde d'hydrogène, lequel est dégradé sous l'effet de la réaction avec la peroxydase (POD) et le N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium (DSBmT). Aucun dérivé coloré n'est formé. Au cours de la seconde phase, un détergent spécifique solubilise le cholestérol-HDL. Sous l'action combinée de la Cholestérol Oxydase(CO) et Cholestérol Estérase (CE), le couple POD +4-Aminoantipyrine (4-AAP) développe une réaction colorée proportionnelle à la concentration en cholestérol-HDL.

La lecture se fait en spectrophotométrie à une longueur d'onde de 546 nm.

La concentration du cholestérol-HDL a été calculée grâce à la formule suivante :

$$\Delta \text{ Abs} = (\text{A2} - 0.75 \text{ A1}) \text{ pour le dosage et le calibrateur.}$$

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{HDL-C} = \frac{\Delta \text{ Abs Dosage}}{\Delta \text{ Abs Calibrateur}} \times \text{concentration}$$

2.5. Cholestérol-LDL

Le cholestérol-LDL est calculé grâce à la formule de Friedewald, à condition que les TG soient inférieurs à 3.5 g/l (4mmol/l).

$$\text{Cholestérol LDL} = \text{Chol total (dosé)} - \text{Chol HDL (dosé)} - \text{Chol VLDL (calculé)}$$

Le cholestérol VLDL est estimé comme suit : TG/5 (les triglycérides étant exprimées en g/l).

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

La technique d'extraction d'ADN par le NaCl (Miller *et al.*, 1989) a été choisie en raison de sa rapidité, sa facilité ainsi que l'absence du risque de toxicité par des produits dangereux tels que le phénol. Cette technique comporte les étapes suivantes :

3.1. Lyse des globules rouges

Après décongélation au bain marie à 37°C, la lyse des globules rouges est réalisée en complétant le volume de sang avec une solution hypotonique TE 10/10 (Tris/HCl 10mM et EDTA 10mM ; pH = 8.0). Après lavage, les tubes sont mis dans la glace pendant 30 minutes (l'action conjuguée du Tris et du froid provoque un choc hypotonique conduisant à l'éclatement des globules rouges ayant une membrane fragile.) puis centrifugés à 2500 tours/min pendant 15min. la centrifugation quant à elle permet de séparer le surnageant qui contient les débris de globules rouges des globules blancs qui sont précipités au fond du tube formant un culot.

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

3.2. Lyse des globules blancs

Le culot de leucocytes est traité par 5ml de solution de lyse des globules blancs (Tris/HCl 10mM ; EDTA 0.1M et SDS 0.5% ; pH = 8.0). 100µl de protéinase K à 20 mg/ml sont additionnés pour digérer les protéines associées à l'ADN nucléaire. Après homogénéisation, le mélange est incubé au bain-marie à 37°C pendant une nuit. L'EDTA est un chélateur d'ions bivalents inhibant l'activité des DNases et le SDS est un puissant détergent lysant les membranes cellulaires et dissociant les complexes d'acides nucléiques.

3.3. Précipitation de l'ADN

Deux millilitres de NaCl 5M sont ajoutés dans chaque tube. Après une centrifugation de 10min à 4000 tours/min, le surnageant contenant l'ADN est transféré dans un autre tube et est précipité avec deux fois le volume d'éthanol froid. L'ADN est visible à l'œil sous forme de filaments formant une méduse. Cette dernière est récupérée et ensuite lavée avec une solution d'éthanol à 70% pour se débarrasser des traces éventuelles de sels, puis séchée et dissoute dans des tubes eppendorfs en présence de 100 à 600µl de TE10/1 (Tris/HCl 10mM et EDTA 1mM ; pH = 8.0) selon la taille de la méduse. L'ADN est dissout totalement dans ce tampon sous agitation douce à +4°C pendant plusieurs jours.

3.4. Dosage de l'ADN

Le dosage de l'ADN est effectué par la mesure de la densité optique par spectrophotométrie d'un aliquote dilué au 1/100 (20µl d'ADN + 1980µl d'eau distillée stérile).

Une première lecture à une longueur d'onde de 260nm nous permet d'estimer la densité optique des acides nucléiques. Une seconde lecture est effectuée à une longueur d'onde de 280nm afin de déterminer une éventuelle contamination par les protéines.

Pour avoir un critère de pureté indicatif, le rapport de DO_{260nm}/280nm est établi. Il doit être compris entre 1.5 et 2. Une valeur inférieure à 1.5 témoigne d'une contamination par les protéines, et une valeur supérieure à 2 d'une contamination par les sels. Une unité de DO à 260 nm correspond à une concentration d'ADN double brin à 50ng/μl d'ADN.

4. PCR« Polymerase Chain Reaction »

4.1. Principe

La PCR (Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérase en chaîne) est une technique d'amplification d'ADN *in vitro*. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie.

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : une **dénaturation** de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent, une **hybridation** des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis une **élongation** grâce à l'action d'une **ADN polymérase**. Ce cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible (la durée d'un cycle est de l'ordre de la minute).

Le **tableau 3** montre les amorces utilisées pour l'amplification du gène ACE.

Tableau 3. Amorces utilisées pour l'amplification du gène ACE.

Sens des amorces	Séquence nucléotidique
sens	5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3'
anti sens	5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGAT-3'

4.2. Condition de l'amplification ACE

4.2.1. Le Mix

L'amplification du gène de l'ACE est effectuée dans un mélange réactionnel de 50μl contenant 120 ng d'ADN, 1U de Taq polymérase (Invitrogén) dans 5μl de son tampon de réaction 1X additionné de 1.5mM de MgCl₂, de 7.8 pM du mélange des dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0.75 pM de chacune des deux amorces : EC3 et EC5.

Le mélange réactionnel est ajusté avec l'H₂O (qsp 50μl).

