REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Biologie Médicale

Par :

Mlle **BOUAHMED Fatiha**
Mme **BELDJOUHAR Fatima**

L'évaluation des LDL oxydés et de la peroxydation lipidique chez les patients diabétique et atteints d'affections cardiovasculaires

Soutenue publiquement le :30 /09/2017, Devant le jury composé de :

Mme ABES. R	MCB	Université de Médéa	Présidente
Mr Othmanin. K	MAA	Université Chlef	Examinateur
Dr. Selmani. A	Docteur spécialiste	EPH de Médéa	Invité d'honneur
Mr Nabi. I	MAA	Université de Médéa	Encadreur
Mr Atsamnia. D	MAA	Université de Médéa	Co-encadreur

Année universitaire2016/2017

Résumé :

La présente étude examine les degrés d'obésité, hypertension, bilan lipidique, le taux d'oxydation d'LDLs et le statut oxydatif chez les patients atteints d'affection cardiovasculaires (**CVD**) et diabétiques (**DT2**). Quatre vingt (80) sujets sont pris -pour étude- sur 200 patients répertoriés dans différentes enceintes hospitalières. Les paramètres mesurés sont les indices anthropométriques (âge, Poids, Tour de taille **TT** et **IMC**) ; et bilan biochimique (**Glyc**,**CHOL**, **TG**, **LDL** et **HDL**) ; le statut antioxydant total par mesure d'inhibition **d'ABTS** ; l'évaluation de la peroxydation lipidique **TBARS** et la quantification de la concentration d'LDL oxydé **Ox-LDL** par la méthode ELISA. Nos résultats montrent que la majorité des patients (>50%) sont en surpoids et obèses et que le **CHOL,TG**, **LDL** augmentent avec les degrés **d'IMC**. Nous démontrons un effet significative des maladies atteintes sur la majorité des paramètres biochimiques ; le groupe **CVD** présente des taux **CHOL,TG**, **LDL** et **Glyc** et **d'Ox-LDL** significativement ($p<0.01$) les plus élevés en comparaison avec les **Témoins** ; Les taux de **TBARS** et d**'ABTS** présentent un niveau supérieur sans degré significatif chez les patients **DT2**. Nos données suggèrent que l'oxydation des LDLs (**Ox-LDL**) augmente en corrélation positive avec **l'âge** ($r = 0.35$), **CHOL** et **TG** (0.24 et 0.22) et avec **Glyc** ($p<0.001$). Aux achèvements de nos objectifs, nous démontrons a travers cette étude que l'Ox-LDL, et le statut oxydatif pourrait constituer un portfolio évaluateur des risques cardiovasculaires chez les personnes cliniquement non expressifs. Bien que l'évaluation du statut oxydatif pourrait être instruit facilement et directement sur sérums, il semble insuffisant que ces mesures pourraient refléter le pronostic clinique ou bien l'aspect de prise en charge des patients à risque ou qui peut présenter une lésion vasculaire potentiellement silencieuse. D'autres études sont nécessaires pour y être un supplément à notre travail, en particulier, les éléments marqueurs qui pourraient améliorer la prédiction sub-clinique des facteurs prédisposant les affections cardiovasculaires.

Mots clés:
Maladies cardio-vasculaires ; Diabète ; Dyslipidémie ; Stress oxydatif ; OxLDL ; TBARS ; ABTS

Abstract:

The present study has examined the degrees of obesity, hypertension, lipid profile, LDL oxidation and oxidative status in patients with cardiovascular disease (**CVD**) and diabetes (**T2D**). Eighty (80) subjects were taken from 200 patients in different hospital facilities (EPH of Medea, EPH of Blida). The parameters measurements are the anthropometric indexes (age, weight, Waist circumference TT and **BMI**); glycemia **Glyc** and lipid profile (Cholesterol **CHOL**, Triglycerides **TG**, **LDL** and **HDL**) ; the total antioxidant status by ABTS inhibition; the evaluation of the lipid peroxidation **TBARS** and the quantification of the oxidized LDL **Ox-LDL** concentration by the ELISA method. Our results are showing that the majority of patients (> 50%) are overweight and obese and that **CHOL**, **TG**, **LDL** increases with degrees of **BMI**. We demonstrate a significant effect of the reached diseases on the majority of the biochemical parameters; the **CVD** group has significantly higher (P <0.01) **CHOL**, **TG**, **LDL**, and **Glyc** et **Ox-LDL** compared with controls. **TBARS** and **ABTS** levels were higher in **DT2** patients with no significant rank. Our data suggest that oxidation of LDLs (**Ox-LDL**) is correlated positively with **age** (r = 0.35), **CHOL** and **TG** (0.24 and 0.22) and with **Glyc** (**0.46**) (p <0.001). By achieving our goals, we demonstrate through the present study that Ox-LDL and oxidative status could be a cardiovascular risk assessment portfolio for clinically non expressive individuals. Although the assessment of oxidative status could be readily and directly evaluated on serum, well it seems insufficient that these measurements could reflect the clinical prognosis or the management aspect of patients at risk or who may present a potentially silent vascular lesion. Further studies are needed to be a supplement to our work, in particular, marker elements that could improve the subclinical prediction of predisposing factors for cardiovascular conditions.

Key-words:
Cardio-vascular disease ; Diabetes ; Dyslipidemia, Oxidative stress; OxLDL ; TBARS; ABTS

الخلاصة :

تهدف هذه الدراسة إلى فحص درجة السمنة، ارتفاع ضغط الدم، الدهون، ودرجة التأكسد لدى مرضى القلب والأوعية الدموية (**CVD**) و مرضى داء السكري (**DT2**). أخذنا ثمانين(80) شخصا من أصل 200 مريض من عدة منشآت صحية (مستشفى المدية و البليدة) باستنادنا على استعدادهم المحتمل لإصابتهم بخلل بالأوعية الدموية, خاصة أولئك الذين يعانون من اضطرابات دهنية, إرتفاع في ضغط الدم أو ارتفاع في نسبة سكر الدم. أخذنا بعين النظر إعدادات لقياس المؤشرات الإثنية (العمر، الوزن، محيط الخصر **T T** ؛ نسبة سكر الدم **Glyc** و البيانات الدهنية (الكولسترول **CHOL**, الدهون الثلاثية **TG** , **LDL**,و **HDL**) بطرائق انزيمية لونية, وضع الأكسدة العام بقياس تثبيط **TBARS**؛ وتقييم نسبة تأكسد الدهون **ABTS** , و كذا تقدير التركيز الكمي لـ **LDL** المؤكسد **Ox-LDL** بطريقة ELISA . نتائج البحث تبين أن غالبية المرضى (< 50٪) يعانون من زيادة الوزن والبدانة، و أن قياسات **LDL ,TG, CHOL** تزداد مع درجات مؤشر كتلة الجسم **IMC** أيضا تأثير بالغا بحيث $p<0.01$ لأمراض المصابة على غالبية البيانات البيوكيميائية حيث تظهر فئة **CVD** مستويات أعلى لـ **LDL ,TG, CHOL** و **Glyc** ،

(0.55 ± 2.10 ؛ 0.64 ± 1.55؛ 0.49 ± 1.39 ؛ 0.84 ± 2.38 جم/لتر على التوالي) مقارنة مع الفئة السليمة (0,31±1,5 ؛ 0,91±0,34 ؛ 0,89±0,3 ؛ 0,8±0,15 على التوالي) ؛ في حين أنه لا يوجد أي فرق بين **CVD** و **DT2**

أظهرت فئة **DT2** بيانات أعلى لـ **TBARS** و **ABTS** دون أثر بالغ.أظهرت فئة **CVD** بيانات أعلى بشكل بالغ جدا للمستوى الكمي لـ **Ox-LDL** , مقارنة بالأصحاء (120.9±403 مقابل 100.97±263,4 نغ/مل). إن البيانات المتوفرة تشير إلى أن مستويات **Ox-LDL** ترتبط إيجابا مع كل من تقدم العمر(ر=0,35), **CHOL** و **TG** (0,24 , 0,22), و مع نسب سكر الدم (0,46). ببلوغنا سداد الأهداف المرجوة, بيّنا من خلال هذه الدراسة أن الحالة العامة للتأكسد و **Ox-LDL** يمكن اعتبارها أداة لتقييم مخاطر الإصابة بأمراض القلب و الأوعية الدموية لدى الأفراد غير المعبرين لأعراض مرضية. على الرغم من أن تقييم وضع الأكسدة يتسم بسهولة تطبيقه بشكل مباشر على مصل الدم ، فإن تدابيره لا تبدو مناسبة لتشخيص العواقب المرضية أو جانب من جوانب الرعاية الصحية للمرضى المعرضين للخطر أو أولئك المصابين بخلل صامت محتمل في الأوعية الدموية. و منه فإن هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتكملة عملنا، وعلى وجه الخصوص، تلكم العناصر الخلوية المؤشرة و التي بإمكانها أن تحسن في تنبؤ التشخيص المسبق للعوامل المؤثرة في الأمراض القلبية الوعائية.

الكلمات المفتاحية : أمراض القلب و الأوعية الدموية , مرض السكري , الخلل الدهني , التوتر التأكسدي , **ABTS , TBARS , Ox-LDL**

Remerciements

Tout d'abord, ***louange à Allah****, seigneur de l'univers ; comme il se doit, pour la majesté de Ta Force et l'immensité de Ton pouvoir.*

Par ce mot que les compagnons ouvraient le livre, nous exprimons notre reconnaissance totale à ***Allah*** *de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage pour accomplir ce travail modeste et de nous avoir éclairé le chemin de la réussite. Au nom d'****Allah*** *nous commençâmes et à son nom nous avons clôturé.*

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur, ***Docteur NABI Ibrahim****, MAA à l'université de Yahia Fares de Médéa, qui a encadré et dirigé ce travail depuis les premiers instants. Nous le remercions pour son sérieux et ses efforts afin de nous aider, de nous conseiller et de nous orienter, son ouverture d'esprit, sa rigueur et sa vision de la recherche scientifique, ont été importants pour nous ; que ses compétences scientifiques ont largement contribué à l'évolution de cette étude. On vous remercie pour votre énergie, votre envie d'innover, votre investissement dans ce travail, votre disponibilité, votre sérieux, et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Merci de nous communiquer votre passion pour la recherche et de nous aider à y croire dans les moments difficiles, on est ravie de poursuivre ce travail avec vous et on espère continuer à bénéficier de vos grandes qualités de chercheur dans les années à venir.*

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nos ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement :

Docteur ABBES Rachida*, MCB à l'université de Yahia Fares de pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette mémoire ; Veuillez accepter ce travail Docteur, en gage de notre grand respect et notre profonde reconnaissance.*

Docteur OTMANIN Khaled*, MAA à L'université de hassiba Ben Bouali de Chlef ,* Vous nous faites l'honneur d'accepter avec une très grande amabilité et sympathie de siéger parmi notre *travail ; Merci pour votre disponibilité, votre soutien et vos conseils avisés dont vous nous avez fait part tout au long de notre travail . Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de notre respect le plus sincère.*

Merci également à Monsieur ***le Médecin SELMANI AHMED,*** *Cardiologue au niveau de EPH de Médea* , il nous a toujours réservé le meilleur accueil, malgré ses obligations professionnelles. Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute admiration. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

La réalisation de ce travail n'aurait pu se faire sans la présence, la participation et la collaboration d'un grand nombre de personnes que je tiens également à remercier.le service de médecine interne de ***L'EPH de " Mohamed BOUDIAF"*** *de Médéa. Et à tous le personnel du laboratoire de polyclinique de Pôle Urbain de Médéa et à tout le personnel de clinique mobile "****Changing Diabetes****" ;* Mr Chaouache , Dr Moussa , Dr Badri , Ben Aissa : Kermazli ; Sidali ; abd Hamid , Fatima ,Rekia , Yamna , Amina ,Mohamed , la liste est tellement longue .

Nous remercions aussi le service ***CTS,*** *précisément****,*** *son chef de service Mr* ***" M. DERGA"****, la technicienne* ***" Mme Hadjer"*** *. pour leur soutien et collaboration. Merci à tout le personnel de Santé publique qui nous a permis la réalisation de ce travail veuillez accepter ces témoignages de nos grandes administrations et de nos gratitudes.*

Merci à tout le personnel de service de médecine interne de ***EPH de "Boufarik ",*** *de "****Brahim Tirichine "*** *de Blida Médéa.*

Merci à tous les patients, qui nous ont encouragé, aidé et donné leurs sang et leurs renseignements sans réserve ; que Dieu Guérisse tous les malades

Une petite pensée a la veille Hnifa, qui est décédé après quelques mois après son prélèvement, que dieu ai son âme.

Finalement, je remercie tout les enseignants qui m'ont suivi le long de mes études, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce présent travail.

Dédicaces

Tout d'abord, ***louange à Allah****, seigneur de l'univers ; comme il se doit, pour la majesté de Ta Force et l'immensité de Ton pouvoir.*

J'aimerai bien remercie mon père ***Sahraoui*** *pour ses efforts et pour son soutien continu depuis le début de mon parcours scolaire malgré toutes les conditions qui m'empêchent chaque jour de réaliser mes rêves merci je t'aime papa.*

Je n'oublie pas de remercie ma mère ***Belmahdi zohra*** *pour ses sacrifices avec le temps et l'énergie pour assurer la continuité de mon succès malgré toutes les conditions qui m'empêchent chaque jour de réaliser mes rêves merci je t'aime Mama.*

Je suis très reconnaissant pour mon uncle admirée ***Belmahdi Toufik,*** *il est toujours un vrai conseillant pour moi à chaque moment et à chaque étape de ma vie.*

Mes remerciements sont aussi adressés à monsieur ***Slimani Samir*** *pour son support continu .je suis fortement humble d'avoir un ami comme monsieur slimani dans ma vie, que dieu le protéger et réaliser ses buts.*

Mes salutation et mes dédicaces sont aussi distinguées à mon frère inchangé ***Mahi belkaçem,*** *il est toujours un vrai conseillant pour moi à chaque moment et à chaque étape de ma vie Je te respect fortement.*

Je tiens à remercier aussi mes soeurs ***Slimani Fatma zohra*** *et F****erhat Samia****, elles ont sacrifie aussi leur temps précieux et leur énergie pour m'aider merci merci.*

Mes salutations et mes dédicaces sont aussi distinguées à ***Mahi Fayçal*** *et* ***Chiaroud Mourad*** *pour son support continu merci .*

A mes amies: l'adorable ***nada****,* ***Karima****,* ***amira, tima****,* ***Asma****,* ***Fouzia****,* ***hadje****r,* ***maha****, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur je t'aime* ***.***

Fatiha

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout Puissant, J'ai pu achever ce travail que je dédié avec toute mon affection à:

A ma très chère mère ***DOUA Cherifa*** *. Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

A mon très cher Père ***Foudhil*** *aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation . merci merci merci mon père*

A mon très cher mari ***Mohamed Amine****, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour. que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

A mon très chère soeur et son époux et leurs enfants Lama et ***Hodaifa*** *; ma chere* ***Hadjer*** *les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi . Mon ange gardien et ma fidèle compagnante dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Toi et* ***Billel*** *vous êtes toujours dans mon coeur. Je vous remercie pour votre hospitalité sans égal et votre affection si sincère. Je vous dédie ce travail avec tous mes voeux de*

bonheur, de santé et de réussite Je vous dédie ce travail avec tous mes voeux de bonheur, de santé et de réussite.

A mes très chères tantes ***Ahlem*** *et* ***salima*** *Vous avez toujours été présents pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.*

A ma grand-mère maternelle et paternelle et à mon grand-père maternelle je vous adore

Aussi une pensée à mon grand-père paternel qui nous a quitter pour un monde meilleur

A tous les membres de la famille ***BELDJOUHAR*** *,et* ***DOUA****, petits et grands ; Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.*

A mes chers cousins et cousines ***Sarah*** *,****Rokia*** *,****Hind*** *; ****Sanaa****,* ***Ayoub*** *et* ***Abd*** *el* ***ali*** *; je vous aime beaucoup.*

A ***yema Mbarka*** *, mes belles tantes* ***Yamina*** *, **Habiba*** *, **Amel ,Zineb*** *, **Kahina*** *et l''adorable* ***Sabrina*** *,et les petites* ***Meriem*** *et* ***Amira*** *merci pour votre soutien moral ,votre encouragement et vos prières ; je vous aime toute ma deuxieme famille que dieu vou garde pour moi ;je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

A ma soeur de coeur...la seule l'unique...pour toujours, Serine

A mes amies: l'adorable Meriem ,Hadjer , Wafaa,lamia,Asma, Fouzia ,Imen , Nawel ,Hanan de Palestine et tous les gens de Palestine .En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A toute ma promotion de master et tous les amis que je n'ai pas cités.

fatima

A

ACAT: Acyl-CoA cholestérol Acyl Transférase

ADP : Adenosine diphosphate

AGNE : Acides gras non estérifiés

Apo : apoprotéines

ATP : Adenosine triphosphate

C :

CCR: C chemokine receptor

CETP: Protéine de Transfert des Esters de Cholestérol.

CHOL :cholestérol total

CM : Chylomicrons

CML : cellules musculaires lisse

CVD : cardiovascular disease

D :

DT2: Diabète de type 2

DO : Densité optique

E :

EC: Esters de cholestérol

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

EOR : Espèces Oxygénées Réactives

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétraacétique

F :

FFA : Free Fat Acid

G :

Glyc :.glycémie

GOD :glucose oxydase

H :

HDL : High Density Lipoprotein

HMG-COA réductase : 3-hydroxy-3-méthyle-glutaryl coenzyme A réductase.

4-HNA :4-hydroxynonénal

HTA: Hypertension artérielle.

H2O2 : peroxyde d'hydrogène,

I :

ICAM-1 :intercellular adhesion molecule

IDL : Intermediate Density Lipoprotein

IDM L'infarctus du myocarde

IL-l : interleukine

IMC: Indice de Masse Corporelle.