4.2.2. Les cycles d'amplification

1^{ère} phase : se réalise en un seul cycle comme suit :

- Une étape de dénaturation à 95°C pendant 5 minutes ;
- Une étape d'hybridation à 58°C pendant 1 minute ;
- Une étape d'élongation à 72°C pendant 2 minutes et 30 secondes.

2^{ème} phase : répétée en 34 cycles, chaque cycle contient les étapes suivantes :

- Une étape de dénaturation à 92°C pendant 1 minute ;
- Une étape d'hybridation à 58°C pendant 1 minute ;
- Une étape d'élongation à 72°C pendant 2 minutes et 30 secondes.

3^{ème} phase : extension d'amorces à 72°C pendant 10 minutes.

4.2.3. Test d'amplification

Si l'amplification aboutit, les amplimères du gène de l'ACE seront testés par une électrophorèse sur gel d'agarose à 3 %. La migration est réalisée à 90 Volts pendant 20 minutes, et la visualisation des bandes de migration se fait sous lampe UV par fluorescence au BET. La taille des bandes attendues est de 490 pb dans le cas de l'insertion et 190 pb dans le cas de la délétion, ce qui nous permet d'identifier les trois génotypes : **II**, **ID** et **DD**.

5. Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été réalisées grâce au logiciel MINITAB/version 16. Les résultats sont présentés en valeur et en pourcentage pour les variables qualitatives et par moyennes +/- écart types pour les variables quantitatives.

Les comparaisons entre les variables qualitatives ont été réalisées à l'aide du Khi-deux et les comparaisons entre les variables quantitatives ont été réalisées à l'aide du test « *t* » de Student. Les facteurs de risque liés à la ménopause sont déterminés par la régression logistique binaire. Tantôt la ménopause est considérée comme la variable réponse et tantôt c'est l'IMC qui est considéré comme la variable réponse. Les autres items étant considérés comme les

facteurs. Les résultats sont considérés comme significatifs à * $P < 0.05$ et hautement significatifs à ** $P < 0,01$.

Chapitre III : Résultats et interprétations

1. Caractéristiques de la population étudiée

L'étude porte sur une population de 40 femmes ménopausées et 30 femmes non ménopausées saines sans pathologies apparentes. Il est à noter que le taux de consanguinité dans la population d'étude est de 32.85%.

La moyenne d'âge d'apparition de la ménopause dans la population est de 49.15 ± 2.35 ans, avec des extrêmes allant de 40 à 55ans.

La révélation de la ménopause chez les femmes analphabètes apparaît plus tardivement que chez les femmes instruites avec une moyenne de 50.06 ± 1.93 ans, pour les analphabètes, primaires, et moyen contre 46.72 ± 3.02 ans, pour les secondaires et les universitaires (**tableau 4**).

Les pourcentages de ces dernières se répartissent comme tels :

- Pour les analphabètes, primaire, et moyen le pourcentage est de 87%.
- Pour les secondaires et les universitaires le pourcentage est de 13%.

Tableau 4. Niveau d'instruction de la population cas.

Niveau d'instruction chez la femme Ménopausée (m \pm ET ; ans)		Cas
Analphabète – primaire – moyen	50.06 ± 1.93	87%
Secondaire - Universitaire	46.72 ± 3.02	13%

*Abréviations : m \pm ET : moyenne \pm écart type.

Le **tableau 5** résume les données descriptives de la population ainsi considérée.

Tableau 5. Données descriptives de la population cas et de la population témoins.

Données descriptives	Témoins	Cas	P
Âge (m ± ET ; ans)	29.8 ± 5.03	56.8 ± 7.47	0.000
T taille/T hanche (m ± ET ; cm)	0.85 ± 0.05	0.91 ± 0.08	0.001
Diabétiques (%)	0%	15%	0.027
IMC (m ± ET ; Kg/m²)	25.93 ± 5.20	29.92 ± 5.89	0.004
IMC < 25	50%	17.5%	
25-30	16.66%	42.5%	
IMC > 30	33.33%	40%	
Hypertendues (%)	10%	37.50%	0.000
Pression artérielle (m ± ET ; mmHg)			
PAS	109 ± 11.86	121.75 ± 12.66	0.002
PAD	67.68 ± 10.35	74.5 ± 10.5	0.015
Habitat			
Collectifs	70%	67.5%	0.824
Individuelles	30%	32,5%	

*Abréviations : m ± ET : moyenne ± écart type.

La comparaison des moyennes entre femmes témoins et femmes ménopausées est effectuée par le test "t" de Student. Les variables qualitatives sont comparées en utilisant le test Khi2 :

*P < 0.05 différence significative, **P<0.01 différence très significative.

1.1. Âge

La moyenne d'âge des cas est de 56.8 ± 7.47 ans avec des extrêmes allant de 48 ans à 74 ans.

La moyenne d'âge des témoins est de 29.8 ± 5.03 ans avec des extrêmes allant de 22 ans à 39 ans.

On note que la moyenne d'âge des cas est significativement différente de la moyenne des témoins avec un $P < 0.01$.

1.2. Tour taille/Tour Hanche

Les résultats ci-dessus révèlent, pour les femmes ménopausées un rapport tour de taille sur tour de hanches au-delà de 0.85 cm signant un risque métabolique élevé alors que les non ménopausées présentent un rapport à la limite du risque. La moyenne du tour taille/ tour hanche des cas est de 0.91 ± 0.08 cm significativement plus élevée que celle des témoins qui est de 0.85 ± 0.05 cm ($P < 0.01$).

1.3. Diabète

Le pourcentage de diabétiques dans la population des cas est de 15%, contre 85% non diabétiques, la population témoins quant à elle ne présentait aucun cas de diabète ($P < 0.05$).

1.4. Indice de masse corporelle (IMC)

Le poids corporel et la taille sont enregistrés, l'indice de masse corporelle (IMC) est calculé selon l'indice de Quételet (poids/taille², Kg/m²).

La moyenne de l'IMC pour les cas est retrouvée égale à 29.92 ± 5.89 Kg/m², et celle des témoins égale à 25.93 ± 5.20 Kg/m². On note une différence significative entre la moyenne de l'IMC chez les cas et témoins ($P < 0.01$).

Parmi la population des cas 53.33% ont un IMC inférieure à 25, 42.5% ont un IMC compris entre 25 et 30, et 33.33% été supérieure à 30.

1.5. Hypertension

Parmi la population des cas, 37.50% sont hypertendus contre 62.5% non hypertendue, Chez la population témoins 10% sont hypertendus contre 90% non hypertendus.

L'hypertension artérielle a été retrouvée significativement plus élevée chez les cas par rapport aux témoins ($P < 0.01$).

1.6. Pression artérielle

La moyenne de la pression artérielle systolique des cas est de 121.75 ± 12.66 mmHg significativement plus élevée que celle des témoins qui est de 109 ± 11.86 mmHg ($P < 0.01$).

La moyenne de la pression artérielle diastolique des cas est de 74.5 ± 10.5 mmHg significativement plus élevée que celle des témoins qui est de 67.68 ± 10.35 mmHg ($P < 0.01$).

1.7. Type d'habitat

Concernant le type d'habitat on n'a pas trouvé une influence significative pour la population étudiée (P= 0.824).

2. Paramètres Biochimiques

2.1. Bilan glycémique

La moyenne de la glycémie des cas est de 1.11 ± 0.42 g/l et celle des témoins est de 0.89 ± 0.16 g/l, avec une valeur significative (P < 0.01) (**tableau 6**).

Tableau 6. Moyenne de la glycémie chez la population cas et témoins.

Paramètres	Témoins	Cas	P
Glycémie (m ± ET ; g/l)	0.89 ± 0.16	1.11 ± 0.42	0.008

*Abréviations : m ± ET : moyenne ± écart type.

2.2. Bilan lipidique

La moyenne de la cholestérolémie chez les cas est significativement plus élevée que chez les témoins avec une moyenne de 1.85 ± 0.46 g/l contre 1.52 ± 0.25 g/l (P < 0.01) (**tableau 7**).

Significativement plus élevée chez les cas, la moyenne des TG est de 1.09 ± 0.42 g/l pour les cas, contre 0.89 ± 0.33 g/l pour les témoins (P < 0.05) (**tableau 7**).

La moyenne du cholestérol-LDL chez les cas est de 1.08 ± 0.43 g/l significativement plus élevée que chez les témoins avec une moyenne de 0.84 ± 0.26 g/l (P < 0.01) (**tableau 7**).

La moyenne du cholestérol-HDL est de 0.57 ± 0.25 g/l chez les cas et 0.49 ± 0.11 g/l chez les témoins, représentant ainsi une variation non significative (P = 0.224) (**tableau 7**).

Tableau 7. Résultats du bilan lipidique.

Paramètres	Témoins	Cas	P
Cholestérol total (m± ET ; g/l)	1.52 ± 0.25	1.85 ± 0.46	0.001
Triglycérides (m±ET ; g/l)	0.89 ± 0.33	1.09 ± 0.42	0.035
Cholestérol-HDL (m± ET ; g/l)	0.49 ± 0.11	0.57 ± 0.25	0.224
Cholestérol-LDL (m± ET ; g/l)	0.84 ± 0.26	1.08 ± 0.43	0.009

*Abréviations : m ± ET : moyenne ± écart type.

3. Régression logistique binaire

Un modèle des facteurs de risque liés significativement à l'apparition de la ménopause a été déterminé grâce à la régression logistique. Les facteurs sont d'abord ajustés grâce à la régression des meilleurs sous-ensembles selon la valeur du R².

Les résultats du modèle ainsi obtenus sont résumés dans le **tableau 8**.

Tableau 8. Résultats de l'Étude du Modèle de Régression Logistique Binaire.

Prédicteurs	p-value	Odds Ratios	Intervalles de confiance à 95% des OR
Constante	0.006		
T taille/T hanche	0.046	55619.18	[0.32 ; 9.55]
IMC	0.341	1.08	[0.93 ; 1.25]
PAS	0.976	1.01	[0.56 ; 1.82]
PAD	0.652	0.85	[0.42 ; 1.71]
Cholestérol	0.032	50.16	[1.39 ; 18.48]
Cholestérol-LDL	0.969	1.07	[0.03 ; 37.63]
Cholestérol-HDL	0.274	12650.75	[0.00 ; 2.87]
Triglycérides	0.452	4.09	[0.10 ; 160.13]
HTA	0.324	3.43	[0.30 ; 39.57]
Diabète	0.998	1.5056	[0.00 ; 0.00]
Niveau d'instruction	0.002	0.37	[0.19 ; 0.69]

*Abréviations : OR : odds ratio ; CI : intervalles de confiance.

Le modèle statistique, a retenu le rapport tour de taille/tour de hanche (OR=55619.18, 95% IC=0.32 – 9.55), P<0.05 et le cholestérol (OR=50.16, 95% IC=1.39 –18.48), P<0.05 ainsi que le niveau d'instruction (OR=0.37, 95% IC=0.19 – 0.69), P<0.05.

Par contre le modèle a rejeté tous les autres facteurs (IMC, PAS, PAD, cholestérol-LDL, cholestérol – HDL, triglycérides, HTA, diabète).

3.1. Ajustement du modèle logistique

Le **tableau 9** justifie le choix du modèle logistique. En effet le test d'adéquation de l'ajustement par la méthode Pearson, la Somme des carrés d'écart, et Homers-Lemeshow accepte le modèle logistique, avec un P supérieur à 0.05.

Tableau 9. Test d'adéquation de l'ajustement.

Méthodes	Khi deux	DL	P
Pearson	58.90	60	0.51
Somme des carrés d'écart	69.15	60	0.19
Homers-Lemeshow	9.74	8	0.28

4. Exploration des données d'extraction de l'ADN

L'extraction et la purification des acides nucléiques sont les premières étapes dans la plupart des études de biologie moléculaire.