L :

LCAT: Lecithin-Cholesterol Acyl Transferase

LDL : Low Density Lipoprotein

LPL : lipoprotéine lipase

LOX-1 :Lectin-likeoxidized lowdensity receptor

M :

MDA : malondialdéhyde

MPC : monocyte chemiotactic protein

M-CSF :monocyte colony stimulating factor

MMPs : métal loprotéinases matricielles

N :

nd : non détectable

O :

O2 : l'oxygène singlet

OMS : organisation mondiale de la santé

ONOOH : nitroperoxyde

Ox-LDL : Oxidized Low density lipoprotein

P :

POD : peroxydase

P AS : pression artériel Systolique

P AD : pression artériel diastolique

R :

ROS: Reactive Oxygen Species

RNS : réactive nitrogène species

S :

SRAA : système rénine-angiotensine-aldostérone

T :

TBARS : Thiobarbituric acid reactive substances -

TG : triglycérides

TMB tétraméthylbenzidine

TNF-α : Tumor necrosis factor

T.T : tour de taille

***V*:**

VLDL : Very Low Density Lipoprotein

VCAM-1 :vascular celI adhesion molecule

LISTE DES FIGURES : Page

Figure I.1 : Structure générale d'une lipoprotéine…… 04

.Figure I.2 : Métabolisme des chylomicrons……. 07

Figure I.3 : Métabolisme des LDL…… 08

Figure I.4 : Métabolisme des HDL…… 09

Figure I.5. Les différents stades d'évolution de la plaque d'athérosclérose…… . 11

Figure I.6. Formation de la lésion athéromateuse …….... 11

Figure I.7. Recrutement et devenir des monocytes dans l'athérosclérose . . . …… ..13

Figure I.8 . Formation des stries lipidiques au cours de l'athérosclérose …… 14

Figure I.9. Plaque athéroscléreuse . …… 15

Figure :I.10.Mécanismes intracellulaires de l'insulinorésistance…… 19

Figure II.11. Origine des différents radicaux libres oxygénés… . . . . … … …… …. 21

Figure II.12. Représentation simplifié de la peroxydation lipidique…… ……23

Figure III.1 Diagramme d'étude expérimentale . . . . . …… ……23

Figure. III.2 : Courbe standard de mesure ELISA d'Ox-LDL. 38

Figure IV.1 . Comparaison du paramètre « âge » des différents groupes de patients…… 44

Figure IV.2 . Comparaison des IMC, TT, BP systolique et BP Diastolique des différents groupes de patient…….....45

Figure IV.3. Comparaison du paramètre « Cholestérol » des différents groupes de patient…… .46

Figure IV.4 : Comparaison du paramètre « Triglycérides » des différents groupes de patients……47

Figure IV.5. Comparaison de « HDL, LDL & Glycémie » par différents groupes de patient…….....48

Figure IV.6 . Comparaison des paramètres « TBARS & ABTS » des différents groupes……49

Figure IV.7 . Comparaison du paramètre « Ox-LDL» des différents groupes de patients …… .50

LISTE DES TABLEAUX : Page

Tableau I 1. Caractéristiques physico-chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines……...05

TableauI.2. Classification du risque pour la santé en fonction de l'indice de masse corporelle (IMC) chez l'homme…… . .17

Tableau IV.1 .les caractéristiques anthropométriques et hémodynamiques des sujets étudiés……..…… …40

Tableau IV.2 . Caractéristiques biochimique des sujets étudiés…….…… 42

Tableau IV.3 . Caractéristiques biochimique des sujets étudié…… 42

Tableau IV.4 . Corrélation entre différents paramètres d'étude**.....52**

Résumés (FR, EN et AR)

Remerciements et dédicaces

Titres et sous-titres	Page
Liste des abréviations	i
Liste des figures	iv
Liste des tableaux	v
Sommaire	vii
Introduction	1
Chapitre I : Le transport et le métabolisme lipidique dans l'organisme	3
I.1. Les lipoprotéines plasmatiques : moyen de transport des lipides dans le sang	3
I. 1.1. Structure et composition	3
I.1.2. Les différentes classes des lipoprotéines	4
I.1.3. Le métabolisme des lipoprotéines	5
I.1.3.1 Métabolisme général des lipoprotéines	5
I.1.3.2. Métabolisme de chylomicrons, LDL, et HDL	6
I.1.3.2.1 Métabolisme des chylomicrons	6
I.1.3.2.2. Métabolisme des LDL	7
I.1.3.2.3 - Métabolisme des HDL	8
I.2. Maladies associés aux défauts de métabolisme lipidique	10
I.2.1. Maladies cardiovasculaire et Athéroscléroses	10
I.2.1.1. Anatomopathologie de la plaque d'athérosclérose	10
I.2.1.1.a. Infiltration lipidique des LDL dans l'intima artérielle	12
I.2.1.1.b. Oxydation des LDL	12
I.2.1.1.c. Recrutement des monocytes	13
I.2.1.1.d. Formation des cellules spumeuses	14
I.2.1.1.e. Apparition des stries lipidiques	14
I.2.1.1.f. Emergence du noyau lipidique	15
I.2.1.1.g. Fibro-atherome	15
I.2.2 L'Obésité, diabète et risque cardiovasculaire	16
I.2.2 .1. Définition de l'obésité	16
I.2.2.2 Maladies associées à l'obésité	17
I.2.2.2.1. Hypertension artérielle (HTA)	17
I.2.2.2.2. Diabète sucré	18
I.2.2.2.2.1 Mécanismes de l'insulinorésistance	18
I.2.2.3.Pathologies de métabolisme des lipoprotéines	19
I.2.2.3.1. Dyslipidémies	19
I.2.2.3.1.2. Classification de Fredrickson des dyslipidémies	19

Chapitre II. Le stress oxydatif associé au métabolisme lipidique	20
II.1. Généralités sur le stress oxydatif	20
II.2. Le stress oxydatif et facteur de risque des maladies cardiovasculaire	22
II.3. l'oxydation des lipoprotéines : Le LDL est le plus incriminé	22
II.3.3.1. Mécanismes d'oxydation des LDL	22
II.3.3.2.. Oxydabilité des LDL	23
II.3.4. Métabolisme des LDL oxydées	24
II.3.4.1. Captation des LDL oxydées par les récepteurs scavenger	24
II.3.4.2. Dégradation des LDL oxydées	26
II.3.5. Les effet des LDL oxydées	27
II.3.5.1. La nature des LDL Oxydées	27
II.3.5.2. Cibles moléculaires des LDL oxydées	27
II.3.5.3. les effets athéro-gèniques des LDL oxydées : Preuves in-vivo	28
II.6. Mesure du stress oxydatif orienté à la dyslipidémie	29
II.6.1. Mesure des F2-isoprostanes	29
II.6.2. Mesure des MDA (TBARS)	30
II.6.3. Les auto-anticorps contre LDL-Oxydé	30
II.6.4. Mesure quantitative ELISA des LDL-Oxyd	31
Chapitre III. Matériels Et Méthodes	32
III.1. Le cadre d'étude	32
III.2. Population étudiée	33
III.3. Méthodes et Paramètres étudiées	34
III.3.1. Statut anthropométrique	34
III.3.2. Statut hémodynamique	34
III.3.3. Prélèvement sanguin	35
III.3.4. Mesures Biochimiques	35
III.3.4.1. Dosage de glucose	35
III.3.4.2.Dosage du bilan lipidique	36
III.3.5. Evaluation de la peroxydation lipidique (TBARS)	37
III.3.6. Activité antioxydante totale à l'égard du radical ABTS	38
III.3.7. Dosage des LDLs oxydés par la méthode ELISA (Ox-LDL)	39
III.4. Analyse statistique	40
Chapitre IV Résultats et discussion	41
Conclusion & perspectifs	59
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

[INTRODUCTION]

Les affections cardiovasculaires, les dyslipidémies et le diabète de type II sont les pathologies de l'ère nouvelle ; leurs incidences alarmantes ont accompagnées le changement de notre style de vie et notre alimentation. En occurrence, les populations se décampent vers les villes en se sédentarisant et les repas qu'ils consomment se caractérisent par un apport élevé de graisse et de sucres à absorption rapide ; les gens devenant alors obèses. En conséquence, un fardeau de santé publique se déclare avec des chiffres exorbitants ; à titre d'exemple, selon l'OMS (organisation mondiale de la santé), sur 50 millions de décès annuels dans le monde, les cardiopathies ischémiques sont la première cause dont 7.2 millions sont d'origine coronaire (Dagher, 2005 et Meensa et al., 2012) ; alors que l'incidence du diabète prend aussi des proportions très élevées avec une estimation de 300 millions de nouveaux cas d'ici 2025 (Nobecourt, 2006). Le constat est qu'on admet au diabète, obésité, les dyslipidémies, la sédentarité, l'apport en graisse et le stress la prédisposition à l'apparition de troubles cardiovasculaires.

L'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) s'avère un facteur de clé dans l'initiation et la progression des maladies athérosclérotiques ou de complications diabétiques (Nakhjavani et al 2010). Les LDLs oxydés sont issus d'attaque des radicaux libres sous une situation de stress oxydatif ; Carneval et al 2014 montrent l'effet de la sécrétion de NOx endothélial et plaquettaire sur l'oxydabilité des LDLs ; Nour-Eldin et al,. 2014 estiment en contre partie que le degré de la peroxydation lipidique est corrélé avec un niveau plasmatique élevé d'OxLDL. L'attaque oxydatif sur les lipoprotéines va dégrader sa structure et sa fonction ; et des adduits oxydant se produit comme les malondialdehyde MDA. Ces derniers pourrons être mesuré en terme de Thiobarbiturique réactif substances TBARS ; et qui pourrait être comme bio-marqueur aux risques cardio-vasculaire (Tanaka et al., 2011).

La population algérienne ne fait pas l'exception de ce nouveau syndrome, les prévalences des affections cardiovasculaires et de diabète sont en croissance rapide. Or, le suivie du profile lipidique des patients de cardiopathies ou bien diabétiques se focalise seulement sur le taux de cholestérol, triglycérides, et lipoprotéines (LDL et HDL) et de faire surtout d'abaisser le niveau d'LDL à un niveau adéquat. Alors qu'il n'a aucun accent sur le volet de stress oxydatif.

Pour ce-là, il nous a semblé intéressant d'évaluer le stress oxydatif (TBARS, ABTS) et le taux d'Ox-LDL chez des patients atteints d'affections cardiovasculaire et diabètes, et de voir les corrélations possibles entre les paramètres proposés et ceux du bilan lipidique classique.

Ce manuscrit est organisé en quatre chapitres ; les deux premiers résume les fondements théoriques de notre thèse sur '**le transport et le métabolisme lipidique dans l'organisme**' et sur '**le stress oxydatif associé au métabolisme lipidique**'. Le troisième chapitre démontre la méthode expérimentale proposée et le chapitre 4 illustre et abrite les résultats obtenus.

Chapitre I : le transport et le métabolisme lipidique dans l’organisme

I.Le transport et le métabolisme lipidique dans l'organisme

Les lipides corporels peuvent avoir une origine endogène (synthétisés dans des cellules) ou exogène (dérivés de graisses alimentaires). Les lipides synthétisé et/ou transformés possèdent une gamme diversifiée de structure et de fonctions biologiques. En effet, les phospholipides constituent le majeur constituant des membranes cellulaires et jouent un rôle majeur dans les voies de signalisation. Les lipides sont aussi source majeure d'énergie stockée dans le tissu adipeux en tant que triglycérides (TG) **(**B. Giffen ,2009**)**.

Les TGs sont fabriqués à partir d'acides gras et de glycérol par un procédé « d'estérification». Les graisses non-estérifiées sont connues sous le nom d'acides gras «libres» (FFA Free Fat Acid) et sont le principal carburant immédiat pour le métabolisme qui fournit -par oxydation-. Une plus grande quantité d'ATP que des glucides ou des protéines.

Les lipides sériques, y compris les TGs, les phospholipides, le cholestérol et leurs composés, sont transportés entre les sites de synthèse dans le foie et l'intestin vers les tissus périphériques, pour l'utilisation et le stockage dans les complexes moléculaires de lipides et de protéines appelés lipoprotéines. **(**B. Giffen ,2009**).**

I.1. Les lipoprotéines plasmatiques : moyen de transport des lipides dans le sang

I. 1.1. Structure et composition

A cause de leurs caractères hydrophobes, les lipides (insolubles) sont transportés à travers les différents compartiments extracellulaires aqueux de l'organisme (plasma, lymphe et liquide interstitiel) par un procédé complexe. Le cholestérol non estérifié, L'esters de cholestérol, les triglycérides et les phospholipides s'assemblent avec des protéines « apoprotéines » en un complexe macromoléculaire (soluble) nommés « lipoprotéines » **(**Macheboeuf, 1928**)**. Les lipoprotéines permettent le transport des lipides d'origine endogène et exogène, des sites d'absorption ou de production, vers les tissus d'utilisation, de stockage ou de transformation **(**Spector A A.,1984**).**

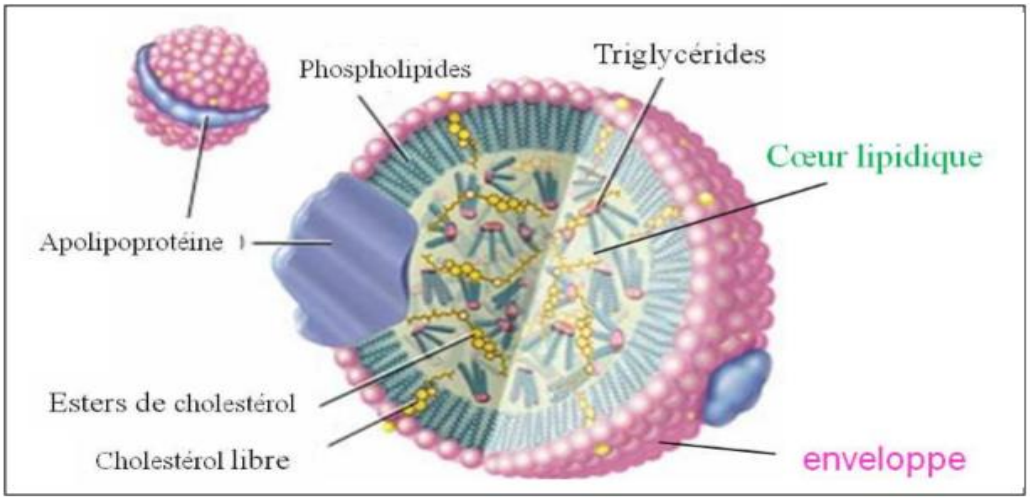


Figure :I.1 : Structure générale d'une lipoprotéine (Salvayre et al., 2002)

Les triglycérides et les esters de cholestérol forment le cœur des lipoprotéines. Celui-ci est recouvert d'une enveloppe amphiphile constituée de phospholipides et de cholestérol non estérifié et dans laquelle les apoprotéines viennent s'insérer. Les apoprotéines jouent non seulement un rôle structural et stabilisateur essentiel, mais elles sont également responsables des propriétés fonctionnelles et du devenir métabolique des lipoprotéines. En occurence, les apoprotéines permettent l'assemblage, leur interaction avec des récepteurs cellulaires spécifiques, ou encore l'activation ou l'inhibition d'enzymes impliquées dans leur métabolisme intra-vasculaire. En effet, il on résulte des remaniements constants (structurels et fonctionnels) durant leur transit dans l'espace intra-vasculaire.

I.1.2. Les différentes classes des lipoprotéines

Les lipoprotéines sont subdivisées en plusieurs catégories selon leurs caractéristiques physico-chimiques (densité, taille, compositions lipidique et protéique) (tableau 01). On distingue aujourd'hui cinq populations plasmatiques de lipoprotéines. Ainsi par ordre croissant de leur densité on a : les chylomicrons, les **VLDL** (Very Low Density Lipoprotein), les **IDL** (Intermediate Density Lipoprotein), les **LDL** (Low Density Lipoprotein), les **HDL** (High Density Lipoprotein) et les **préβ-HD**L **(**Gofman et al., 1949**).**

Tableau I .1 : Caractéristiques physico-chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines. (D'après Lagrost et al., 2004)

Type de lipoprotéine	Mobilité électro phorétique	Densité (g/ml)	Taille (Covey et al.)	Proportion EC/TG	Principales apoprotéines
Chylomicrons	Pas de migration	0.93	75 – 1200	1/19	B48, E, C
VLDL	Préβ	0.93-1.006	30 – 80	1/3.3	B100, E, C
IDL	Préβ lent	1.006-1.019	27 - 35	1/3.5	B100, E
LDL	B	1.018-1.065	18 - 27	1/0.23	B100
HDL	A	1.063-1.210	7 - 9	1/0.19	AI, AII, C
préβHDL	Préβ	1.210-1.250	<7 (disques)	nd	AI

EC : esters de cholestérol ; **TG** : triglycérides ; **nd** : non détectable ;**VLDL** : Very Low Density Lipoprotein
LDL : Low Density Lipoprotein ; **HDL** : High Density Lipoprotein ;**IDL** :Intermediate Density Lipoprotein

Les chylomicrons et **VLDLs** transportent majoritairement triglycérides ; les **LDLs** et les **HDLs**) transportent essentiellement du cholestérol estérifié. En ce qui concerne les apoprotéines, les apoA sont principalement associées aux **HDLs**, les apoB aux **LDLs**(apoB100) et chylomicrons (apo B48), les apo C aux VLDL, chylomicrons et **HDL** **(**Gustafson et al., 1966**)** ; **(**Lagrost et al., 2004**)**

I.1.3. Le métabolisme des lipoprotéines

I.1.3.1 Métabolisme général des lipoprotéines

Le métabolisme des lipoprotéines, se focalise sur trois tissus : l'intestin, le foie, et les tissus périphériques. L'intestin permet l'absorption des lipides alimentaires ; Le foie constitue l'organe central de gestion du métabolisme et du transport ; les tissus périphériques captent les lipides transportés. Au départ, les chylomicrons (grande lipoprotéine) sont néosynthétisées au sein de l'entérocyte et s'enrichit de triglycérides d'origine alimentaire. Les triglycérides contenu dans le cœur des chylomicrons seront hydrolysés et captés par les tissus périphériques

pour y être stockés (tissus adipeux), ou dégradés à des fins énergétiques (muscles striés). Ensuite, Le foie prend en charge les lipides résiduels d'origine intestinale et les intègre dans de nouvelles lipoprotéines afin de les redistribuer aux tissus périphériques. Cette voie centrifuge consiste en une cascade impliquant les **VLDL**, les **IDL** et les **LDL**. Enfin, les tissus périphériques captent les lipides (principalement cholestérol et acides gras libres non estérifiés) par endocytose et hydrolyse des lipoprotéines d'origine hépatique et intestinale. La plupart des tissus périphériques ne peuvent pas métaboliser le cholestérol, et ont donc recours, via les HDL, à une voie de transport centripète vers le foie, seul organe capable de l'éliminer par voie biliaire (Lagrosk et al .,2004).

I.1.3.2. Métabolisme de chylomicrons, LDL, et HDL

I.1.3.2.1 Métabolisme des chylomicrons

Les chylomicrons se forment dans les entérocytes, et il se compose des lipides alimentaires (principalement les triglycérides, mais aussi le cholestérol). ; Ils passent dans la lymphe et gagnent la circulation systémique par le canal thoracique **(**WILLIAM et STEPHEN., 2005**)**. Les chylomicrons vont subir l'action de la lipoprotéine lipase (**LPL**) de l'endothélium des capillaires qui dégradera leurs triglycérides en acide gras et glycérol. La **LPL** est activée par l'Apo C II cédée préalablement par les **HDL**, véritables «réservoirs d'Apo C» **(**PIERRE., 2002**)**. L'acide gras libéré est utilisé comme source d'énergie par différentes tissus , d'après **(**STEPHEN., 2005**)**. Les actions répétées de la lipase dans la circulation sanguine retirent la plupart des triglycérides des chylomicrons et il en résulte des particules appelées « remmenant ». L'Apo C-II en excès retourne dans les **HDL**, et le remmenant qui est riche en Apo E active des récepteurs hépatique Apo B/E qui lui permettent de pénétrer dans les cellules hépatiques par endocytose. Là, elles sont hydrolysées en acides gras libres, cholestérol et acides aminés par les lysosomes **(**COHEN et BELMATOUG ., 2002**)** . L ' Apo A et l'Apo B-48 sont synthétisées au niveau intestinal et présentes dans les chylomicrons nouvellement formés ; l'Apo C-II et l' Apo E sont transférées aux chylomicrons depuis les HDL **(**WILLIAM et STEPHEN., 2005**) .**

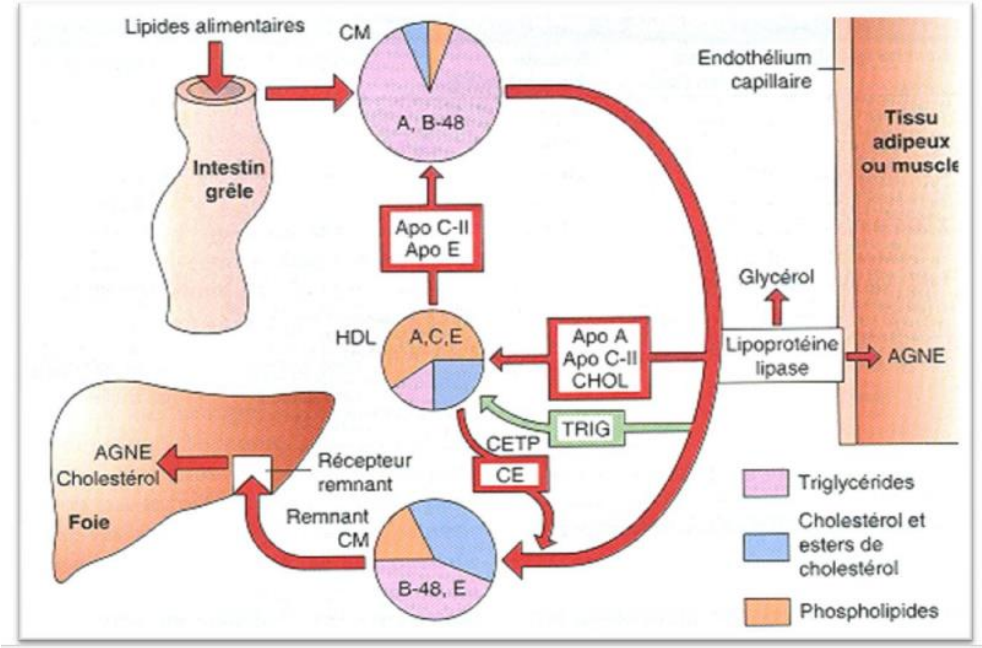


Figure :I.2 : Métabolisme des chylomicrons (WILLIAM et STEPHEN., 2005)

CM Chylomicrons ; **CE** Esters de cholestérol ; **CETP** Cholestérol ester transferprotein ; **AGNE** : Acides gras non estérifiés

I.1.3.2.2. Métabolisme des LDL

Les **LDLs** sont les transporteurs principaux du cholestérol dans le plasma. La plupart des **LDL** sont formées à partir des **VLDL**. Une certaine quantité semble pouvoir être produite directement par le foie **(**HENNEN., 1996**)**. Les **LDL** se lient au récepteur des **LDL** par l' intermédiaire de l'Apo B-100 puis sont captés par endocytose et dégradés dans le lysosome, principalement par la lipase acide **(**JOHANNES et HOFFMANN., 2005**)**. Ce mécanisme assure à la cellule un approvisionnement substantiel en cholestérol qui va, dans une dernière étape, exercer une action régulatrice : en inhibant la synthèse endogène du cholestérol par l' inhibition de l'HMG-CoA réductase, en augmentant l'activité d' estérification, et donc de stockage du cholestérol via l'**ACAT**, et en réprimant l'expression des récepteurs des **LDL**, bloquant la voie principale d'entrée du cholestérol dans la cellule **(**TOUSSAINT et al. 2003**)**.

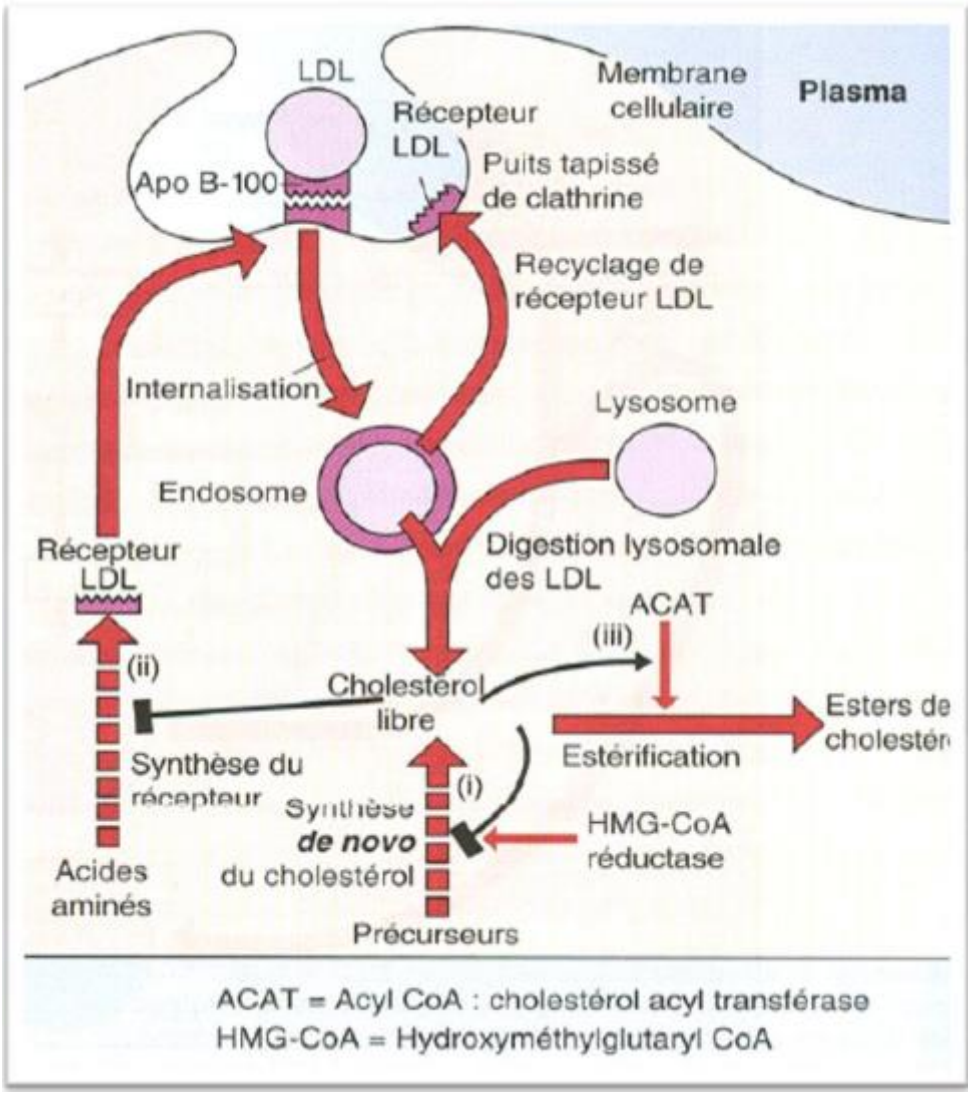


Figure :I.3 : Métabolisme des LDL(WILLIAM et STEPHEN., 2005)

I.1.3.2.3 - Métabolisme des HDL

Les **HDLs** sont synthétisées en premier lieu par le foie et à un degré moindre, par les cellules de l'intestin grêle, sous forme de précurseurs « HDL naissantes » comprenant des phospholipides, du cholestérol, de l'Apo E et de l'Apo A **(**WILLIAM et STEPHEN., 2005). Elles sont rapidement transformées en **HDL** mature sphériques (**HDL3**) dans la circulation générale, après acquisition d' Apo C, AI et E et des lipides appartenant aux couches superficielles des chylomicrons et des **VLDL (**MASSY et FABRIZIO., 2004**)** . Le cholestérol libre est estérifié par l'enzyme lécithine-cholestérol acyltransférase (LCAT), qui est présente dans les **HDLs** naissantes et activées par son cofacteur, l'Apo A-I. Cela augmente la densité des particules **HDL**, qui sont ainsi

converties l'**HDL3** en **HDL2** (WILLIAM et STEPHEN., 2005) . Par ailleurs, les EC dans les **HDL2** peuvent être transférés à des **VLDL** et des **IDL** riches en triglycérides (**TG**) en échange de **TG**, par la médiation de la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP). Les EC s'intègrent alors aux **LDL** et retournent au foie en se liant aux récepteurs de **LDL** (DOMINIC., 2005). Au niveau du foie, le cholestérol libre peut alors être éliminé dans la bile ou servir à la synthèse des acides biliaires. La lipase hépatique, en hydrolysant les triglycérides et les phospholipides des **HDL2**, permettrait leur retour dans la circulation sous forme de HDL3 (PIERRE., 2002).

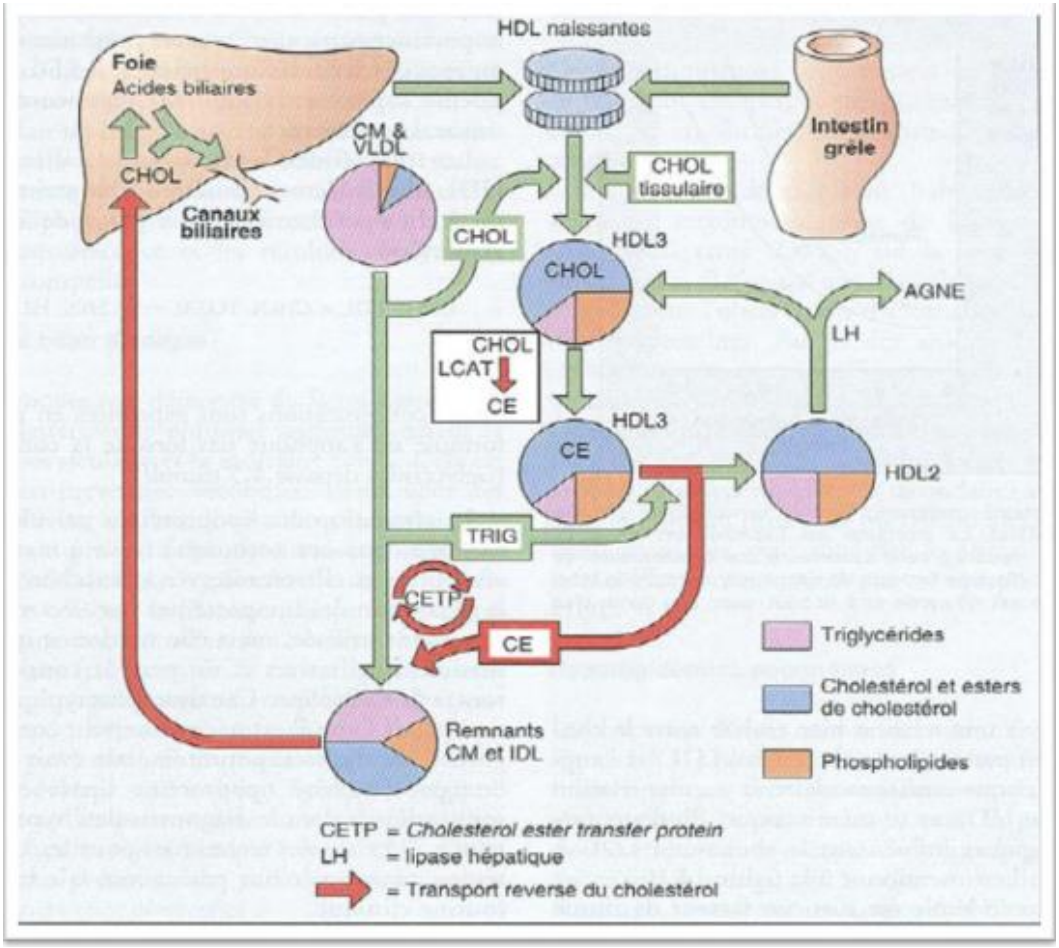


Figure :I.4 : Métabolisme des HDL(WILLIAM et STEPHEN., 2005)

I.2. Maladies associés aux défauts de métabolisme lipidique

I.2.1. Maladies cardiovasculaire et Athéroscléroses

Les maladies cardiovasculaires représentent l'une des principales causes de mortalité dans le monde. La cause sous-jacente de ces nouvelles maladies est le processus athéroscléreux des vaisseaux sanguin **(**ROSS., 1999**)**. L'évolution athérogénique est un rétrécissement progressif de la lumière des vaisseaux qui entraîne l'ischémie des organes distaux.

L'athérosclérose est une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibre consistant en une accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôt calcaires le tout s'accompagnant de modifications de la media **(**GIRAL, 1998**) (**OMS, 1954**).** L'athérosclérose coronaire est un exemple type d'affection chronique inflammatoire d'artère principales. Elles caractérisé par un substratum anatomopathologique commun qui par ça rupture (ou une érosion) peut provoquer des thromboses a différents dégrès, ou être accompagnée fréquemment de mobilisation distale de matériel thrombotique ou athéroscléreux. L'entrave à la circulation sanguine peut provoque en bout de ligne selon le siège anatomique l'infarctus du myocarde et l'accident vasculaire cérébral. L'athérosclérose est la première cause de mortalité au niveau mondial.

I.2.1.1. Anatomopathologie de la plaque d'athérosclérose

Dans les phases initiales de l'athérosclérose, on note l'apparition d'une dysfonction endothéliale et de lésions inflammatoires dans la paroi du vaisseau. L'athérosclérose débute chez l'enfant avec des dépôts de cholestérol dans les macrophages et dans les cellules musculaires lisses localisées dans l'intima des larges artères musculaires lisses comme en témoigne la formation de stries lipidiques. À mesure que l'individu avance en âge, la plaque fibreuse se développe et progresse provoquant ainsi des lésions athérosclérotiques plus complexes et fragiles. La rupture de ces lésions conduit à une hémorragie, puis à la formation d'un thrombus qui, en bouchant l'artère coronaire atteinte, cause un syndrome coronarien aigu **(**Poirier et Després, 2003**)** (**Figure I.5**).

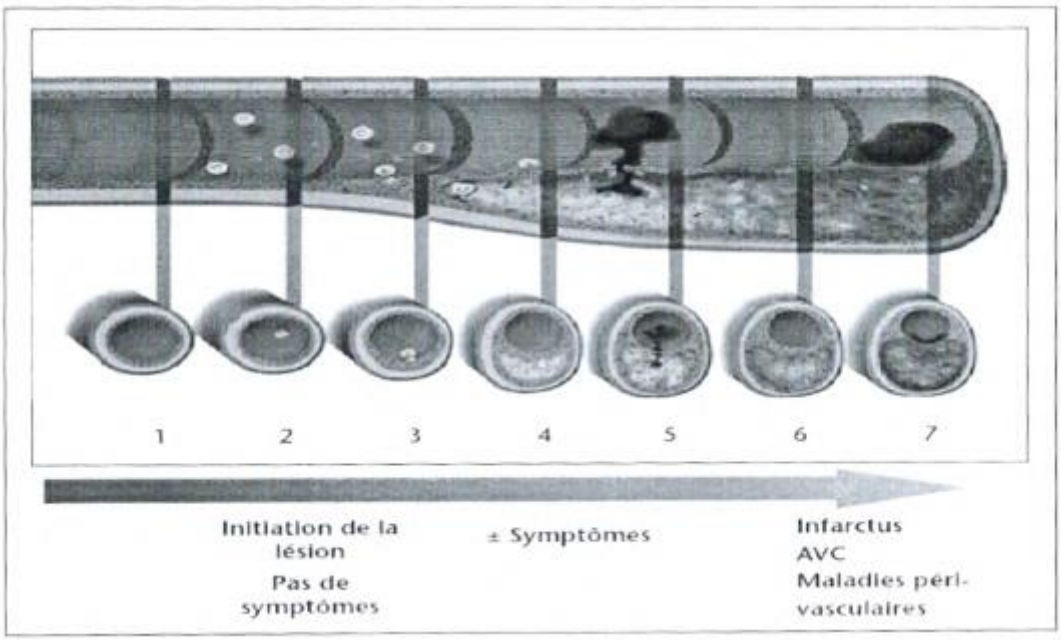


Figure :I.5. Les différents stades d'évolution de la plaque d'athérosclérose (Nalbone et al., 2006).

1: cellules spumeuse ;2: stries lipidiques ;3: prés athérome ;4: athérome ;5: fibroathérome ;6: thrombose, hémorragie ;7: plaque fibrocalcaire.

Le mécanisme moléculaire de l'athérosclérose fait intervenir plusieurs acteurs jouant un rôle prépondérant dans la genèse de la plaque. Les lipoprotéines essentiellement les **LDL** oxydées et quatre types cellulaires, les macrophages, les cellules endothéliales, les CML (cellules musculaires lisse) et les lymphocytes. Plusieurs mécanismes s'associent pour aboutir à la formation de la plaque **(**Bonnet et Elias, 1997**). (figure I. 6**)

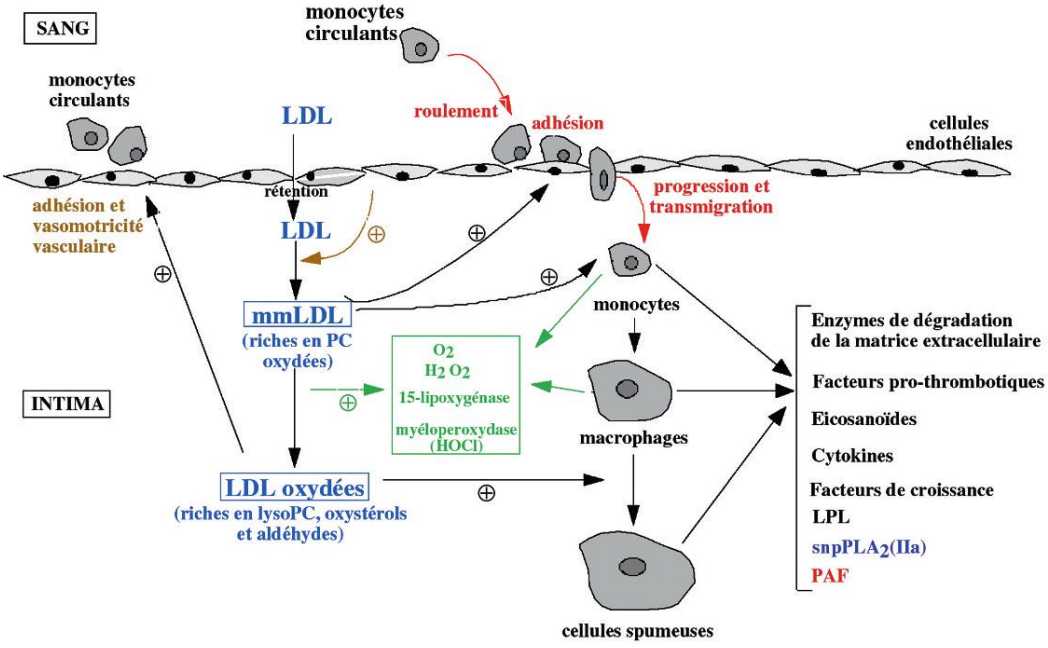


Figure I.6. Formation de la lésion athéromateuse (Morozova et ai., 2004).