L'objectif des méthodes d'extraction des acides nucléiques dans le cas présent est d'obtenir des acides nucléiques purifiés, afin de pouvoir mener une analyse spécifique de détection de polymorphismes génétiques en utilisant la réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

La qualité et la pureté des acides nucléiques comptent parmi les facteurs les plus critiques pour l'analyse PCR.

La quantification de l'ADN et la détermination de sa pureté est réalisée grâce à la spectrophotométrie, en utilisant la longueur d'onde 260 nm qui est la zone d'absorbance maximale des acides nucléiques.

Le rapport R entre la longueur d'onde 260/280 nous permet de savoir s'il y a présence de protéines résiduelles dans la solution d'ADN.

Un rapport (R= 260/280 nm) inférieur à 1.5 nous indique une contamination aux protéines, par contre un rapport supérieur à 2 nous indique une contamination par les sels.

Le tableau suivant nous donne le pourcentage d'extrait pur, contaminé par le NaCl ou les protéines ainsi que la moyenne de la concentration de l'ADN obtenue.

Tableau 10. Moyenne de concentration des extraits d'ADN et pourcentage de pureté.

% d'échantillon d'ADN extrait pur obtenu	N= 6 (66.66%)
% d'échantillon d'ADN extrait contaminé par le NaCl	N= 1 (11.11%)
% d'échantillon d'ADN extrait contaminé par les protéines	N= 2 (22.22%)
Moyenne de la concentration ADN (ng/μl)	302.22

N : nombre d'échantillons.

La concentration d'ADN est calculée à partir de l'absorbance à 260 nm grâce à la formule suivante : DO 260 multipliée par le facteur de dilution multiplié par 50 = ng/μl. En sachant qu'une unité de DO correspond à 50ng/μl, et que le facteur de dilution est égal à 100.

5. Résultats des indications de liaisons

Malheureusement, l'amplification n'a pas pu aboutir car les extraits d'ADN ne sont pas totalement dissouts. Il est donc nécessaire de patienter afin que l'ADN soit complètement dissout et de continuer les manipulations pour rendre compte, de façon détaillée des indications de liaison pour chaque phénotype. Par ailleurs, il faudra travailler sur un échantillon plus grand pour voir si ce polymorphisme est lié à l'hypertension et l'obésité dans notre population.

Cet ADN est conservé et constituera une banque importante pour l'étude du polymorphisme du gène ACE dans le futur.

Discussion

Simple phénomène naturel commun à toutes les femmes du monde, la ménopause est marqué par l'arrêt des règles ainsi que par la cessation de l'ovulation et de la sécrétion par les ovaires des hormones sexuelles (œstrogènes et progestérone) (Shepell, 2010). Les conséquences pathologiques de la ménopause sont directement liées à la carence hormonale, notamment en œstrogènes et dont les effets se surajoutent à ceux du vieillissement (Kim et Halter, 2014).

On définit souvent l'obésité simplement comme une accumulation anormale ou excessive de graisse dans les tissus adipeux, pouvant engendrer des problèmes de santé. L'obésité abdominale, est associée à une morbidité et mortalité cardiovasculaire en particulier chez la femme, chez laquelle s'ajoute des circonstances spécifiques telles que la ménopause (Harvie et *al.*, 2003).

Notre travail vise à mettre en évidence l'existence de perturbations métaboliques chez les femmes ménopausées comparées aux femmes jeunes témoins dans la région de Tlemcen.

Les résultats obtenus, montrent que l'âge de l'installation de la ménopause apparaît plus précocement chez les femmes ménopausées instruites comparées aux femmes ménopausées analphabètes. En effet cela peut s'expliquer par le stress dont la femme ménopausée instruite est plus exposée. Le stress par le biais du système neuroendocrinien peut moduler le fonctionnement ovarien (Barnea et Tal, 1991). En réponse à une situation de stress, l'axe surrénalien est stimulé. Il en découle notamment une diminution de la fréquence et de l'amplitude des pics de GnRH sous l'action du corticotropin-releasing factor (CRF) hypothalamique. Les patientes présentent une aménorrhée secondaire d'origine hypothalamique (Letur-Könirsch et *al.*, 1995).

Concernant le rapport taille/hanche, nos résultats révèlent que les femmes ménopausées ont un rapport nettement augmentée comparée aux femmes témoins. En effet, la ménopause, a une influence sur la morphologie et la répartition de la masse grasse qui se concentre principalement sur le ventre et la taille. La carence œstrogénique lors de la ménopause inverse cette tendance et les graisses se concentrent sur le ventre, répartition «androïde», ce que démontre l'étude de Gambacciani et *al* en 1999. Ces auteurs ont comparé trois groupes de femmes de même âge et de même corpulence, non obèses, en pré-, péri, post ménopause. La distribution des graisses est différente selon le statut hormonal, avec une majoration significative, par rapport aux femmes en pré ménopause, du pourcentage de masse grasse abdominale chez les femmes en péri- et post-ménopause. Cette accélération de l'accumulation des graisses au niveau viscéral contemporaine de la ménopause explique l'augmentation de la

prévalence du syndrome métabolique constatée dans un certain nombre d'études au moment de la ménopause, quelles que soient la population et les ethnies considérées (Gambacciani et *al.*, 1999).

Les résultats obtenus, montrent que l'indice de masse corporelle est augmenté chez les femmes ménopausées comparés aux témoins. En effet, l'IMC reste un déterminant essentiel de l'obésité. La prévalence de l'obésité augmente régulièrement avec l'âge. Ainsi chez la femme, il existe une accélération de la prise de poids au moment de la ménopause. La carence œstrogénique induit une modification de la répartition des graisses qui se concentrent sur le ventre, répartition dite «androïde» (Karaouzene et *al.*, 2001).