I.2.1.1.a. Infiltration lipidique des LDL dans l'intima artérielle :

La traversée de l'endothélium vasculaire par les LDL initie le processus d'athérogénèse. (Léoni, 2001) . La rétention spécifique de ces particules à des sites de prédilection résulte d'interactions électrostatiques entre les protéoglycanes de la matrice extracellulaire et les régions basiques de l'apoprotéine B100 (Tedgui et Chapman 2003). Elles s'accumulent dans l'espace sous endothélial, ce qui déclenche le recrutement de monocytes circulants dans l'intima et sa différenciation en macrophages. La transformation des LDL natives en LDL pro-athérogènes (principalement en LDL oxydées) est une étape essentielle (Tedgui, 2001**).**

I.2.1.1.b. Oxydation des LDL :

Elle se produit majoritairement dans l'intima de la paroi artérielle. En effet, les quantités de **LDL** oxydées sont très faibles au niveau plasmatique, tandis qu'elles sont retrouvées en abondance dans les plaques d'athérome. Les **LDL** peuvent être oxydées au contact des cellules endothéliales, des cellules musculaires lisses, ou des macrophages. (Tedgui et Chapman 2003). Les LDL dans leur état natif ne sont pas athérogènes et ce n'est qu'après avoir subi des modifications oxydatives dans la paroi qu'elles deviennent athérogènes. Modérément oxydées au début, les LDL deviennent fortement oxydées (Nalbone et ai., 2006). Quand elles sont oxydées, les LDL sont reconnues par d'autres récepteurs, les récepteurs "éboueurs" (ou Scavenger Receptors) des macrophages. Ces récepteurs "scavenger' entraînent les LDL dans un processus athérogène **(**Léoni, 2001**).**

Des produits d'oxydation des lipides (malondialdéhyde (MDA), 4-hydroxynonénal (4-HNA)) sont générés et forment des adduits avec les groupes lysine de l'apoB des **LDL**. Des coupures des liaisons peptidiques de l'apoB se produisent, ce qui modifie sensiblement la structure antigénique de la particule **(**Nalbone et ai., 2006**)**

Au niveau endothélial, cette oxydation peut être induite par des facteurs de risque comme l'hypertension, l'hypercholestérolémie, le diabète ou le tabac, par le biais d'une réduction de la biodisponibilité de monoxyde d'azote. Celui-ci peut en effet subir une altération par des EOR pour former le peroxynitrine, agent qui catalyse l'oxydation des acides gras polyinsaturés.11 est également possible que les LDL finissent par s'oxyder lorsque leur temps de séjour dans l'intima est augmenté, la pression en oxygène dans le sous-endothélium étant relativement élevée **(**Tedgui et Chapman 2003**).**

I.2.1.1.c. Recrutement des monocytes :

Le dysfonctionnement de l'endothélium, notamment secondaire à la présence des LDL oxydées favorise l'adhésion des monocytes circulants au niveau de la surface de l'endothélium. Au niveau de l'intima, des protéines spécifiques vont jouer le rôle de « molécules d'adhésion » et permettre ainsi cette adhésion des monocytes. Il s'agit des protéines VCAM-1 (vascular celI adhesion molecule) et ICAM-1 (inter cellular adhesion molecule) **(**Steinberrg et Lewis, 1997**).**

Une fois que les monocytes ont adhéré à la surface endothéliale, ils pénètrent dans l'intima à travers les jonctions inter-endothéliales sous l'effet de facteurs chimiotactiques parmi lesquels l'lL-8, le MPC-1 (monocyte chemiotactic protein-1) dont le récepteur est le CCR-2 (C-C chemokinereceptor 2), et l'ostéopontine, protéine sécrétée par les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les monocytes. Dans le même temps, ces monocytes évoluent en macrophages sous l'action du M-CSF (monocyte colony stimulating factor), facteur hématopoïétique de différenciation et de prolifération des monocytes **(**Giachelli et ai., 1998**).** Le rôle des macrophages est alors d'épurer l'intima des **LDL** oxydés, mais en parallèle, ils entretiennent l'activation inflammatoire de l'endothélium via la production de cytokines pro-inflammatoires dont le TNF-α et l'IL-l (interleukine 1), de métal loprotéinases matricielles (MMPs), de ROS, l'ensemble de ces phénomènes accentuant la perméabilité et l'oxydation des LDL **(**Mallat et Tedgui 2003 **Figure I.7).**

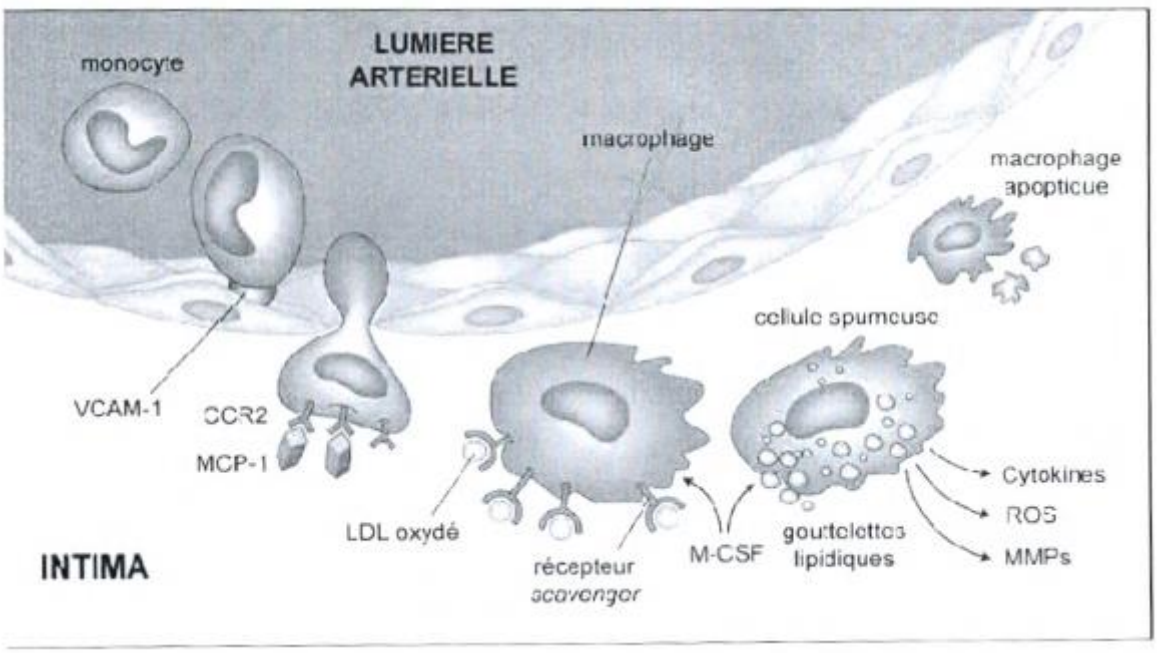


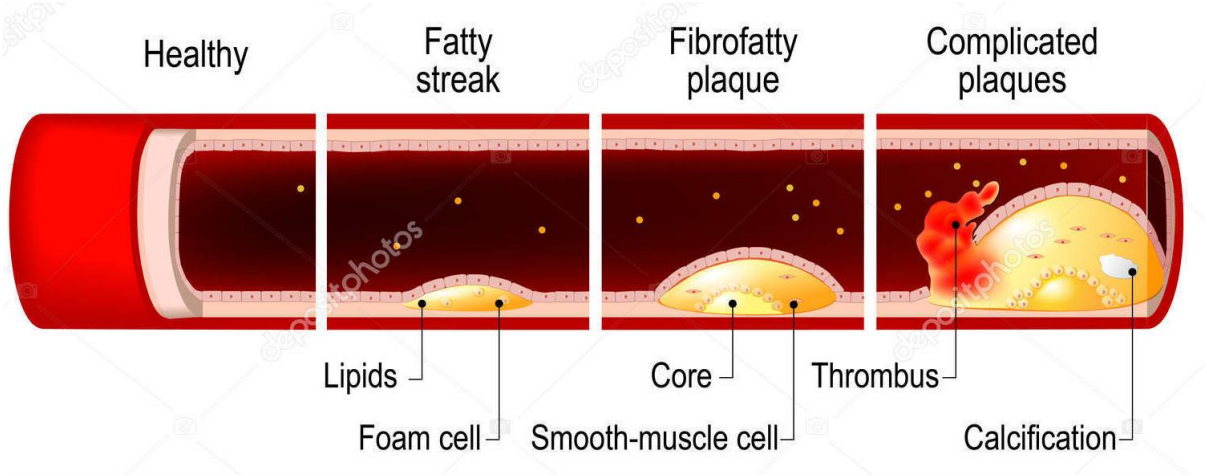
Figure :I.7. Recrutement et devenir des monocytes dans l'athérosclérose (Ross, 1999)

I.2.1.1.d. Formation des cellules spumeuses :

Les apoprotéines B100 des **LDL** oxydées ne permettent plus leur reconnaissance par les **LDLR**. En contre partie, ces lipoprotéines sont reconnues par les récepteurs éboueurs ou scavenger (SR-A1, SR-A2, CD36, CD68) présents à la surface des macrophages (Mallat et Tedgui 2003). La capture des **LDL** modifiées aboutit à une différenciation en cellules spumeuses **(**Léoni, 2001**).**

I.2.1.1.e. Apparition des stries lipidiques :

Les cellules spumeuses issues des macrophages deviennent de plus en plus nombreuses puis se regroupent en petits amas dans la couche superficielle sous-endothéliale de l'intima pour former les premières stries lipidiques, **(**Bruneval, 2003**),**Quelques cellules musculaires lisses, qui possèdent elles aussi des récepteurs scavenger à leur surface, internalisent également des LDL oxydées pour ensuite évoluer en cellules spumeuses, participant de ce fait elles aussi à la formation des stries lipidiques. De plus, la prolifération intimale de ces cellules musculaires lisses amène ces dernières à synthétiser de la matrice extracellulaire, propriété déterminante intervenant dans la stabilisation de la plaque. Ces stries lipidiques se présentent comme des dépôts jaunâtres, sans relief, sous forme de lignes allongées parallèlement au flux sanguin. Elles siègent majoritairement au niveau de l'aorte thoracique (Bruneval, 2003), et qui ne présentent pas encore de danger **(**Schweiz, 2000**)** .



FigureI.8 . Formation des stries lipidiques au cours de l'athérosclérose (Léoni, 2001).

I.2.1.1.f. Emergence du noyau lipidique :

Les lipides se regroupent pour former un amas appelé coeur lipidique ou centre athéromateux qui est le véritable point de départ de la plaque. Par la suite, ce coeur lipidique va progressivement se couvrir d'une chape fibreuse ou fibromusculaire, constituée par les cellules musculaires lisses qui proviennent de la média **(**Steinberrg et Lewis, 1997**).** L'émergence du noyau lipidique correspond aux premières lésions dites avancées. Leur fréquence d'apparition augmente avec l'âge et elles sont surtout présentes après 40 ans. Leur caractère avancé est du au fait qu'elles peuvent rapidement évoluer en lésions compliquées de thrombose et éventuellement symptomatiques **(**Bruneval, 2003**).**

I.2.1.1.g. Fibro-atherome :

C'est la lésion typique de l'athérosclérose telle qu'elle est décrite dans la définition de l'OMS. Elle porte également le nom de plaque d'athérosclérose ou fibrolipidique. Son centre lipidique est entouré par une chape fibreuse composée de matrice extracellulaire abondante comprenant essentiellement des collagènes fibrillaires de type I et III, des glycoprotéines de structure, et des glycosaminoglycanes. Pour ce qui est de sa composante cellulaire, la chape fibreuse contient en majorité des cellules musculaires lisses, mais aussi des macrophages, des lymphocytes T, et des cellules endothéliales **(**Megnien et Touboul, 2003**) (figureI.9)**

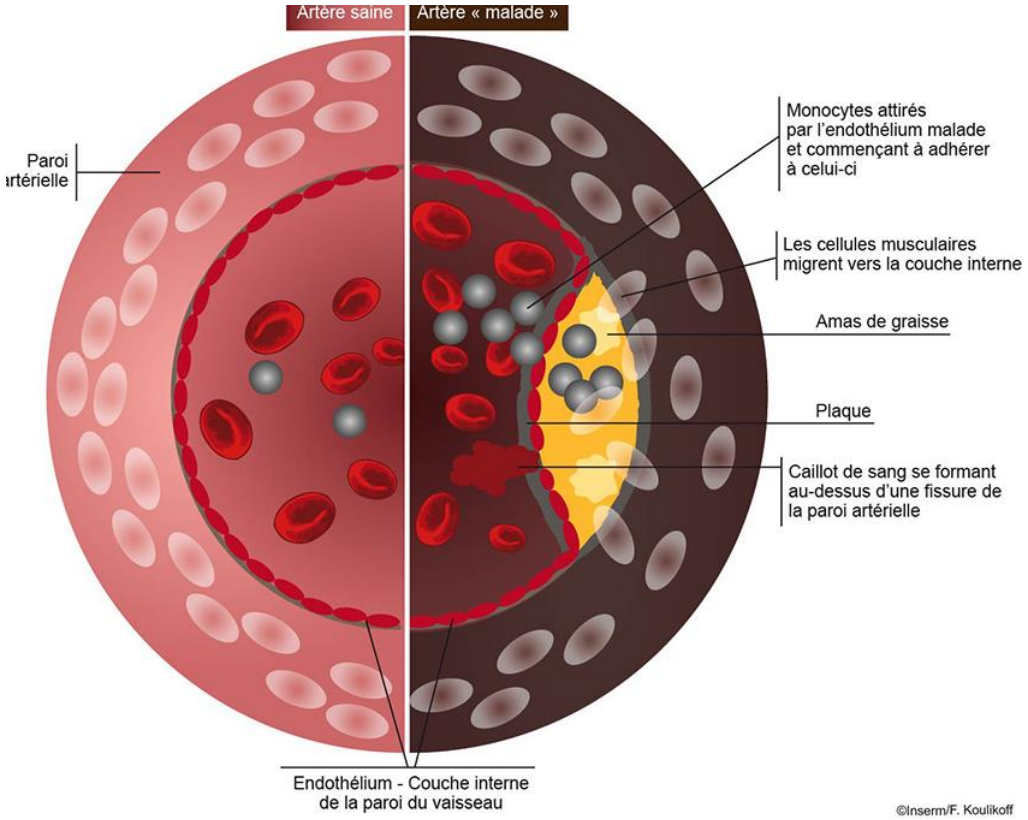


Figure :I.9. Plaque athéroscléreuse (Léoni, 2001)

I.2.2 L'Obésité, diabète et risque cardiovasculaire

I.2.2 .1. Définition de l'obésité

L'obésité est généralement définie comme une accumulation excessive ou anormale de graisse dans le tissu adipeux **(**FERRO-LUZZI et al., 1995**)**. La cause sous-jacente est liée à une balance énergétique positive(une régulation anormale de la balance énergétique et/ou de celle des macronutriments) conduisant au gain de poids. Lorsque les apports énergétiques sont supérieurs aux dépenses, l'excès des calories est stocké sous forme de triglycérides dans le tissu adipeux **(**ZIEGLER O et al.,2000**)** Les sujets obèses montrent des différences non seulement dans les excédents de graisse qu'ils accumulent, mais aussi dans la répartition anatomique de cette graisse, qui joue un rôle dans les risques associés à l'obésité et le type de maladie qui en résulte **(**DEURENBERG et al., 2003**)** .

Une simple mesure permet de définir si le poids est « idéal » : l'Indice de Masse Corporelle (IMC), qui relie le poids à la taille de l'individu. Il se calcule en divisant le poids corporel (en kg) par la taille (en mètre) au carré (kg/m2) **(** Despres et Lemieux., 2006**)**. Chez

l'adulte, l'excès de poids se définit par un IMC ≥ 25 kg/m2. L'obésité se définit par un IMC≥30 kg/m2; et l'état pré-obèse, par un IMC de 25,0-29,9 kg/m2. La surcharge pondérale (ou le surpoids) de l'adulte se définit par un IMC ≥25 kg/m2,bien que certains auteurs limitent cette notion à un IMC de 25,0-29,9 kg/m2 **(**Branca et al., 2007**).**

Au cours de l'obésité, l'augmentation de la masse adipeuse modifie la production de la plupart des adipokines. Certaines adipokines participent favorablement au maintien de l'homéostasie énergétique (adiponectine, leptine...), alors que d'autres ont un effet délétère sur le métabolisme **(**Dray et al., 2008**).** La leptine est une hormone peptidique de 16 kDa comportant 167 acides aminés **(**Gaucher et al., 2003**).** La leptine régule le poids corporel en diminuant l'appétit et en augmentant les dépenses énergétiques **(**Friedman et Halaas., 1998**).**

Tableau :I.2 : Classification du risque pour la santé en fonction de l'indice de masse corporelle (IMC) chez l'homme (WHO., 2000).

Classification	Catégorie de l'IMC (kg/m²)	Risque pour la santé (comparé un poids normal)
Poids insuffisant	< 18.5	Accru
Poids normal	18.5-24.9	Moindre
Surpoids	25.0 - 29.9	Accru
Obésité, classe I	30.0 - 34.9	Élevé
Obésité, classe II	35.0 - 39.9	Très élevé
Obésité, classe III	>40.0	Extrêmement élevé

I.2.2.2 Maladies associées à l'obésité

Il y a plusieurs problèmes sanitaires associés à l'obésité comme le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires et l'hypertension, les maladies respiratoires (le syndrome d 'apnée du sommeil), Certains cancers et l'ostéo-arthrite **(**Lean., 2000**).**

I.2.2.2.1. Hypertension artérielle (HTA) :

L'hypertension artérielle (HTA) plus fréquemment associée à **l'obésité** (Pathak et al.,2007). Le risque d' HTA est plus de 5 fois supérieur chez les sujets obèses que chez ceux ayant un poids normal (Wolf et al., 1997) . L'effet de l'augmentation de la masse corporelle sur le survient de l'HTA est lié à des mécanismes multiples ; principalement associés qui à l'augmentation de la viscosité sanguine ; ce quiconcourent à augmenter soit les résistances vasculaires périphériques, soit directement le débit cardiaque (Pathak et al., 2007) .

La viscosité sanguine engendrée est associé à la libération de pro fibrinogène et d'inhibiteur de l'activateur du plasminogène par les adipocytes avec une baisse de l'activateur du plasminogène (Skurk et Hauner., 2004). La capacité sécrétoire de l'adipocyte souligne le rôle actif du tissu adipeux viscéral dans la genèse de l' HTA. La leptine et l'adiponectine jouent un rôle dans ce sens. D' autres mécanismes sont impliqués, comme l'activation du système sympathique, les phénomènes inflammatoires, l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA), la dysfonction endothéliale (Pathak et al., 2007).

I.2.2.2.2. Diabète sucré :

Le diabète de type 2 (DT2) , est la maladie qui a les liens les plus étroits avec l'obésité et la surcharge pondérale. En effet, le risque de contracter un diabète de type 2 s'élève déjà avec l'IMC moins de 30 (Parillo., 2004). L'insulinorésistance dans le tissu adipeux, le muscle squelettique et le foie précède le développement du DT2 (Guilherme et al., 2008) . L'obésité est un déterminant majeur de l'insulinorésistance et de DT2. , l'apparition de DT2 étant quasiment sûre lorsque l'IMC est > 40 kg/m2 (Anderson et al., 2003) .

Le diabète de type 2 est caractérisé par une résistance à l'insuline et une carence relative de la sécrétion d'insuline. Son apparition est lente : il peut évoluer avec un degré d'hyperglycémie suffisant pour engendrer des atteintes organiques et fonctionnelles dans de nombreux tissus mais sans symptôme clinique et donc sans diagnostic pendant plusieurs années. Cette forme de diabète s'établie le plus souvent chez des personnes adultes et très majoritairement en surpoids (Monnier .,2010.)

La pathogenèse du diabète de type 2 est une maladie caractérisée par deux types d'anomalies qui s'installent en deux temps (Fontbonne A., 2014.)

D'abord, une insulino-résistance avec normo-glycémie maintenue aux prix d'une hypersécrétion insulinique « compensatrice » ;

Ensuite, basculement vers une insulino-déficience lorsque le pancréas n'arrive plus à produire la quantité d'insuline nécessaire à l'homéostasie métabolique. Le défaut de l'insulosécrétion est prédominant dans l'apparition du diabète de type 2 et dans son aggravation progressive dans le temps.

I.2.2.2.2.1 Mécanismes de l'insulinorésistance :

L'insulinorésistance est définie comme une diminution de l'action de l'insuline au niveau des tissus cibles : les muscles, le foie et le tissu adipeux, se traduisant par des défauts de captation du glucose au sein de ces tissus et un moindre frein de la production de glucose par le foie en réponse à l'insuline. (Monnier .,2010.) L'insulinorésistance est liée à des mécanismes complexes mêlant réaction inflammatoire, accumulation d'acides gras, stress oxydant et dysfonction mitochondriale (**Figure :I.10**.)

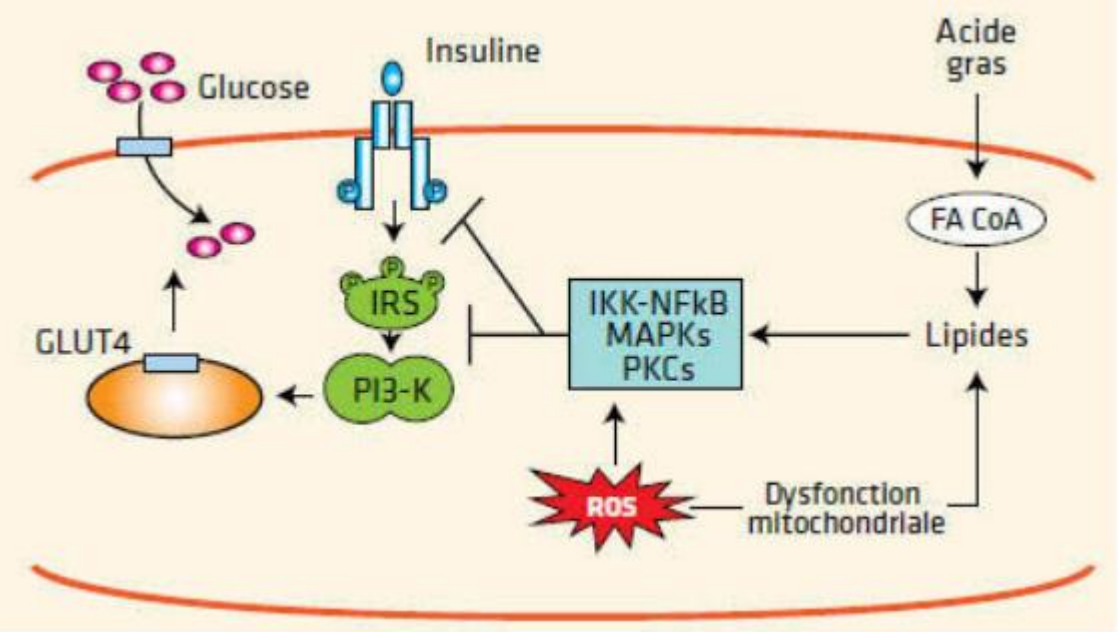


Figure :I.10..Mécanismes intracellulaires de l'insulinorésistance

I.2.2.3.Pathologies de métabolisme des lipoprotéines

I.2.2.3.1. Dyslipidémies

I.2.2.3.1.1. Définition

La dyslipidémie est une modification pathologique primitive ou secondaire des lipides sériques, qui correspond à une modification qualitative ou quantitative d'un ou plusieurs paramètres des lipides sériques **(**Bongard et Ferrieres., 2006**)** . La dyslipidémie athérogène correspond à une ou plusieurs anomalies, hypercholestérolémie, hyper-triglycéridémie, diminution du **HDL** cholestérol, augmentation du LDL cholestérol. Les patients dyslipidémiques sont définis par une augmentation des taux sériques de cholestérol et/ou des triglycérides. Ils ont de ce fait, le plus souvent, un risque accru de développer une athérosclérose dont les complications chimiques posent de graves problèmes de santé, en particulier lorsque sa localisation est coronaire **(**Kiran., 2010**)** .

I.2.2.3.1.2. Classification de Fredrickson des dyslipidémies

Selon Fredrickson il existe 6 classes des dyslipidémie comme suite**(**Bongard et Ferrieres., 2006**)**

Type I:hyper-triglycéridémie exogène (élévation des chylomicrons), très rare, non athérogène, car les particules sont trop grosses pour se déposer dans les vaisseaux.

Type IIa: hypercholestérolémie pure (élévation isolée du cholestérol-**LDL**)

Familiale homozygote (mutation du gène codant le récepteur cellulaire du **LDL**), de transmission autosomique dominante. Il s'agit d'une anomalie rare mais excessivement grave, associée à une élévation majeure de la cholestérolémie et à une athérosclérose et une mortalité cardiovasculaire très précoces familiale hétérozygote, très athérogène, car le patient est exposé toute sa vie à des taux élevés de cholestérol.

Non familiale, polygénique, la plus fréquente, se développant généralement au cours de la seconde moitié de vie.

Type IIb: dyslipidémie mixte (élévation des triglycérides, des **VLDL** et des **LDL**), fréquente.

Type III: augmentation des **IDL**, très rare.

Type IV : hyper-triglycéridémie endogène (élévation des triglycérides et des **VLDL**), fréquente, moins athérogène que la dyslipidémie de type

II.Type V: hyper-triglycéridémieendo/exogène (élévation des triglycérides, des **VLDL** et des chylomicrons), très rare.

Chapitre II: Le stress oxydatif associé au métabolisme lipidique

II. Le stress oxydatif associé au métabolisme lipidique

II.1. Généralités sur le stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre de balance entre oxydants et antioxydants, entraînant des dommages cellulaires ou bien organiques (Sies., 1991). L'effet délétère de ce stress est associé au développement d'espèces appelées « radicaux libres »-oxydantes- de façon excessive et rapide ; qu'elles ne peuvent être neutralisées par les systèmes de défense antioxydants. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que une superproduction de radicaux libres lors d'une respiration cellulaire défaillante ; ou bien un excès d'agents oxydants d'origine inflammatoire. Le stress oxydatif peut se développé lors d'une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, pollution atmosphérique, métaux toxiques) **(**Magder.,2006 **;** Defraign.,2008**).**

L'exposition chronique au stress oxydatif peut favoriser l'apparition de plusieurs affections, comme le dépôt de lipides oxydés, les fibroses, les cancers, maladies cardiovasculaires et mutations **(**Favier, 2003**).** Les radicaux libres peuvent détériorer la structure ou perturber le fonctionnement de plusieurs éléments cellulaires : protéines, lipides et acide nucléiques. Mais en paradoxe, la production des radicaux libres assure plusieurs effets physiologiques, ils sont impliqués dans le maintien de l'homéostasie cellulaire, prolifération, métabolisme et expression des gènes responsables au maintien de la vie cellulaire **(**Tessier et al., 1995**).**

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capable d'existence indépendante **(**Leverve et al., 2001**).**

D'une part, on assiste à la production des radicaux libres par plusieurs acteurs ; qui peuvent être endogènes comme dans la chaine de respiration mitochondriale des cellules à fort potentiel énergétique, les phagocytes, et les cellules endothéliales ; ou bien exogènes par exposition aux : métaux lourds, rayonnements ultraviolets ou ionisants, ou bien suite à l'oxydation des pesticides et médicaments **(**Leverve *et* al., 2001**)**. D'autre part, On peut distinguer -l'échelle cellulaire- les radicaux primaires et radicaux secondaires ; ces derniers se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde **O2•-** et le radical hydroxyle **OH•**, ou de l'azote tel le monoxyde d'azote **NO• (**Favier, 2003).

Les radicaux libres peuvent avoir deux dérivés ; celui de l'oxygène (**ROS** : reactive oxygen species) et celui de l'azote (**RNS** : reactive nitrogen species). Les **ROS** sont divisé en: **1.** Des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde **O2•,** les Radicaux hydroxyles **HO•**, peroxyle **ROO•,** alkoxyle **RO•**). **2.** Des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxide d'hydrogène **H2O2**, l'oxygène singulet **O2** et le nitroperoxyde (**ONOOH**) mais qui sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres **(**Favier, 2003**)**.

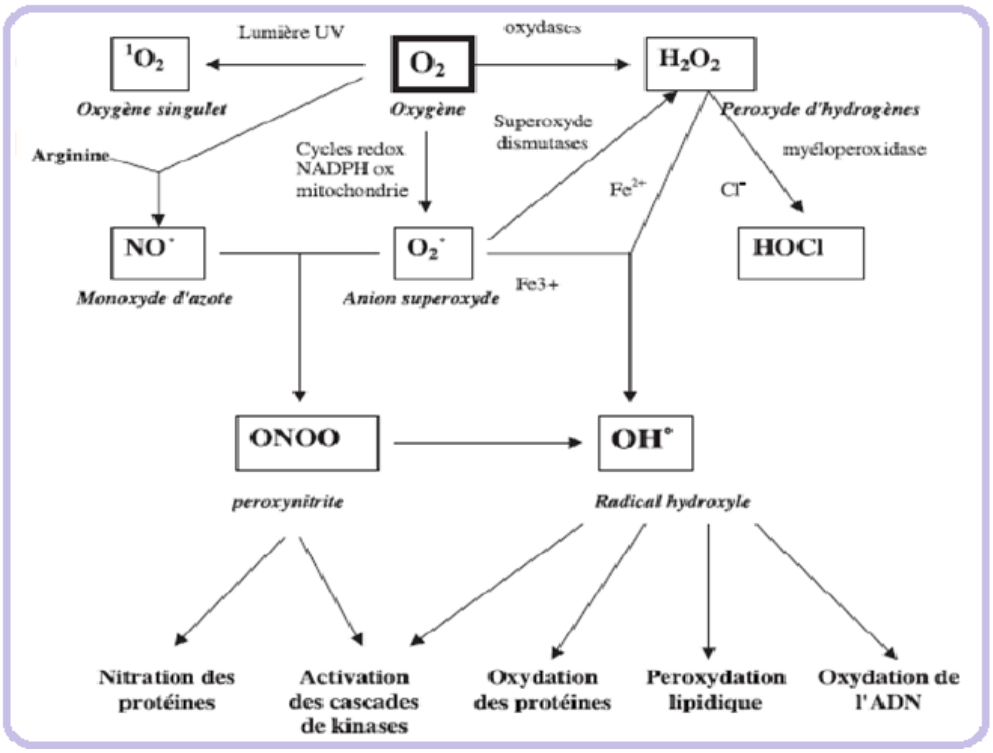


Figure II.11: Origine des différents radicaux libres oxygénés (Hazoutet al., 2008).

II.2. Le stress oxydatif et facteur de risque des maladies cardiovasculaire

En pathologie cardiovasculaire, il peut apparaître un déséquilibre provoqué essentiellement par une production exagérée d'**ROS** à laquelle peut s'associer un déficit des défenses antioxydantes. C'est en particulier ce qui se passe dans le développement de l'athérosclérose, où l'attaque oxydante des LDL_s les fait capturer par les cellules « éboueurs » (scavenger) venant accumuler des lipides dans le sous-endothélium et créer un cœur lipidique dans la plaque artérioscléreuse constituée.

Le stress oxydant intervient dans toutes les phases du développement de l'athérosclérose et de multiples manières ; citons les effets mitogéniques des LDL oxydées, les propriétés chimiotactiques et génotoxiques des produits de la peroxydation lipidique, la formation de monoxyde d'azote (Favier., 2003).

II.3. l'oxydation des lipoprotéines : Le LDL est le plus incriminé

II.3.3.1. Mécanismes d'oxydation des LDL

L'oxydation des LDL par voie chimique implique des oxydants et des ions de métaux. La peroxydation chimique des lipides résulte de l'attaque de substrats oxydables (les Acides Gras Poly-Insaturés (AGPI) étant plus oxydables que les acides gras saturés) par des radicaux oxydants. La dégradation en chaîne des acides gras, conduit à la formation d'hydroperoxydes instables qui vont également attaquer la composante protéique de la lipoprotéine **(**Witztum et al., 1991**)**.

Selon le modèle d'oxydation par le cuivre **(**Esterbauer et al., 1990 **;** Jurgens et al., 1987**),** l'oxydation des LDL se déroule en plusieurs étapes (Figure **II.12)** :

Une phase de latence permet à la consommation des antioxydants par les **ROS (**Terentis et al ., 2002**).** Ensuite, il Ya une initiation à l'attaque des acide gras polyinsaturés AGPI ; Ces derniers, sont particulièrement vulnérables du fait de leurs doubles liaisons. La peroxydation induit la formation de dienes conjugués et d'un radical **L•H** qui peut fixer O_2 pour former des radicaux peroxydes **(LOO•)** et d'autres dérivés oxygénés (radicaux alkoxyles, endoperoxydes, époxydes). Les radicaux peroxydes vont à leur tour réagir avec une molécule d'O2 pour induire une réaction en chaîne à l'origine de la propagation de la peroxydation Lipidique. En fin, la terminaison de l'oxydation survient soit par épuisement du substrat, soit par formation de dérivés stables (alkanes, alcools, cétones, aldéhydes, acides carboxyliques).

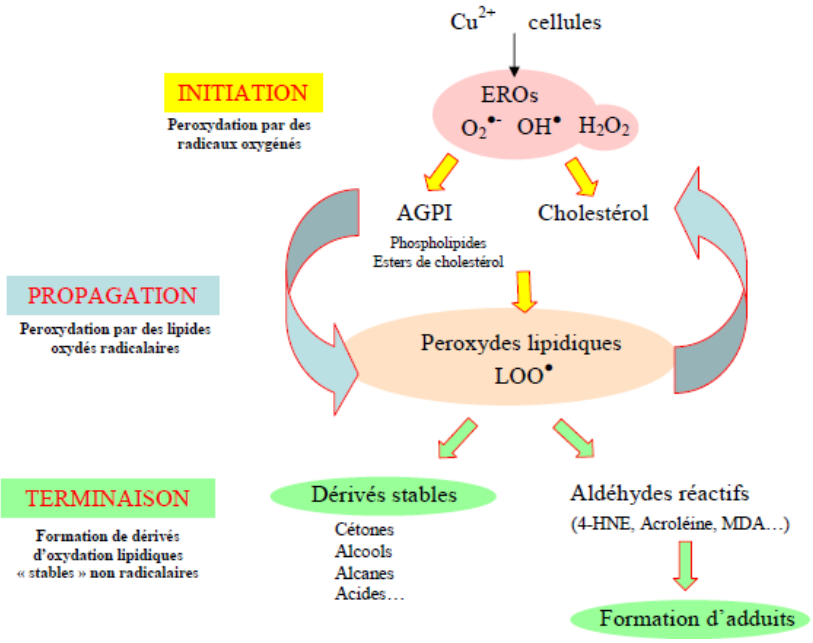


Figure : II.12 : Représentation simplifiée de la peroxydation lipidique.

EROs: Espèces réactives de l'oxygène ; **AGPI** : Acides Gras Poly Insaturés ;
4-HNE : 4-HydroxyNonEnal ;**MDA**: Malon Dialdéhyde

II.3.3.2. Oxydabilité des LDL

La sensibilité des LDL à l'oxydation est variable d'un sujet à l'autre ; on estime d'un taux LDL identique des deux patients peut conférer une vulnérabilité à l'oxydation différente et un risque cardiovasculaire divergent **(**Krauss ,1994**).** Ceci peut être expliqué partiellement par le ratio esters de cholestérol/apoB100 des particules LDLs. Ainsi, On distingue trois sous fractions d'LDL par leur taille : les grosses LDL qui s'avèrent les plus **légères** (densité 1.018 - 1.030 g/mL), Les LDL**s intermédiaires** (densité 1.030 - 1.040 g/mL) et les **petites** LDL caractérisé d'être les plus lourdes (1.040 - 1.065 g/mL).Les LDLs petites et denses sont plus oxydables probablement en raison d'une composition plus riche en esters de cholestérol et AGPI, et appauvrie en antioxydants **(**Chancharme et al., 1999**).** De plus, ces LDLs petites et denses sont augmentées dans certaines pathologies à risque cardiovasculaire élevé comme le diabète, l'hypercholestérolémie combinée et l'hypertension familiale dyslipidémique **(**Berliner, Heineken, 1996**).**

De plus, ces LDL petites et denses sont excessivement produites dans certaines pathologies à risque cardiovasculaire élevé comme le diabète, l'hypercholestérolémie combinée et l'hypertension familiale dyslipidémique **(**Kontush et al., 2003**).**

II.3.4. Métabolisme des LDL oxydées

II.3.4.1. Captation des LDL oxydées par les récepteurs scavenger

Les LDLs faiblement oxydées (ayant une apoB peu modifiée) sont captées par le récepteur apoB100/E (avec une affinité qui décroit au fur et à mesure des altérations structurales de l'apoB) et par certains récepteurs scavenger. Les LDLs fortement oxydées ont une apoB fortement modifiée (modification de la lysine de l'apoB, fragmentée) et sont captées principalement par les récepteurs scavenger des cellules musculaires lisses et des macrophages. Depuis le clonage du premier récepteurs scavenger sur des macrophages en 1990 **(**Kodama et al., 1990**)**, il a été identifié 8 sous classes différentes de récepteurs capables de se lier aux LDL modifiées. Les principaux récepteurs scavenger impliqués dans la captation des LDL oxydées sont représentés.

L'expression des récepteurs scavenger à la surface des cellules est amplifiée en présence des lipides (Tontonoz et al., 1998). La captation des LDL modifiées par les récepteurs scavenger est, d'une part, à l'origine de la formation des cellules spumeuses et, d'autre part, initie une cascade de signalisation qui régule l'activation des macrophages, la réponse inflammatoire, la production d'**EROs**, la prolifération ou l'apoptose des cellules. Les récepteurs scavenger sont donc impliqués dans les lésions précoces de l'athérosclérose (stries lipidiques) mais également dans les lésions avancées et compliquées (Moore et al., 2006**).**

Les principaux récepteurs scavenger impliqués dans la captation d' LDL oxydées sont :

- **Classe A :**

Les récepteurs « **SR-AI et SR-AII** », qui sont exprimés principalement à la surface des macrophages dont les macrophages spumeux **(**Naito et al., 1992), mais on les retrouve également à la surface des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses à l'intérieur des plaques (Daugherty et al., 1997**).**

Ces deux récepteurs sont responsables de la captation de 80% des LDL modifiées par les macrophages avec une affinité plus importante pour Les LDLs fortement oxydées vu qu'ils reconnaissent l'apoB100 modifiée (Kunjathoork et al., 2002). Ils sont également capables de lier les cellules apoptotiques **(**Murphy et al., 2005**)** dans les lésions avancées dans lesquelles l'apoptose des macrophages contribue à la formation du corps nécrotico-lipidique et à la déstabilisation de la plaque. Les récepteurs scavenger de classe A jouent un rôle dans l'induction de l'apoptose et dans la clairance de ces cellules apoptotiques **(**Devries et al., 2005**)**.

- **Classe B :**

Le **CD36** et le **SR-BI**, s'appartiens à la même classe, mais ont des fonctions différentes. Le CD36 a une distribution assez large (monocytes, macrophages, adipocytes, cellules endothéliales, plaquettes). et capable de lier les lipoprotéines natives (LDL, HDL, VLDL) et Les LDLs faiblement oxydées. Il est responsable de l'accumulation de 60 à 70 % des esters de cholestérol des macrophages exposées aux LDL oxydées **(**Kunjathoor et al., 2002**)**. Le CD36 est également capable de lier les lipoprotéines natives (LDL, HDL, VLDL) et Les LDLs faiblement oxydées (Calvo et al., 1998). La déficientes en apo E et en CD36, a permis de confirmer chez le souris que la captation des LDL oxydées par les macrophages via le CD36 est nécessaire à la formation des cellules spumeuses **(**Febbraio et al., 2004**)**. La transplantation de moelle osseuse issue de souris déficientes en CD36 dans des souris déficientes en apoE, entraîne une diminution des lésions atérioscléreuses aortiques **(**Febbraio et al., 2004**)**, confirmant le rôle pro athérogène de CD36**.**

Le **SR-BI** est exprimé par les cellules hépatiques, les monocytes et les cellules stéroïdogéniques des surrénales et des gonades, et capable de lier les LDLs modifiées, et les lipoprotéines natives. Le SRBI est impliqué dans la captation sélective des esters de cholestérol des HDL (sans internalisation de ces dernières) ainsi que dans le transport réverse du cholestérol permettant l'efflux cellulaire du cholestérol via les HDL **(**Acton et al., 1996**)**. Il est aussi exprimé à la surface des macrophages spumeux des lésions athéroscléreuses humaines.