Concernant l'hypertension et la pression artérielle, les différences sont retrouvées significatives dans notre population cas comparée à celles des témoins. En effet l'âge de la ménopause coïncide avec une augmentation de fréquence de l'hypertension, l'augmentation de la tension artérielle systolique s'explique en partie par une diminution de la compliance artérielle avec l'âge, laquelle est sensiblement corrélée à la prise de poids. Après la cinquantaine, l'hypertension est plus fréquente chez la femme. Cette prépondérance s'explique par la longévité féminine associée à l'augmentation des chiffres tensionnels avec l'âge. Les mécanismes potentiels à l'origine d'un effet favorable des œstrogènes sur la pression artérielle, sont mal connus. Une étude publiée en 2000 évoquait une possible implication des canaux calciques (Arnal et *al.*, 2003).

Pour le diabète, nos résultats montrent une augmentation du nombre de cas chez la femme ménopausée comparée aux témoins. Cela peut s'expliquer par la présence de femmes ménopausées en surpoids et obèses dans notre population. En effet l'obésité abdominale et le diabète de type 2 représentent deux facteurs de risque des syndromes métaboliques en particulier après la ménopause (James, 2002).

Par ailleurs, une augmentation significative du taux plasmatique en glucose par rapport aux taux des femmes témoins a été observée. En effet, l'excès pondéral, l'obésité androïde, les changements diététiques, le manque d'exercice physique, plus fréquents avec l'avancement en âge, concourent à ce que la femme ménopausée présente plus fréquemment une mauvaise tolérance au glucose voire un diabète de type II (presque 20% entre 55 et 65 ans). De plus, la déficience œstrogénique peut jouer un rôle dans la décroissance de la sécrétion insulinique pancréatique (Alain et *al.*, 2005).

Nos résultats montrent que les teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides sont élevées chez les femmes ménopausées comparées aux femmes témoins. Ceci est en accord avec d'autres auteurs qui confirment qu'à la ménopause, des modifications pouvant toucher toutes les fractions lipidiques. L'association ménopause-obésité aggrave l'hyperlipidémie (Liu et al., 2014). Il a été démontré que le cholestérol total s'élève avec l'installation de la ménopause, lié à l'élévation du LDL cholestérol, suite à une diminution de l'activité des récepteurs cellulaires aux LDL (Turpin et Bruckert, 1999). Les taux en HDL cholestérol diminuent avec l'âge et après la ménopause. Par ailleurs, la ménopause provoque une augmentation du taux des triglycérides, qui est favorisée par certains facteurs comme l'obésité, un déséquilibre alimentaire, la sédentarité, fréquemment retrouvés chez les femmes ménopausées (Janiszewski et al., 2008).

Concernant la régression logistique binaire, le modèle a retenu le rapport taille/hanche, le cholestérol et le niveau d'instruction, par contre il rejette les autres facteurs. Ces facteurs auraient pu être significatifs si l'échantillon était de taille plus importante. Toutefois, d'après de nombreuses études, le rapport tour de taille/hanche devient plus important à la ménopause (Gambacciani et al., 1999 ; Basdevant et Gay-Grand, 2004).

Dans notre étude, ce rapport est trouvé significativement plus élevé chez la population cas. Indépendamment à l'IMC, ce caractère peut constituer un facteur de risque des maladies métaboliques.

Ces résultats tendent à démontrer que l'obésité au cours de la ménopause entraîne des troubles du métabolisme glucidique et lipidique. Sur de nombreux points, la pratique régulière de l'activité physique, à partir de la ménopause, peut s'opposer ou limiter la prise de poids en aidant au maintien de la masse maigre et donc d'un bon niveau de dépense énergétique, un élément indispensable de la gestion du poids en général, et au moment de la ménopause en particulier.

Conclusion

Phénomène biologique universel, la ménopause est aujourd'hui envisagée à la fois comme un éventuel problème de santé au niveau individuel, par les facteurs de risque qu'implique ses conséquences et par les facteurs socioéconomiques qu'implique sa prise en charge en cas de développement de pathologies, comme un problème de santé publique.

La prise de poids s'installe doucement avec le temps et cela bien avant la cinquantaine. Si les modifications corporelles sont nettes à la ménopause, l'histoire a commencé plus tôt car la masse grasse augmente à partir de 25–30 ans au détriment de la masse maigre. Tout se joue donc avant 50 ans.

Le contrôle du poids a un rôle essentiel pour la santé ultérieure des femmes ménopausées et doit être considéré tôt, en période péri ménopausique afin de sauvegarder cette qualité de vie chez les femmes. Ainsi, la pratique d'activités physiques à intensité modérée, comme la marche, associée ou non à une restriction calorique, permet d'améliorer la santé cardio-métabolique des femmes ménopausées.

La dyslipidémie reste fréquente chez la femme ménopausée, sa prise en charge nécessite la neutralisation des autres facteurs de risque et la promotion d'une hygiène de vie saine.

En effet, les résultats obtenus dans ce travail mettent en évidence de nombreuses anomalies métaboliques chez les femmes ménopausées de la région de Tlemcen. Ces modifications métaboliques sont accentuées en présence conjointe de l'obésité. Il existe une aggravation des troubles lors de l'association ménopause – obésité suite à l'ajout des altérations métaboliques spécifiques à l'obésité notamment l'insulino – résistance. Bien que la ménopause ne soit pas une maladie, la femme ne doit pas négliger ces modifications métaboliques qui peuvent exposer à la survenue de pathologies graves telles que le diabète, les maladies cardiovasculaires ou les cancers. Un bilan de santé régulier incluant l'analyse des différents paramètres biochimiques sanguins doit être réalisé par chaque femme en période de ménopause.

Un message important doit être pris en considération par toutes les femmes :

« Privilégier une bonne hygiène de vie, l'exercice physique et la lutte contre le surpoids aide à mieux vivre la ménopause ».

Références bibliographiques

A

Abu-Abid S, Szold A, Klausner J. 2002. Obesity and cancer. *Journal Medecine.*, 33: 73-86.