Les souris déficientes en **SR-BI** développent des lésions athéroscléreuses lorsqu'elles sont soumises à un régime hypocholestérolémiant **(**Van Eck et al., 2003**).** Le rôle athéro-protecteur de **SR-B1** a été confirmé par la transplantation de moelle osseuse de souris déficientes en **SR-B1** dans des souris déficientes en LDL récepteur **(**Covey et al., 2003**)** ou en apoE **(**Zhang et al., 2003**)** qui développent alors plus de lésions athéroscléreuses.

- **Autres récepteurs:**

Le **CD68** appartient aux récepteurs scavenger de classe **D**. Il est exprimé majoritairement dans les endosomes et les lysosomes des macrophages et capable de lier Les LDLs oxydées, mais son rôle dans leur internalisation par les macrophages semble être mineur. Cependant, il contribue au processus endolysosomal de dégradation des LDL oxydées. Son homologue murin, la macrosialine, est exprimé dans les macrophages spumeux issus de plaques athéroscléreuses des souris déficientes en apoE **(**De Beer et al., 2003**)**, suggérant un rôle dans l'athérogénèse.

Le **LOX-1** (Lectin –likeoxidizedlowdensityreceptor) appartient à la classe **E** des récepteurs scavenger. Il est exprimé par les cellules endothéliales aortiques **(**Sawamura et al., 1997**)**, et a également été retrouvé à la surface des cellules musculaires lisses et des macrophages isolés de lésions athéroscléreuses humaines (Kataok et al., 1999). Le **LOX-1** est capable de liés les LDLs oxydées et les produits de glycation avancée, des cellules apoptotiques ou des bactéries **(**Mehta et al., 2006**).** La surexpression de **LOX-1** dans des souris déficientes en apoE conduit à une accélération du développement des lésions athéroscléreuses (Inoue et al., 2005), ce qui suggère un rôle proathérogène de **LOX-1.**

II.3.4.2. Dégradation des LDL oxydées

Les LDLs oxydées sont dégradées dans le compartiment endolysosomal et les lipides oxydés sont ensuite relégués à l'intérieur des cellules où ils vont exercer leurs effets toxiques. Cependant, Les LDLs oxydées sont dégradées plus lentement que Les LDLs natives. Les dérivés oxydés s'accumulent dans les lysosomes, les inactivent et induisent leur rupture conduisant à la mort cellulaire **(**Brown et al., 2000**).**

II.3.5. Les effet des LDL oxydées

II.3.5.1. La nature des LDL Oxydées

L'LDL oxydée peut présenter des particules oxydées variables. La nature précise de LDL oxydée dépend de la quantité d'oxydant, de ça la concentration, la durée et les conditions d'exposition. L'LDL incubée avec Cu2 + au fil du temps, présente un spectre de degrés d'oxydation ; et classées en minuscules, modérément oxydées, et LDL oxydé. En revanche, la circulation des LDL à modification minimale (MM-LDL), présente des modifications qui n'ont pas étés suffisantes pour provoquer des changements reconnus par les récepteurs (De Beer et al., 2003) mais plusieurs groupes ont confirmé la présence d'épitopes spécifiques de l'oxydation sur le MM-LDL **(**Harwood et al., 1991).

Les lipoprotéines oxydées contiennent un certain nombre de produits d'oxydation (phospholipides oxydés etoxysterols) qui ont été trouvés dans la paroi de l'artère et sont capables de traiter les processus associés avec différentes étapes de l'athérogènes. Lorsque les acides gras n-2 des phospholipides sont oxydé par les radicaux libres, différents types de produits oxydatifs sont formés. Ceux-ci inclus les phospholipides contenant des produits d'oxydation des acides gras (ceux-ci seront appelés oxydés des phospholipides, par exemple isoprostanes), les lys phospholipides et les produits de fragmentation de l'acide gras oxydés (par exemple malondialdéhyde). Les oxysterols dans la plaque proviennent de l'alimentation et / oxydation in vivo, ou (par exemple 27-hydroxycholestérol) sont formés de manière enzymatique pendant le catabolisme du cholestérol. Les phospholipides oxydés et les oxysterols sont toxiques et possèdent diverses activités biologiques potentiellement pro-homologuées **(**Harwood et al.,1993).

II.3.5.2. Cibles moléculaires des LDL oxydées :

Les LDLs oxydées peuvent interagir avec des éléments cellulaires à travers divers mécanismes. Les lipides oxydés de ces LDL modifiées diffusent probablement à travers la membrane plasmique et réagissent avec des composants membranaires. Les aldéhydes (MDA, acroléine, 4HNE) réagissent avec les groupements thiols et les fonctions aminées libres des protéines.

Les LDLs oxydées induisent la formation d'adduits 4-HNE ou acroléine sur les récepteurs à l'EGF (EGFR) et au PDGF (PDGFR) à l'origine de leur activation **(**Sucetal., 1998 **;** Escargueil et al., 2001**)** ; et à long terme, la dérivatisation de ces récepteurs modifie leur affinité pour leur ligand et inhibe leur activité tyrosine kinase **(**Robbesyn et al., 2005 **;** Vindis et al., 2006**).** La formation d'adduits peut également se faire sur d'autres protéines cellulaires (glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, hexokinase, aldolase, lactate déshydrogénase, glucose-6-phosphatase, DNA polymérases), ou des protéines de signalisation cellulaire (récepteurs β-adrénergiques, adénylatecyclase) et entraîner des dysfonctionnements de voies métaboliques ou de signalisation cellulaire **(**Negre et al., 2008).

D'autre part, les oxystérols contenus dans Les LDLs oxydées peuvent s'incorporer dans les membranes cellulaires et altérer leurs fonctions. Par exemple, l'incorporation de 7-kétocholestérol dans les micro domaines lipidiques de la membrane plasmique est à l'origine de la translocation d'un canal calcique dont l'activation conduit à l'apoptose de macrophages (Berthier et al., 2004). Les oxystérols pourraient également être impliqués dans la rupture des membranes lysosomales **(**Yuan et al., 2000).

Enfin, Les LDLs oxydées peuvent réguler de nombreux facteurs de transcription comme **NFAT**, **STAT1**, **STAT3** ou **NF- κB** et ainsi modifier l'expression de gènes.

II.3.5.3. les effets athéro-gèniques des LDL oxydées : Preuves in-vivo :

Les LDLs oxydées induisent la surexpression de diverses protéines impliquées dans L'athérogénèse, en occurrence :

- La surexpression par l'endothélium de protéines d'adhésion (sélectines,**VCAM-1**) qui Facilite le passage des leucocytes dans l'intima **(**Ross, 1990**).**
- la surexpression de récepteurs scavenger favorise la captation des LDL oxydées et la formation des cellules spumeuses **(**Steinberg et al., 1989**).**

- la surexpression de facteurs de croissance et cytokines qui favorise l'accumulation des macrophages dans les lésions (MCP-1, Granulocyte Macrophage-ColonyStimulating Factor (GM-CSF)), la prolifération des cellules musculaires lisses (PDGF), et la réponse inflammatoire (TNFα, IL-1) **(**Libby, 2000 **;** Ross, 1990**).**

- la surproduction de matrice extracellulaire est impliquée dans la fibrose, la sténose, la rétention des lipoprotéines dans la plaque et dans la stabilité de la plaque **(**Kaplan ,2001**).**
- la surexpression de métalloprotéases stimule la migration cellulaire, le remodelage vasculaire, mais aussi fragilise la plaque **(**Rajavashisth et al., 1999**).**

- la surexpression d'enzymes oxydantes (15-lipoxygénase) pourrait aggraver le processus oxydatif **(**Galle et al., 2006**)**

- une modulation des protéines de l'hémostase dans un sens globalement pro thrombotique avec une augmentation de production de facteur tissulaire par l'endothélium et de thromboxane par les plaquettes **(**Berliner, 1996**).**

- Les LDLs oxydées exercent un effet biphasique sur les cellules vasculaires. En culture. Elles sont mitogènes à faible concentration et cytotoxiques à plus forte concentration. L'effet mitogène est médité par l'activation concomitante de voies de signalisation mitogènes, par des médiateurs sphingolipidiques (sphingomyéline/céramide/sphingosine-1-phosphate) qui activent la voie des MAP Kinases **(**Auge et al., 2000**)**, et de voie de survie impliquant le récepteur à l'EGF et la PI3kinase **(**suc et al .,1998**)**.
- L'augmentation du calcium cytosolique induite par Les LDLs oxydées, est un évènement majeur de la signalisation cytotoxique des LDL oxydées, à l'origine de la mort par apoptose ou nécrose.

II.6. Mesure du stress oxydatif orienté à la dyslipidémie

II.6.1. Mesure des F2-isoprostanes

Les isoprostanes F2 sont des isomères de prostaglandine produits à partir de l'acide arachidonique par un radical libre catalysé. Ils ont été trouvés dans la plaque athérosclérotique humaine. Les F2-isoprostanes plasmatiques et ces métabolites urinaires peuvent être mesurés en masse, ce qui représente une analyse non invasif pour titrer *in-vivo* la peroxydation lipidique. La spectrométrie et la méthode ELISA ont été utilisées comme marqueur du stress oxydatif ou de la peroxydation lipidique (Meagher et al.,2000).

Les F2-isoprostanes sont des produits spécifiques de la peroxydation lipidique; ils sont des composés stables et sont détectables dans tous Les fluides biologiques et les tissus, permettant la définition d'une gamme normale; leur formation augmente de façon spectaculaire in vivo dans un certain nombre de modèles animaux de lésions oxydatives et leurs formation est modulée par un état antioxydant. Des niveaux accrus de F2-isoprostanes ont été signalés chez les fumeurs, et dans les sujets atteints de diabète, hyperlipidémiques et hyperhomocystéinémiques (Kostneret al.,1997).

II.6.2. Mesure des MDA (TBARS)

Un autre indice largement utilisé de la peroxydation des lipides ou des lipoprotéines est la mesure de la Malon dialdéhyde (MDA) par dosage TBARS avec spectrophotomètre (Esterbauret al .,1990**)**. Beaucoup d'enquêteurs l'ont utilisé pour mesurer le degré d'oxydation des lipides ou des lipoprotéines in vivo **(**Meagher, 2000**).** L'MDA est un produit secondaire de la peroxydation lipidique. Ce dosage n'est pas spécifique et peut être interféré par d'autres composés dans l'échantillon biologique. Cependant, le plasma TBARS a montré une augmentation des patients CAO par rapport aux témoins sains dans certaines études (Kostneret al., 1997).

II.6.3. Les auto-anticorps contre LDL-Oxydé

La peroxydation des acides gras et des esters de cholestérols dans les lipoprotéines engendre des produits hautement réactifs, tels que le malondialdéhyde (MDA) et 4-hydroxynonénal (4-HNE). Ces derniers peuvent former des adduits covalents avec de le résidu de la lysine de la protéine ApoB. Les néoépitopes générés par la modification de la lysine sont immunogènes. Expérimentalement, Les antisérums et les anticorps monoclonaux contre les épitopes de la MDA-lysine ou de la 4-HNE-lysine peuvent donc être généré par immunisation de cochons d'inde et de souris avec des MDA-LDL ou4-HNE-LDL modifiées *in-vitro* avec MDA ou 4-HNE. Ces anticorps ont contribué à établir les méthodes de recherche de l'Ox-LDL dans les sérums et les lésions athérosclérotiques **(**Gastaldelli .,2000**).**

Un dosage mesurant le niveau de l'auto anticorps contre les néo-epitopes des LDL oxydéesou modifié par MDA a été développé comme indicateur indirecte de l'oxydation *in-vivo* des LDL. (Salonen et al., 1992) ont rapporté une association entre les titres d'autoanticorps contre LDL fortement oxydé et la progression de l'athérosclérose carotidienne. Cependant, la relation entre le titre de l'autoanticorps et l'athérosclérose coronarienne ou carotidienne n'a pas été cohérente **(**Orchard et al ., 1999**)**. Cependant, Il y a une grande variabilité sur e même échantillon de sérum lorsqu'on utilise des préparations différentes d'LDL oxydées.

II.6.4. Mesure quantitative ELISA des LDL-Oxydé

Les méthodes ELISA sont plus sensibles pour mesurer "directement" une faible quantité de LDL oxydée en circulation dans le plasma **(**Lean,2000**).** Différents anticorps monoclonaux contre un néo-epitope sur les motifs aldéhydiques d'apoB-100 de LDL oxydé ou sur phosphatidylcholine sont utilisés pour reconnaître Les LDLs oxydées circulants. Cependant, l'étendue des modifications et la reproductibilité des préparations d'Ox-LDL de référence utilisées pour dosages posent un problème de sélectivité. En sachant qu'il existe de nombreux et différentes populations de LDL ; La quantification de L'Ox-LDL sera amélioré lorsque les épitopes utilisés seront mieux délimités et plus stable **(**FRANCIS et al .,2009**).**

Chapitre III: Matériels et Méthodes

III. Matériels et Méthodes :

Notre étude est une recherche prévisionnelle sur l'oxydation des lipoprotéines et le statut oxydatif chez différentes catégories de sujets à risque de contracter un trouble cardiovasculaire. En effet, nous focalisons notre travail sur deux volets : 1. Les malades qui ont subi des affections de cardiopathies ischémiques (athéroscléroses de différentes formes, insuffisances coronariennes, péricardites et IDM) et 2. Les personnes atteintes de diabète de type2. Nous avons établi les mesures biochimiques usuelles (bilan lipidique et statut de glycorégulation) ; l'évaluation spectrophotométrie du statut oxydatif des sérums (mesure de la peroxydation lipidique en terme de TBARS et le taux antioxydant total) ; et enfin la mesure de la concentration de LDL oxydé par la méthode ELISA.

Le résumé de notre étude est illustré dans le diagramme suivant :

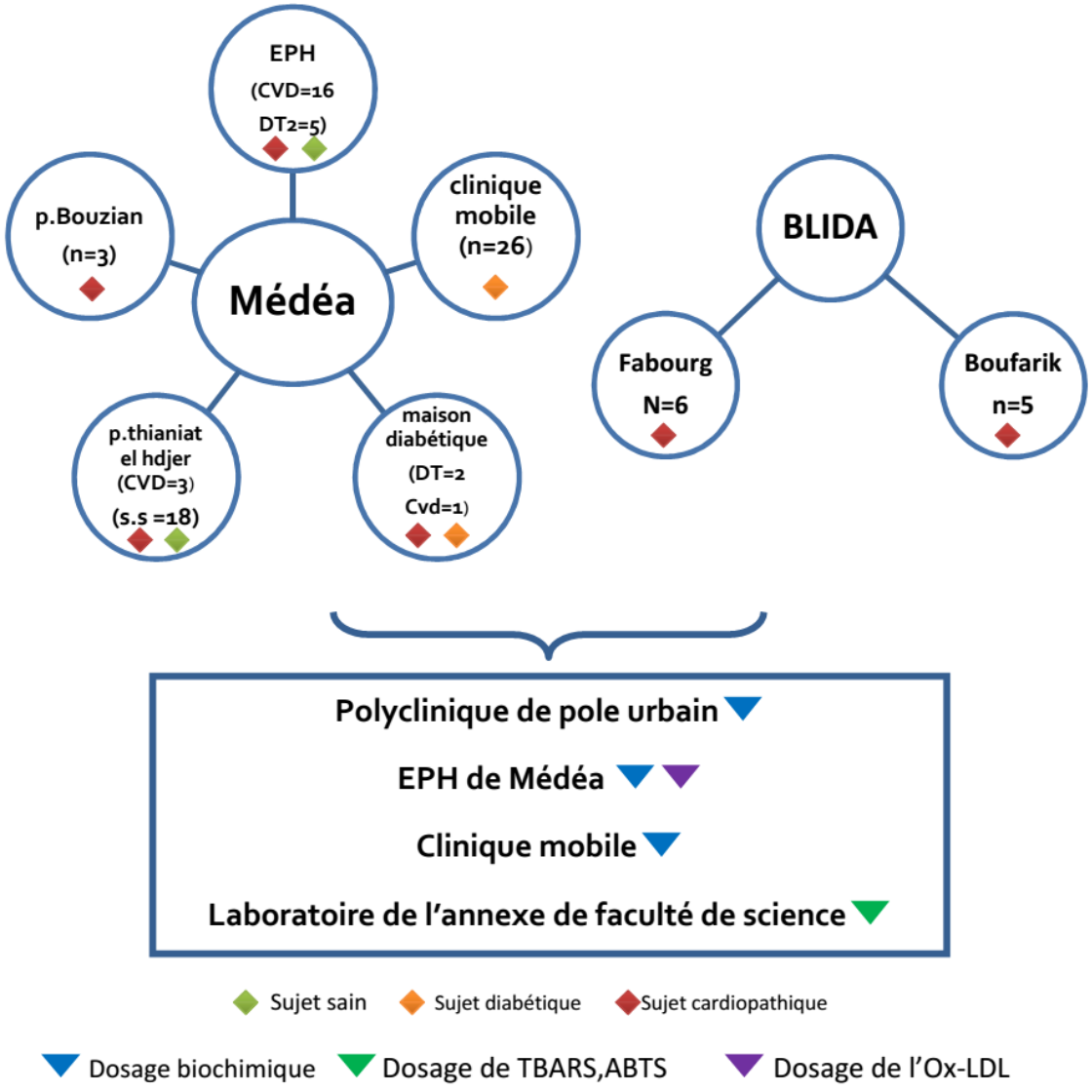


Figure 3.1 : Diagramme d'étude expérimentale

III.1. Le cadre d'étude :

Notre travail s'est étalé de Septembre à Décembre 2016 et de Mars jusqu'à Aout 2017. Notre recherche des sujets de choix a été réalisée au niveau des différentes enceintes de santé publique. En occurrence :

Dans la wilaya de Blida

- L'hôpital « Brahim Tirichine » Ex-Faubourget L'hôpital de « Boufarik », services de Médecine interne ; le centre diabétique « Bounaama El Djilali ». Respectivement pour la collecte d'informations, bilans et sérums des sujets concernés.

Dans la wilaya de Médéa

- L'hôpital « Mohamed Boudiaf », service de Médecine interne ; la maison diabétique du « pôle urbain » et les polycliniques de « theniat el-hdjer », « Bouziane » et « pôle urbain ». Respectivement pour la collecte d'informations, bilans et sérums des sujets concernés.

Nous avons saisi l'occasion d'une manifestation organisée par « novo nordisk » sous forme d'une clinique mobile « changing diabetes » de dépistage des sujets diabétiques pour collecter quelques sujets de choix pour notre étude. Cette manifestation de 10 jours s'est déroulée pendant le mois de Mai 2017.

III.2. Population étudiée :

L'étude comprenait les participants choisis parmi les patients consultants dans les enceintes précédemment décrites. Les critères de choix sont basés sur une anamnèse, les résultats des bilans biochimiques et fiches de consultations (voir annexe).

- *Critères d'exclusion*

  Nous avons exclus de notre recherche les patients qui présentent d'autres affections qui pourrait influencer notre étude, malgré leur état diabétique ou bien de cardiopathies. Par exemple : les patients consultant qui présentent une BPCO, L'hyperthyroïdie, Insuffisance Rénale, diabète gestationnel, diabète de type 1 ou bien de cancer sont exclus.

❖ *Critères d'inclusion*

Notre recherche a assemblé 200 sujets choisis selon : 1). les maladies contractées ; 2).Un statut de dyslipidémie et 3.) La prédisposition à l'hypertension.

Nous n'avons sélectionné que 80 personnes seulement qui ont présenté les valeurs les plus élevées et/ou les dispositions pathologiques les plus graves.