Adams J, Murphy P. 2000. Obesity in anesthesia intensive care., 86:91-108.

Agachan B, Isbir T, Yilmaz, H, Akoglu E. 2003. Angiotensin converting enzyme I/D, angiotensinogen T174M-M235T and angiotensin II type 1-receptor A1166C gene polymorphisms in Turkish hypertensive patients. *Expérimental & Moléculaire Médecine.*, 35: 545–549.

Alain C, Chevalier P, Christin-M S, Clemence Y. 2005. Intérêt des dosages hormonaux de FSH et LH chez les femmes à partir de 45. *JL. Médecine thérapeutique.*, 4: 299-301.

Arbouche Lezoul Z. 2007. Les effets du traitement substitutif post ménopausique chez la diabétique de type 2, sur le métabolisme des lipoprotéines et le métabolisme glucidique, *Science Médicales.*, Université d'Alger., p 11.

Arnal J, Gourdy P, Garmy-Susini B, Delmas E, Bayard F. 2003. Effets vasculaires des oestrogènes. *Med Sci.*, 19: 1226-32.

Astrup A. 1999. Physical activity and weight gain and fat distribution changes with menopause: current evidence and research issues. *Med Scie Spots Exec.*, 31:534-7.

Avis N, Stellato R, Crawford S, Bromberger J, Ganz P, Cain V, Kagawa-singer M. 2001. Is there a menopausal syndrome. Menopausal status and symptoms across racial/ethnic groups. *Soc Sci Med.*, 52(3): 345-56.

B

Barnea E, Tal J. 1991. Stress-related reproductive failure. *In Vitro Fert Embryo Transf.*, 8:15-23.

Barrett-Connor E. 1995. Sex differences in coronary heart disease. Why are women so superior The Ancel Keys Lecture. *Circulation.*, 95: 252–64.

Basdevant A, Gay-Grand B. 2004. Médecine de l'obésité. *Médecine Sciences Flammarion édition.*, P3-412.

Berdah J. 2010. La femme et le syndrome métabolique. Réalités en nutrition et en diabétologie., 27 : 23-27.

Berdah J. 2006. Staying fit after fifty. Gynécologie Obstétrique & Fertilité., 34 : 920–926.

Bernis, C. 2001. Transition ménopausique : une vision globale, Conférence au Workshop, Madrid., 12-18.

Brewster U, Perazella M. 2004. The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: effects on kidney disease. American Journal of Medicine., 116: 263–272.

Burt V, Whelton P, Roccella E, Brown C, Cutler J, Higgins M. 1995. Prevalence of hypertension in the US Adult Population Results From the Third National Health and nutrition Examination Survey, 1988-1991. Hypertension., 15: 305-13.

C

Calle E, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun M. 2003. Overweight, obesity and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. J Med., 348(17):1625–38.

CambienF, Soubrier F. 1995. The angiotensin-converting enzyme: molecular biology and implication of the gene polymorphism in cardiovascular diseases. Hypertension: pathophysiology, Diagnosis, and Management, Second Edition., 359: 641–644.

Canonico M, Calle E, Duclos M. 2005. Hormone therapy and venous thromboembolism among postmenopausal women: impact of progesterone, the ESTHER study. World Congress on the menopause., Buenos Aires, Argentina.

Carluccio M, Soccio M, Caterina R. 2001. Aspects of gene polymorphisms in cardiovascular disease : the renin-angiotensin system. European Journal of Clinical Investigation., 31: 476–488.

Carr M. 2003. The emergence of the metabolic syndrome with menopause., 88: 2404-11.

Cosman F. 2005. The prevention and treatment of osteoporosis: a review., 7 (2) : 73-79.

D

Darne B, Girerd X, Safar M, Cambien F, Guize L. 1989. Pulsatile versus steady components of blood pressure: a cross-sectional analysis and a prospective analysis on cardiovascular mortality. *Hypertension.*, 13: 392-400.

Day D. 2005. Sex hormone suppression reduces resting energy expenditure and β -adrenergic support of resting energy expenditure. *J Clinical Endocrinology Metabolic.* 90:3312–7.

Degardanne C. 1816. Avis aux femmes qui entrent dans l'âge critique. Paris : Gabon., 1816.

Didier A, Mailhol C. 2011. Asthme, alimentation et obésité. *Revue française d'allergologie.*, 51: 126-129.

Drapeau C. 2004. La sage ménopause. *Guide ressources.*, 8 : 9-16.

Duclos M. 2005. Ménopause et prise de poids. Rôle de l'activité physique. *Diabète& facteurs de risque.*, 3:350–385.

E

Eric L, Yiqing S, Manson J. 2009. Sex Hormone-Binding Globulin and Risk of Type 2 Diabetes in Women and Men. *J Med.*, 361:1152-63.

G

Gambacciani M, et al. 1999. Climacteric modifications in body weight and fat tissue distribution. *climacteric.*, 2: 37– 44.

Giner V, Poch E, Bragulat E, Oriola J, Gonzalez D, Coca A, Sierra, A. 2000. Renine-angiotensin system genetic polymorphisms and salt sensitivity in essential hypertension., 35: 512–517.

Greendale G, Lee N, Arriola E. 1999. The menopause. *Lancet.*, 353: 571-80.

H

Harvie, M., Hooper, L., Howell, A. 2003. Central obesity and breast cancer risk: a systematic review. *Obesity reviews.*, 4: 157-173.

Haslam D, James WPT. 2005. Obesity. *Lancet.*, 366: 1197-1209.

J

Jacob N, Bruckert E, Giral P, Foglietti J, Turpin G. 1999. Cysteine is a cardiovascular risk factor in hyperlipidemia patients. *Athéroscléroses.*, 146: 53-59.

James W. 2002. Particularités de la dyslipidémie du diabète. *Revue Médicale Suisse.*, 61:219-234.

Jamin R. 2001. Évaluation du poids et du morphotype des Françaises en consultation de gynécologie. *Gynéco Obste Fertil.*, 29:814–20.