Les sujets sélectionnés (n=80) sont répartis comme suit :

- Groupe maladies cardio-vasculaires (CVD) : 30 patients
- Groupe diabétique de type 2 (DT2) : 32 patients
- Groupe témoins : 18 personnes seins

III.3. Méthodes et Paramètres étudiées :

III.3.1. Statut anthropométrique :

Le statut anthropométrique a été évalué pendant l'anamnèse. Il permet de déterminer le niveau de l'adiposité des patients étudiés. Le statut est basé sur :

- les mesures de poids corporel par pesée (kg)

- La taille (cm)

- Tour de taille (cm) établi par un ruban métrique sur la région abdominale

- IMC : nous avons calculé l'indice de masse corporelle (IMC) comme suit :

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

On a pris les différentes classe d'IMC selon la classification de WHO, 2000 , et qui est indiquée dans le **tableau1.2** ; page 17.

III.3.2. Statut hémodynamique :

C'est la mesure de la pression artérielle qui est établie par un sphygmomanomètre et un stéthoscope. La pression systolique (BPS) et diastolique (BPD) révélée en mmHg sont notées.

III.3.3. Prélèvement sanguin :

Les prélèvements sanguins se font le matin après un jeûne de 12 heures, sur la veine du pli du coude, sur deux tubes avec anticoagulant (EDTA) et un tube hépariné pour chaque patient. Tous les prélèvements sont étiquetés et répertoriés de manière précise. Le sang hépariné est utilisé pour le dosage de cholestérol total (CHOL), triglycéride (TG), et la glycémie (Glyc).

Le premier prélèvement de sang EDTA est utilisé pour le dosage de High density lipoprotein (HDL).

Le deuxième prélèvement de sang EDTA est centrifugé à 3000 tours / min pendant 15 minutes. Le plasma récupéré est conditionné et stocké à -80°C ; il sert ultérieurement pour la détermination des marqueurs du stress oxydatif plasmatiques (TBARS et ABTS) et à la mesure d'LDL oxydé par ELISA.

III.3.4. Mesures Biochimiques :

III.3.4.1. Dosage de glucose :

Le glucose sérique est déterminé par méthode colorimétrique et enzymatique (GOD-POD) par le (Kit BIOMAGHREB ®) en terme de g/l. Brièvement, En présence du glucose oxydase (GOD), le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène, ensuit le peroxyde d'hydrogène formé réagit en présence de peroxydase (POD) avec un chromogène pour donner un produit coloré (rose), la quinonéimine, ce dernier absorbe a 505 nm, l'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration du glucose présente dans l'échantillon.

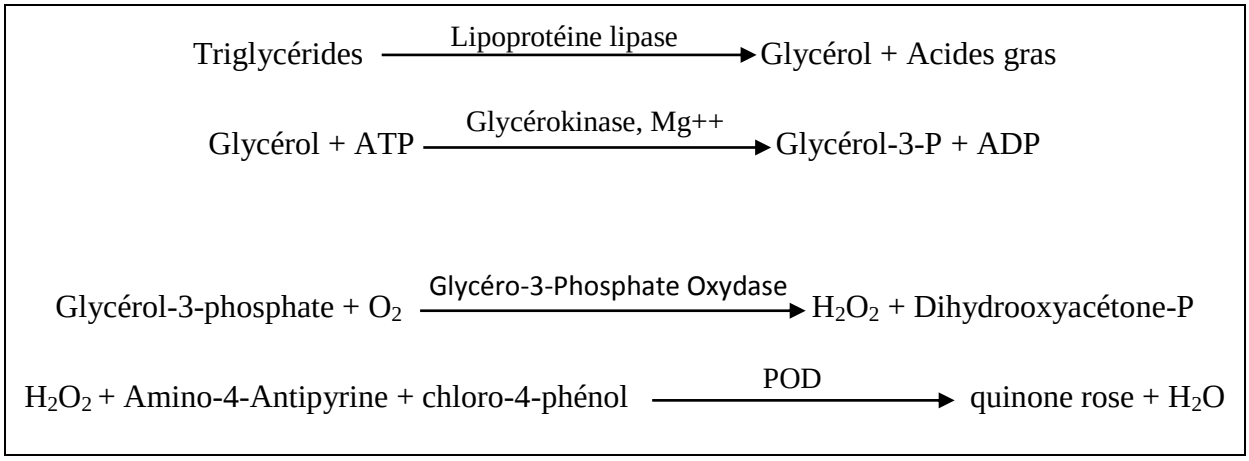
$$\text{B-D-Glucose} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{GOD}} \text{acide gluconique} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{amino-4-antipyrine} + \text{phénol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{quinonéimie} + 4\,H_2O$$

III.3.4.2.Dosage du bilan lipidique **:**

1. Dosage des triglycérides (TG):

Les triglycérides sériques sont dosés par méthode colorimétrique et enzymatique (GOP –POD), est sont déterminés selon les réactions suivantes :

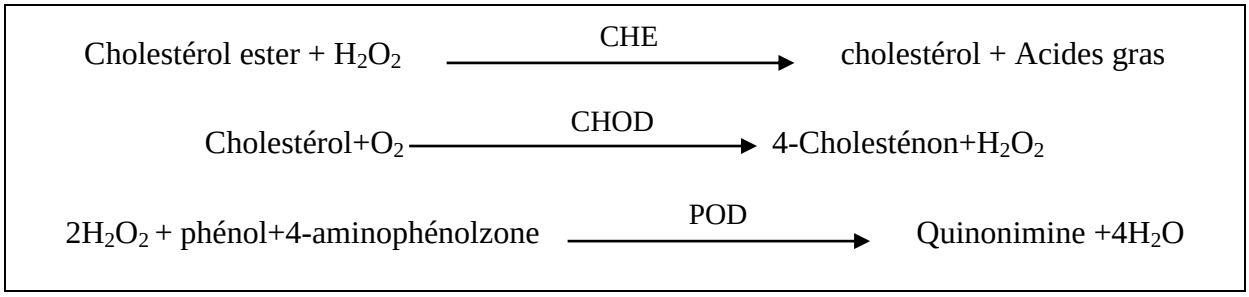


L'échantillon de triglycéride incubé avec lipoprotéines lipase (LPL), libère le glycérol et des acides gras libres, le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (3p) et ADP par le glycérol kinase. Le glycérol-3-P est ensuite converti par le glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en di-hydroxyacétone-P et peroxyde d'hydrogène.

Dans la dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) réagit avec 4-amino-4-antipyrine et chloro-4-phénol en présence de peroxydase (POD) pour donner la quinone de coloration rose. La concentration est déterminée à une longueur d'onde de 505 nm. (Kit BIOMAGHREB ®) en terme de g/l.

2. Dosage du cholestérol (CHOL):

Le cholestérol sérique est dosé par méthode colorimétrique et enzymatique (CHOD – POD), le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré suivant les réactions suivantes :



Les esters de cholestérol sont hydrolysés par le cholestérol ester hydrolase en cholestérol libre et acides gras. Le cholestérol libre produit et celui préexistant est oxydé par l'enzyme cholestérol oxydase en 4-cholesténone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier en présence de peroxydase, le chromogène s'oxyde en un composé coloré rouge, quinoneimine. La concentration de quinoneimine coloré est mesurée à 505 nm par leKit (SPINREACT ®) et exprimé en termes de g/l.

3. Dosage de High density lipoprotein (HDL)

Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et faible densité (LDL) du plasma se précipitent avec l'acide phospho-tungstique en présence d'ions de magnésium. Après leur centrifugation a 4000 RPM pendant 10 minutes, le surnageant contient les lipoprotéines de haute densité (HDL). La mesure d'HDL est déterminée employant le réactif de l'enzyme cholestérol total (Kit SPINREACT ®) et exprimé en termes de g/l.

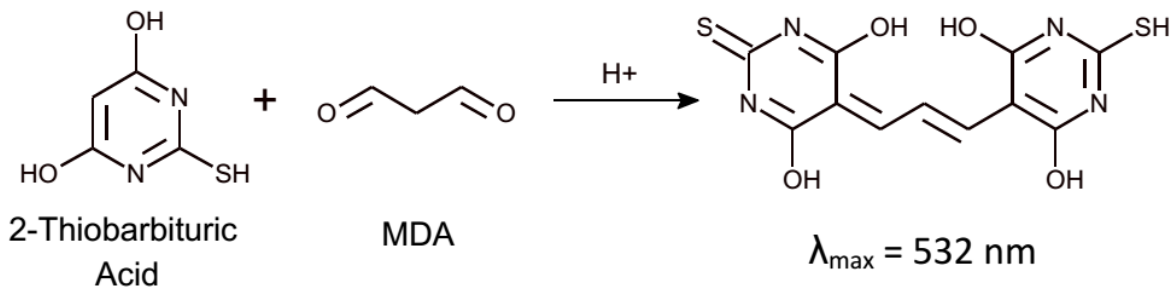
4. Calcul de low density lipoprotein (LDL) :

Les lipoprotéines de faible densité est calculé selon la formule suivante :

$$LDL = Cholestérol - HDL - (TG/5)$$

III.3.5. Evaluation de la peroxydation lipidique (TBARS) :

L'évaluation de la peroxydation lipidique dans les sérums des différents patients est établie selon la méthode traditionnelle pour la détection de malonaldehyde (MDA) et exprimée en terme Thiobarbituric Réactive Substances (TBARS). Les MDA se forment après dégradation complète des lipides et identifiés d'être un marqueur de peroxydation lipidique. Le test est basé sur une réaction chromogénique qui s'établisse entre deux molécules l'acide thiobarbiturique et une molécule d'MDA, sous une condition acide et à haute température. Le complexe TBA-MDA est un chromogène rose mesuré par spectrophotométrie à λ= 532 nm.



La mesure d'MDA est exprimée en TBARS et établie selon la méthode de (Buegue, 1978) Brièvement, après qu'on a préparé une solution de TCA-TBA-HCL à 15% w/v acide trichloroacetique ; 0.375% w/v acide thiobarbiturique, 0.25N acide hydrochloride. ; On mélange dans un tube eppendorf 0.5ml d'échantillon (sérum) décongelé avec 1 ml de TCA-TBA-HCL. Le mélange est chauffé à 90°C pendant 30 min et la coloration rose est obtenue. Directement, les échantillons sont refroidis par un bain de glace pour stopper la réaction entre TBA et MDA. Ensuite on centrifuge les échantillons traités à 1000xg pendant 10 min. L'absorbance du surnageant est mesurée à une densité optique λ= 532 nm.

La concentration de TBARS (MDA) est calculée en utilisant le coefficient d'extinction d'MDA selon l'équation suivante :

$$\text{TBARS [MDA]nmol} = \text{Absorbance} / 1.56 \cdot 10^{5}\, M^{-1}\, cm^{-1}$$

III.3.6. Activité antioxydante totale à l'égard du radical ABTS:

L'activité scavenger sur le radical $ABTS^{o+}$ a été mesurée selon la méthode de **Re et al. (1999) ;** le mode d'emploi est détaillé en annexe.

Brièvement, L'ABTS est solubilisé dans l'eau distillée à une concentration de 7 mM. Le radical cation ($ABTS^{o+}$) est produit en faisant réagir la solution d'ABTS avec du persulfate de potassium à une concentration finale de 2,45 mM. Le mélange a été laissé au repos, à l'obscurité et à température ambiant pendant 12-16h avant l'utilisation. La solution $ABTS^{o+}$ a été diluée avec de l'eau distillée à une absorbance de 0,70 ± 0,02 à 734 nm. Après addition de 1 ml de la solution $ABTS^{o+}$ à 10 µl de chaque échantillon, la lecture a été prise 6 minutes exactement après le mélange initial comme le montre la figure 9. Le pourcentage d'inhibition à 734 nm a été calculé comme suit :

$$\%\ \text{d'inhibition ABTS} = \frac{AT - AE}{AT} x\ 100$$

AT = Absorbance du témoin
AE= Absorbance de l'échantillon

III.3.7. Dosage des LDLs oxydés par la méthode ELISA (Ox-LDL) :

La masure des LDLs oxydés (Ox-LDL) est basée sur la technologie « enzyme-linked immune-sorbent assay » ELISA ; pour une détermination quantitative *in-vitro* dans le plasma sanguin.

Le Kit Ox-LDL ELISA (Biomatik ®, Canada) est un kit sandwich quantitatif qui se présente en forme de plaque de microtitration de 96 puits mené avec les réactifs nécessaires à l'élaboration de la méthode. Chaque puits est préalablement chargé par un anticorps anti-Ox-LDL. Un anticorps anti-Ox-LDL est utilisé pour fixer les éventuels Ox-LDLs ; et un deuxième anti-anticorps conjugué à la peroxydase est utilisé comme l'anticorps de détection. Les standards, les échantillons et les anticorps sont ajoutés d'une manière subséquente ; le lavage élimine les anticorps non réactifs. La tétraméthylbenzidine (TMB) est ensuite ajoutée et utilisée comme substrat pour la peroxydase afin de produire une couleur bleu qui change en jaune après l'ajout de la solution stop. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration d'échantillon en Ox-LDL.

La lecture est faite par un lecteur ELISA (URIT 660 ®, China) à une DO = 450 nm. Le calcul de la concentration d'Ox-LDL est déterminé à partir de courbe étalonnage suivant.

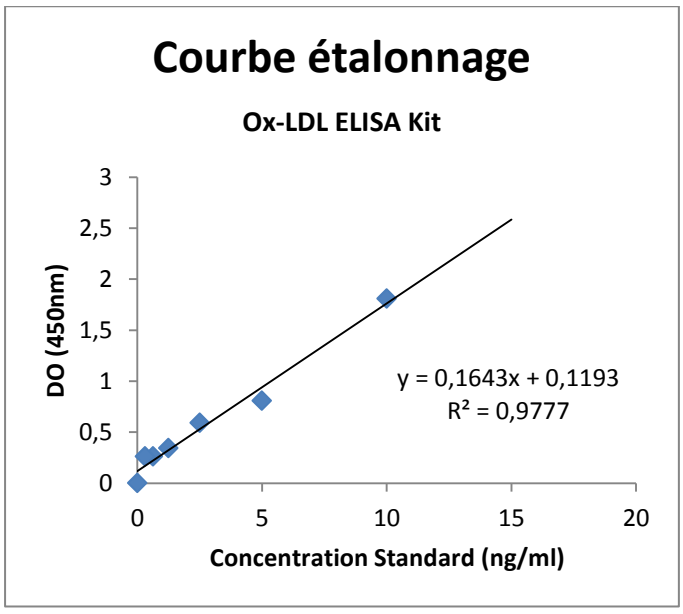


Figure. III.2 :Courbe étalonnage de mesure ELISA d'Ox-LDL

III.4. Analyse statistique:

L'analyse statistique des données collectées est effectuée en utilisant le logiciel STATVIEW ® (version 5.0) pour Windows™ ; les données analysées sont exprimées en moyenne ± Ecart-type.

Pour comparer les groupes CVD, DT2 avec le groupe 'Témoins', les données sont analysées statistiquement par « one-way ANOVA ». Les groupes CVD, DT2 et Témoins sont groupés en une variable nominale à trois niveaux et utilisée comme la variable « d'effet » indépendante. L'analyse ANOVA est suivie par un test à posteriori PLSD de Fisher afin d'examiner les valeurs des moyennes des variables dépendantes (Age, Poids, IMC, CHOL, TG, HDL, LDL, TBARS, ABTS et Ox-LDL) et de décider à quels degrés sont différentes. Une valeur de $p<0.05$ est considérée comme une différence statistiquement significative ; « * = $p<0.05$ », « ** = $p<0.01$»et « *** = $p<0.001$».

La corrélation de SPEARMAN est utilisée pour examiner les relations entre le stress oxydatif et les paramètres biochimiques. La valeur de rho de SPEARMAN est comprise entre -1 et +1 ; la valeur 0 indiquant une absence de corrélation entre deux variables. Une valeur de $p<0.05$ est considérée comme une corrélation statistiquement significative.

Chapitre IV : Résultats et discussion

Ce chapitre présente les détails des résultats expérimentaux de notre étude, il illustre l'analyse et la discussion des différents paramètres afin de répondre et d'accomplir respectivement notre problématique posée et objectif fixé.

Notre étude était fondée sur l'analyse des paramètres biochimiques (Glycémie et bilans lipidiques) et l'évaluation du statut oxydatif ; appariée avec la mesure d'LDLs oxydés chez les patients diabétiques et de cardiopathies. En premier, nous décrivons les caractéristiques des paramètres analysés sur la population étudiée. Ensuite, nous établissons une comparaison entre les différents groupes étudiés (**CVD**, **DT2** et **Témoins**) pour voir les degrés d'effet des affections contractées sur les paramètres choisis. En fin, nous établissons des jeux de corrélation entre les différentes analyses.

IV.1. Les caractéristiques globales des sujets étudiés :

❖ Résultats des paramètres anthropométriques et hémodynamiques :

Le tableau 4.1 représente les critères anthropométriques et hémodynamiques de l'ensemble des sujets (n=80) introduits dans l'étude. La moyenne **d'âge** n'excède pas les 60 ans, avec un maximum enregistré de 85 ans. Les personnes âgées de 40 ans à 63 ans représentent la majorité de nos patients avec 58.75% ; la tranche d'âge de plus de 65ans représente 31.25 % (24% pour la tranche d'âge [63-74]ans) ; les personnes de [32-42] ans ne représentent que 10% de notre échantillon. Notre étude ne porte pas des personnes de moins de 32 ans.

Tableau 4.1 : les caractéristiques anthropométriques et hémodynamiques des sujets étudiés (n=80)

	MOYENNE ± ECARTYPE
Age (ans) :	57.58 ±12.23
IMC (Kg/m²)	29.66±5.29
T.T (cm):	98.62±15.82
PAS (mmHg) :	133 .6± 28.49
PAD (mmHg) :	79.21± 12 .31

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD

IMC : indice de masse corporelle, **TT** : Tour de taille, **PAS** : pression artériel systolique, **PAD :** pression artériel diastolique

L'IMC des sujets analysés s'apparait avec une moyenne proche à la valeur limite de l'obésité, elle est de 29.26 ± 5.39 kg/m^2. En circonstance, les personnes obèses (**IMC**> 30) de toutes classes confondues représentent 50% de la totalité des patients ; alors que les personnes en surpoids ne représentent que 22.9% ; alors que les personnes à poids normal représentent 27.02%.

On a constaté aussi que les valeurs **d'IMC** augmentent avec **l'âge** des patients ; en effet, sur 47 sujets âgés de [42 - 63] ans, le surpoids et l'obésité ont une fréquence élevée avec 29.7% (14 sujets) et 46.8 % (22 sujets) respectivement ; alors que l'obésité est la plus dominante (60%) chez les sujet les plus vieux (de >63 ans).

Le tour de taille est un indice de mesure morpho-métrique qui estime le degré de dépôts de graisse dans la région abdominale. Le tour de taille (**TT)** moyen des sujets étudiés est de 98.48 ±16.09cm avec une étendue de 70 cm jusqu'à presque deux fois de mesure de 133 cm. On a remarqué que la majorité des sujets à **IMC** normal ont un TT faible de <100cm ; alors que la majorité (76.3 %) des personnes obèses ont un TT >100 cm.

Les marqueurs de l'hypertension, exprimés en Pression artérielle systolique (**PAS)** s'apparait avec une valeur moyenne de 133 ± 29.26 et la pression artérielle diastolique **(PAD)** présente une valeur moyenne de 79.01± 12 .52**.**

❖ Les paramètres biochimiques :

Tous les paramètres qui apparaissent dans le tableau 4.2 ont été mesurés sur un sérum frais après 12 heures de jeûne. Le profil du cholestérol **CHOL** se montre avec une moyenne de 1.88 ±0.55 g/l avec des extrêmes de 0.6 à 2.99 g/l. Le niveau plasmatique de **TG** présente 1.39±0.64 g/l avec un minimum 0.32g/let un maximum de 3.97g/l. Les niveaux d'**LDL-c** et **HDL-c** enregistrent respectivement 1.19 ± 0.50 et 0.40 ± 0.08 g/l.