Janiszewski P, Kuk J, Ross R. 2008. Is the reduction of lower-body subcutaneous adipose tissue associated with elevations in risk factors for diabetes and cardiovascular disease *Springer.*, 51:1475-1482.

K

Kaaks R, Lukanova A, Kurzer M. 2002. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review, *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev.*, 11 (12): 1531-1543.

Kacalska-Janssen O, Rajatar-Ciosek A, Zmaczynski A, Wyroba J, Milewsz T, Sendrakowska, M, Krzysiek J. 2013. Markers of insulin resistance in premenopausal women with endometrial pathology., 84: 922-929.

Kastarinen M, Nissinen A, Vartiainen E. 2000. Blood pressure levels and obesity trends in hypertensive and normotensive Finnish population from 1982 to 1997. *J hypertension.*, 18:255-62.

Karaouzene N, Merzouk H, Aribi M, Merzouk SA, Yahia Berrouiguet A, Tessier C, Narce M. 2011. Effect of the association of aging and obesity on lipids, lipoproteins and oxidative stress biomarker: A comparison of older with young men. *Nutrition Metabolism & Cardiovascular Diseases.*, 21: 792-799.

Kenchalal S, Evans J, Levy D, Wilson P. 2002. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med.*, 347:305-13.

Key T, Appleby P, Reeves G, Roddam A, Dorgan J, Longcope C, Miller S. 2003. Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women, *Journal National Cancer Institut.*, 95: 1218-1226.

Kim C, Halter J. 2014. Endogenous sex hormones, metabolic syndrome, and diabetes in men and women., 16: 467-474.

L

Letur-Könirsch H, Raoul-Duval A, Cabau O, Bomsel-Helmreich W, Mufti F. 1995. Stress and premature menopause., 318:691-8.

Liu Y, Wang D, Li D, Sun R, Xia M. 2014. Associations of Retinol-binding protein 4 with oxidative stress, inflammatory markers, and metabolic syndrome in a middle-aged and elderly Chinese population., 24:25-30.

London M, Guerin P, Pannier B, Marchais J. 1995. Simple menopause influence of sex on arterial hemodynamics and blood pressure. Role of body height *Hypertension.*, 26 : 514-519.

M

Maruoka R, Tanabe A, Wanatabe A, Nakamura K, Tanaka T, Terai Y, Ohmichi M. 2014. Ovarian estradiol production and lipid metabolism in post-menopausal women. *Menopause.*, 24: 233-238.

Mayor S. 2013. Type 2 diabetes triples risk of early menopause, study shows. *BMJ.*, 27 347-352.

Muneta S, Dazai Y, Iwata T, Hiwada, K, Matsuura S, Murakami E. 1992. Receptor reflex impairment in climacteric and ovariectomie hypertensive women. *Hypertens Res.*, 15 : 27-32.

O

Organisation Mondiale de la santé 1996. Ménopause : La ménopause selon l'organisation Mondiale de la santé.

Owens J, Stoney C, Matthews K. 1993. Menopausal status influences ambulatory blood pressure levels and blood pressure changes during mental stress. *Circulation.*, 88: 2794-2802.

P

Pannaral G, Acconcia M, Licitra R, Centaro E, Pannitteri G. 2013. Blood pressure control and clustering of cardiovascular risk factor in Mediterranean post-menopausal hypertensive women. *Rev Med Pharmacology Sci.*, 17 (8): 1017-1024.

Park Y, Svendsen O, Manson J. 2003. The Metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the third national health and nutrition examination Survey., *Arch Intern Med.*, 163:427–36.

Pines A, Fishman E, Levo Y, Drory Y, Ben-Ari, E, Motro M. 1993. Menopause-induced changes in left ventricular wall thickness. *Am J Cardiol.*, 72: 240-241.

R

Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, Tarpey M, Freeman A, Griending K, Harrison G. 1996. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *European Journal of Clinical Investigation.*, 97: 1916–1923.

Reaven G. 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes, Banting Lecture.*, 37:1595–607.

Riesco E, Vallée K, Tessier S, Mauriége P. 2008. Impact de l'activité physique seule ou combinée à une diète sur le syndrome métabolique chez les femmes ménopausées. *Springer.*, P: 1-2.

Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. 1990. An insertion-deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *Journal of Clinical Investigation.*, 86: 1343–1346.

S

Salehi R, Metemavele M, Goldust M. 2013. Risk factors of coronary artery disease in women. *Pak J Bio Sci.*, 15: 195-197.

Sayed-Tabatabaei F, Oostra B, Isaacs A, van Duijn C, Witteman J. 2006. ACE Polymorphisms. *Circulation Research.*, 98: 1123-1133.

Scheen A. 1996. Comment j'explore Les troubles métaboliques chez la femme ménopausée. *Rev Med Liège.*, 3: 254-256.

Shepell F. 2010. La ménopause. *Travail. Santé. Vie.*, 11: 1-2.

Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C. 1988. Two putative active centers in humans angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc. Natl. Acad. sci. USA.*, 85 : 9386-90.

Staessen A, Wang G, Ginocchio G, Petrov V, Saavedra P, Soubrier F, Vlietinck R, Fagard R. 1997. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *Journal of Hypertension.*, 15: 1579–1592.

T

Taurelle R, Tamborini A. 1997. La ménopause. *Masson.*, p 230.

Terrent S, Solari F. 2012. L'homéostasie métabolique au cœur du vieillissement médecine/science., 28 : 311-315.

Turpin G, Bruckert E. 1999. Hypercholesterolemia. Masson ., p 102.

V

Virally M, Motro M, Hubert C, Witteman J. 2005. Diabète de type 2 et insulinothérapie : situations transitoires et définitives. JL. STV., 9: 525-32.

W

Wannamethee S, Shaper A. Saavedra A. 1999. Weight change duration of overweight and obesity in the incidence of type 2 diabetes. Diabetes Care., 22:1266-72.

Wee C, McCarthy E, Davis R, Phillips R. 2004. Obesity and breast cancer screening, Gen Intern Med. 19: 324-331.

World Health Organisation. 2000. Obesity. : Preventing and Managing the Global epidemic in World Health Organisation.

Y

Yousefzadeh G, Mahdavi-Jafari F, Shokoohi M, Najafi H, Haghdoost A, modares-Nejad V. 2013. Modulation of coronary artery disease risk factors by menopausal status: A population based study among Iranian women (KERCADR Study). Atherosclerosis., 9: 332-336.

Z

Zhu S. 2004. Combination of BMI and waist circumference for identifying cardiovascular risk factors in whites. *Obes Res.*, 12:633–9.

Ziegler O, Dedry O. 1998. *Epidémiologie des obésités de l'adulte*. Elsevier, Paris, *Endocrinologie-Nutrition.*,10:206-2.

Annexe

Questionnaire

Code :

Date :

Nom et Prénom :

Localité :

Les données sociodémographiques

Âge : ...

Âge de révélation de la ménopause : ...

Niveau d'instruction :

Type d'habitat : ...

Consanguinité : 1. Oui 2. Non

Paramètres de la santé

Poids (kg) :

Taille (cm) :

Tour de taille (cm) :

Tour des hanches :

IMC :

PSA : PDA :

Diabétique : 1. Oui 2. Non

Hypertension : 1. Oui 2. Non

Paramètres biologiques

Glycémie :

Bilan lipidique

Cholestérol :

Triglycéride :

HDL :

LDL :

Tableau A 1. Préparation des solutions d'extraction.

Solutions	Explications
Préparation de 500ml EDTA (0.5 M ; PH = 8)	Faire dissoudre 93.06g de EDTA dans 400ml d'eau distillée puis ajuster jusqu'au 500ml, et avec du NaOH (5M) règle le PH à 8.
Préparation de 500ml Tris HCl (1M ; PH=8)	Faire dissoudre 60.57g de EDTA dans 400ml d'eau distillée puis ajuster jusqu'au 500ml, et avec du HCl règle le PH à 8.
Préparation de 100ml de SDS 10%	Pour 10% : 10 g -----> 100ml eau distillée.
Préparation de NaCl (5M)	Pour 5M: 292.25 g -----> 1000ml eau distillée.
Préparation de 2L de TE10/10	20ml tris-HCl (1M, pH=8) 40ml EDTA (0.5M, pH=8) qsp 2L eau distillée.
Préparation de 1L de TE10/1	10ml tris-Hcl (1M, pH=8) 2 ml EDTA (0.5M, pH=8) qsp 1L eau distillée.
Préparation de 200ml de solution de lyse des globules blancs (SLB)	2ml tris-Hcl (1M, pH=8) 40ml EDTA (0.5M, pH=8) 10ml SDS (10%) qsp 200ml eau distillée.

Résumé

L'étude est réalisée sur un échantillon de 40 femmes ménopausées et 30 femmes non ménopausées, afin de déterminer les modifications métaboliques chez les femmes ménopausées, de la région de Tlemcen. Les résultats obtenus montrent que le modèle statistique de la régression logistique, a retenu le rapport tour de taille/hanche (OR=55619.18, 95% IC= 0.32 – 9.55), $P<0,05$ et le cholestérol (OR=50.16, 95% IC=1.39 –18.48) $P<0,05$, ainsi que le niveau d'instruction (OR=0.37, 95% IC=0.19 – 0.69), $P<0,05$. Par contre le test du Khi-deux a montré des différences significatives de l'IMC, du nombre de patientes hypertendues et diabétiques entre les cas et les témoins. La création de la banque d'ADN a été réalisée par la méthode d'extraction « Salting out » en vue de l'étude du polymorphisme du gène de l'ACE.

Mots clés : ménopause, obésité, Tlemcen, HTA, ADN.

Abstract

The study was conducted on a sample of 40 postmenopausal women and 30 premenopausal women to determine metabolic changes in postmenopausal women, in the Tlemcen region. The results obtained show that the statistical model of logistic regression retained the waist / hip circumference ratio (OR = 55619.18, 95% CI = 0.32 – 9.55), $P < 0.05$ and cholesterol (OR = 50.16, 95% CI = 1.39 -18.48), $P < 0.05$ as the level of education (OR = 0.37, 95% CI = 0.19-0.69), $P < 0.05$. As against the Chi-square test showed significant differences in BMI, the number of patients with hypertension and diabetes between cases and controls. The creation of the DNA library was performed by the method of extraction "Salting-out" for the study of polymorphism of the ACE gene.

Keywords: menopause, obesity, Tlemcen, ACE gene, DNA.

ملخص

أجريت الدراسة على عينة مكونة من اربعون امرأة يحضن وثلاثون لا يحضن لتحديد التغيرات الايضية عند المرأة بعد سن اليأس، في منطقة تلمسان. النتائج التي تم الحصول عليها تشير ان النموذج الاحصائي من الانحدار اللوجستي، احتفظ بالنسبة قياس الخصر/ نسبة محيط الورك (يو = 55619.18، 95 %، سي= 0.32 – 9.55)، بأصغر من 0,05، والكوولسترول (يو=50,16، 95 %، سي=48,18-1,39)، بأصغر من 0,05، فضلا عن المستوى التعليم (يو=0,37، 95 %، سي=0.19-0.69)، بأصغر من 0,05. مقابل أظهر اختبار مربع كاي فروق ذات دلالة إحصائية في مؤشر كتلة الجسم، وعدد من المرضى الذين يعانون من ارتفاع ضغط الدم والسكري بين الحالات والضوابط. تم إنشاء مكتبة الحمض النووي من خلال طريقة استخراج "التمليح التدريجي" لدراسة تعدد الأشكال من الجين ايس.

كلمات مفتاح: سن اليأس، السمنة، تلمسان، الحمض النووي، الجين ايس.