On a constaté que les valeurs des paramètres biochimiques changent avec le degré d'obésité noté. Ainsi, le **CHOL** et **LDL-c** augmentent significativement ($p<0.05$) chez les patients obèses de classe I, respectivement, avec des différences moyennes de 0.337et de 0.313 g/l en comparaison avec les valeurs de l'IMC de surpoids. Le **TG** prend la même tendance que le **CHOL** mais sans aucun degré de significativité. Alors que la moyennes **HDL-c** des sujets obèses de classe II se montre significativement la plus faibles 0.32±0.06 g/l ($p<0.05$).

Tableau 4.2 : Caractéristiques biochimique des sujets étudiés

Paramètres Biochimie	Total	IMC				
		Normal	Surpoids	Obèse I	Obèse II	Obèse III
CHOL (g/l)	1.88±0.54	1.79±0.42	1.69±0.48	2.02±0.59*	2.16±0.52	2.03±0.71
TG (g/l)	1.38±0.64	1.21±0.45	1.29±0.8	1.48±0.59	1.52±0.35	1.82±0.89
HDL-c(g/l)	0.40±0.08	0.42±0.06	0.41±0.06	0.40±0.08	0.32±0.06*	0.44±0.18
LDL-c(g/l)	1.19±0.48	1.12±0.39	1.01±0.43	1.33±0.55*	1.53±0.47	1.22±0.43
Glyc (g/l)	1.83±0.92	1.53±1.12	1.6±0.85	2.02±0.72	2.3±0.97	2.81±0.59*

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD ; * = p<0.05

CHOL:cholesterol, **TG:** tri glycerides**, HDL-c:** High density lipoprotein cholesterol, **LDL-C: Low** density lipoprotein cholesterol.

Glyc : glycémie

Nos résultats de la glycémie montrent une moyenne de 1.83 ± 0.92g/l pour l'ensemble des sujets ; la plus faible mesure de glycémie est de 0.6 g/l et la plus grande est de 4.23g/l. les sujets les plus obèses (Obèse III) enregistrent une glycémie significativement plus élevée ($p< 0.05$) en comparaison avec les sujets normaux ou en surpoids.

❖ La concentration d'Ox-LDL de l'ensemble des sujets

Le tableau 4.3 rapporte les concentrations d'**Ox-LDL** totale et éclatée par degrés d'obésité des patients. La moyenne de l'**Ox-LDL** est de 337.0±113 ng/ml. On a remarqué que la concentration de **Ox-LDL** présent une tendance à s'augmenter en rapport avec l'obésité ; mais ceci sans aucune différences significative entre différents classes.

Tableau 4.3 : Caractéristiques biochimique des sujets étudiés

Paramètres	Total	IMC				
		Normal	Surpoids	Obèse I	Obèse II	Obèse III
Ox-LDL (ng/ml)	337.0 ±113	310.7 ±117.8	342.34 ±121.11	341.75 ±112.85	400.15 ±96.16	340.35 ±58.31

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD ; **Ox-LDL :** Oxidized Low density lipoprotein

❖ Aperçu sur les caractéristiques globales selon le sexe :

Notre étude s'est fondée sur les renseignements des 80 sujets de différentes régions ; dont 43 femmes et 37 hommes. Le groupe **CVD** comporte 13 femmes et 17 hommes ; le groupe **DT2**comprend à lui 17 femmes et 15 hommes. Alors que le groupe **Témoins** s'annonce avec 13 femmes et que de 5 hommes.

L'âge moyen des femmes est de 56.97 ± 14.0 contre 58.2 ± 9.87 ans chez les hommes, le poids moyen des femmes est significativement ($p<0.05$) plus faible (76.18 ± 14.05 kg) que celui des hommes (87.7 ± 15.59 kg).

De manière générale, le **sexe** n'a pas influencé les moyennes globales des différents paramètres ; il n'a aucun différences significatives entre **femmes** et **hommes** pour les paramètres anthropométriques ou bien les bilans biochimiques ; ni en moins pour la concentration d'**Ox-LDL**.

Cependant, les valeurs des différents paramètres étudiées selon le sexe sont annexées.

IV.2Comparaison entre **CVD**, **DT2** et **Témoins** :

❖ Comparaison par groupe des paramètres anthropométriques:

Nous avons remarqué que les sujets **CVD** ont un âge moyen (63.8 ± 10.5 ans) significativement plus élevé (p<0.05) en comparaison avec **DT2** et **Témoins**. Cependant, les femmes cardiopathiques sont plus âgées (68.15 *vs* 55 et 48 ans (**DT2** et **Témoins** respectivement)), alors que il n'ya aucune différence d'âge chez les hommes (**Fig 4.1**).

L'IMC et **TT** s'avèrent significativement plus élevés chez les **CVD** (31.14± 5.9 kg/m^2 et 104.4±14.4cm) et **DT2** (31.03±4.18kg/m^2 et102.7± 13.2cm) en comparaison avec les **Témoins** (24.7 ± 2.3 kg/m^2 et 81.6± 9.03 cm). Les **témoins** femmes et hommes présentent significativement un **IMC** (F : 24.7± 1.99 ; H : 24.7± 3.33kg/m^2) et TT (F : 80.9 ± 9.8 ; H : 83.4± 8.5cm) les plus faibles (**Fig 4.2**).

Les mesures hémodynamiques sont plus élevées chez les sujets **CVD** et **DT2**. La pression systolique des **CVD** et **DT2** est plus élevée que celles des **Témoins**. Cette différence est plus marquée chez les femmes que les hommes ; Ainsi les hommes **DT2** et **Témoins** ne diffèrent pas (**Fig 4.2**). La pression diastolique est aussi plus élevée chez les patients malades en comparaison avec les **Témoins**. La pression diastolique ne diffère pas entre les **CVD** et **DT2** (**Fig 4.2**).

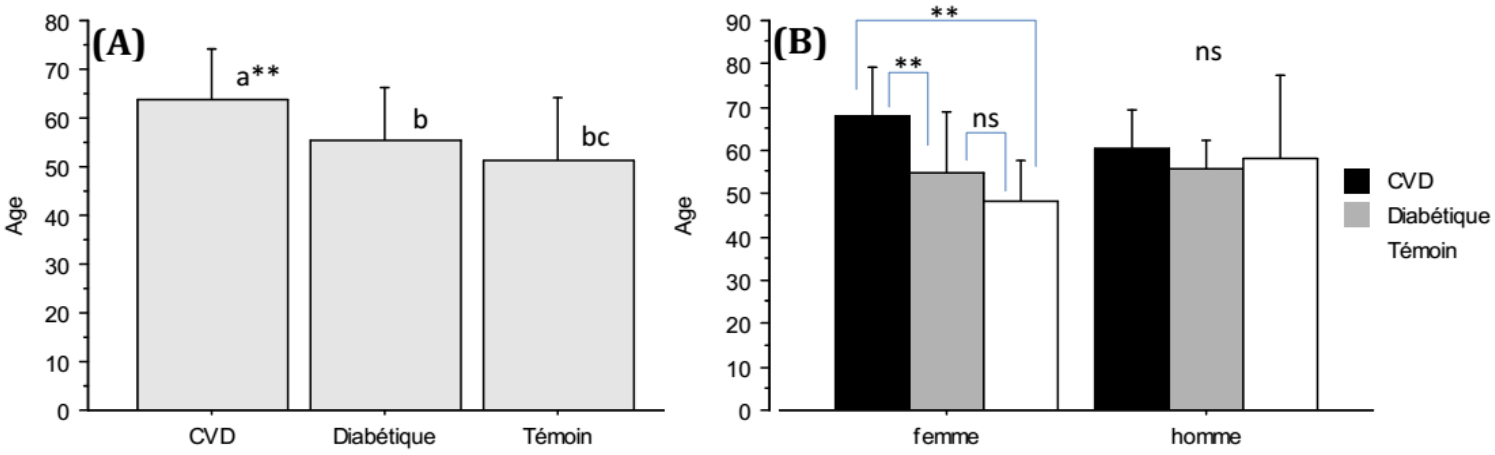


Figure 4.1 : Comparaison du paramètre « âge » des différents groupes de patients **(**A) comparaison globale ; **(B)** comparaison par sexe. Lettres a,b,c différentes = p < 0.05 ; * =p<0.05 ; **= p<0.01 : *** = p<0.001 ; ns = non significatif

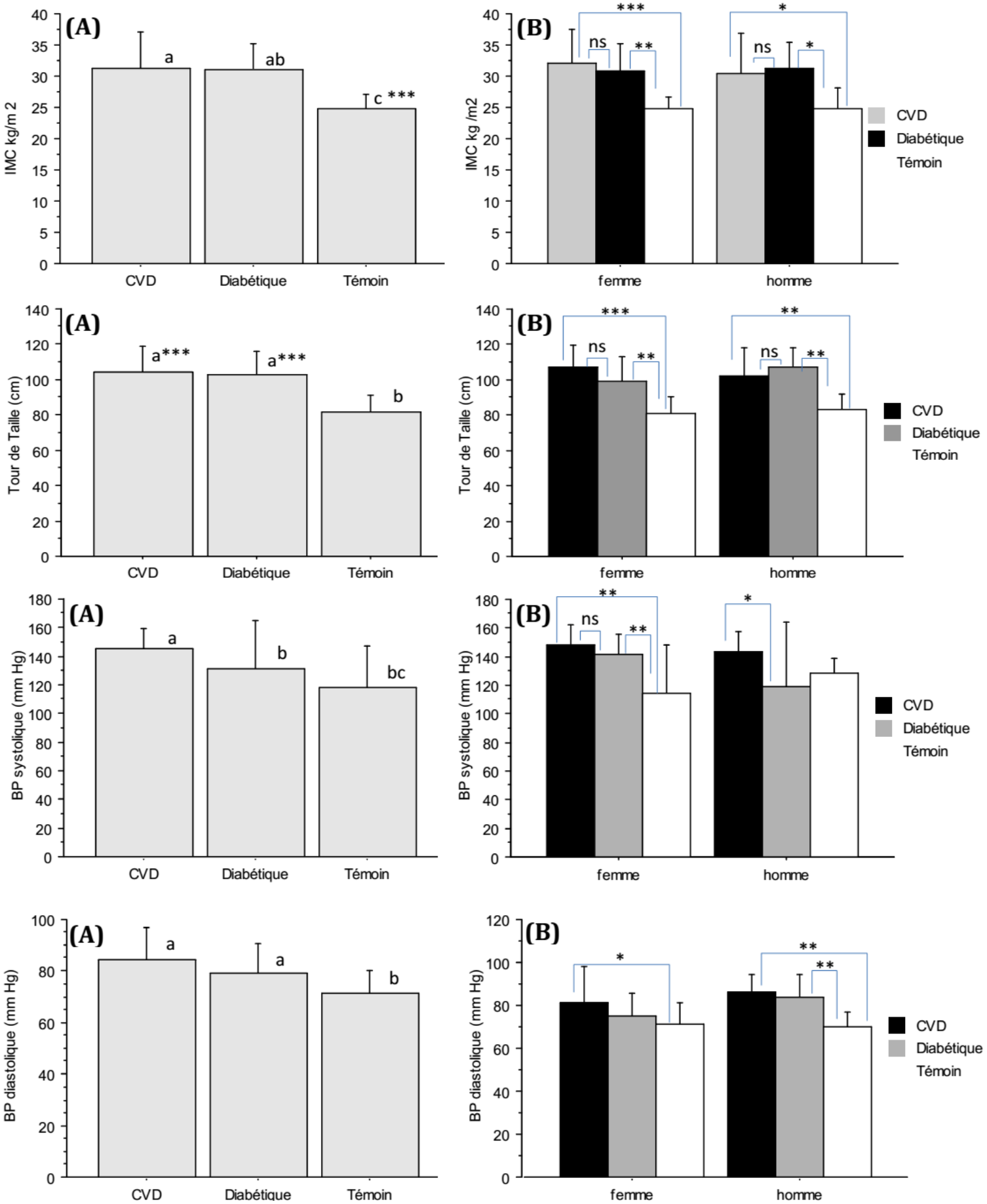


Figure 4.2 : Comparaison des IMC, TT, BP systolique et BP Diastolique des différents groupes de patients. **(A)** comparaison globale ; **(B)** comparaison par sexe.
Lettres a,b,c différentes = p < 0.05 ; * =p<0.05 ; **= p<0.01 : *** = p<0.001 ; ns = non significatif

❖ Comparaison des paramètres biochimique par groupe de patients :

La concentration **CHOL** du groupe **CVD** (2.10 ± 0.55 g/l) et du **DT2** (1.89 ± 0.53 g/l) est significativement ($p<0.05$) plus élevée que celle du groupe **Témoins** (1.50 ± 0.31 g/l). La comparaison appariée entre les groupes des patients chez les deux sexes, montrent que le **CHOL** des **CVD** de femmes ou bien d'homme n'est pas significativement différent à ceux des patients **DT2**. Au contraire aux hommes, le **CHOL** des femmes-**DT2** est significativement plus élevé que celui des femmes-témoins (1.94 ± 0.43 g/l *vs* 1.53 ± 0.27 g/l respectivement). Que ce soit le sexe analysé les **Témoins** présentent une concentration **CHOL** la plus faible (**Fig 4.3**).

La concentration **TG** du groupe **CVD** (1.55 ± 0.64g/l) et du **DT2** (1.48± 0.65g/l) est significativement ($p<0.05$) plus élevée que ceux du groupe **Témoins** (0.91 ± 0.34g/l). La comparaison entre les groupes **CVD** et **DT2** n'est pas significativement différente chez les deux sexes.

Que ce soit femmes ou bien hommes, le **TG** des groupes **CVD** et du groupe **DT2** sont significativement plus élevés que celui des **témoins**. Que ce soit le sexe analysé les témoins présentent une concentration CHOL la plus faible (**Fig 4.4**).

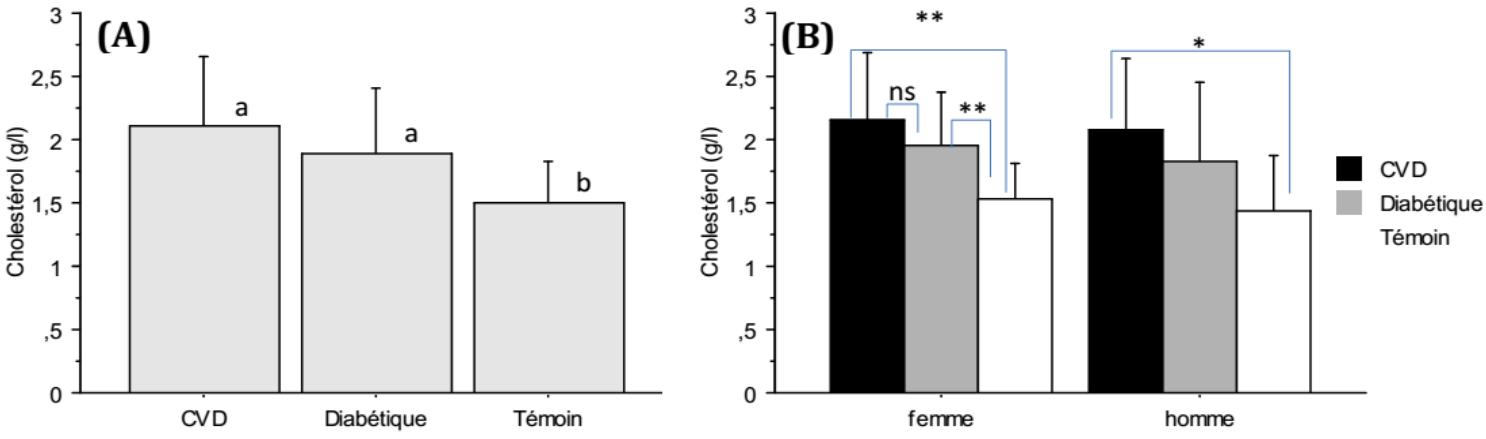


Figure 4.3 : Comparaison du paramètre « Cholestérol » des différents groupes de patients
(A) comparaison globale ; **(B)** comparaison par sexe.
Lettres a,b,c différentes = $p < 0.05$; * =$p<0.05$; **= $p<0.01$: *** = $p<0.001$; ns = non significatif

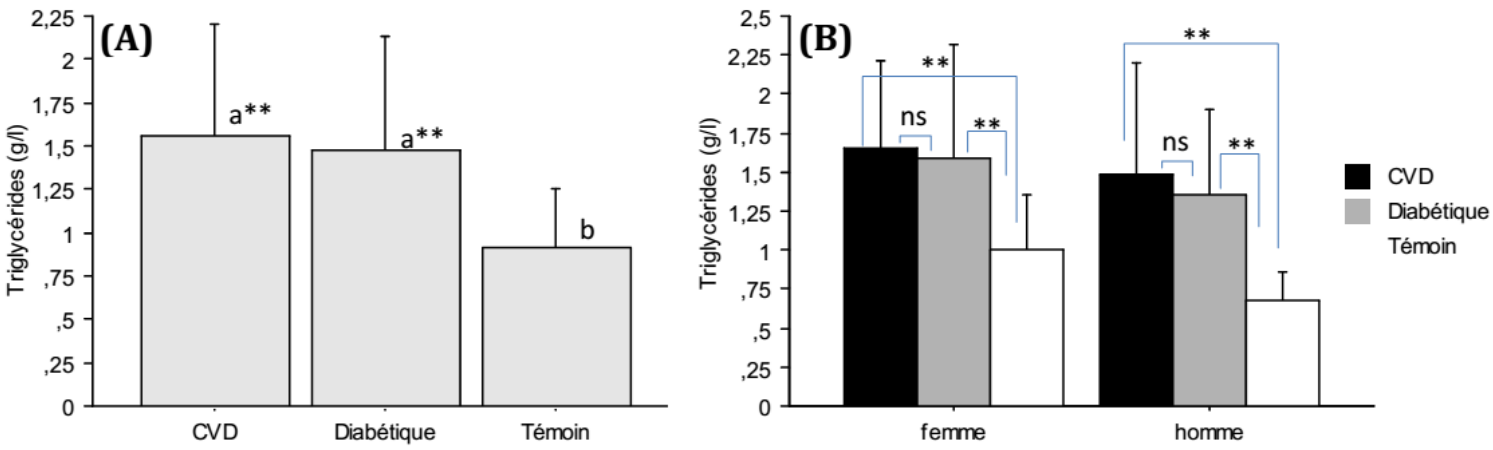


Figure 4.4 : Comparaison du paramètre « Triglycérides » des différents groupes de patients**(A)** comparaison globale ; **(B)** comparaison par sexe.

Lettres a,b,c différentes = p < 0.05 ; * =p<0.05 ; **= p<0.01 : *** = p<0.001 ; ns = non significatif

Les résultats obtenus par notre étude ne démontrent aucun effet significatif de la maladie contracté sur le taux **d'HDL.** Quand même, nous avons constaté une faible diminution du taux **HDL** chez les groupes **CVD** et **DT2** par rapport aux **témoins** ; Ceci est aussi remarqué lorsque on voie selon les femmes ou bien les hommes. (**Fig. 4.5**).

Les concentrations **d'LDL** du groupe **CVD** (1.39 ± 0.49 g/l) et du **DT2** (1.18± 0.48 g/l) sont significativement (p<0.05) plus élevées que ceux du groupe **Témoins** (0.89 ± 0.3 g/l). Chez les homme on a remarqué aucun effet significatif de différence entre les groupes **CVD**, **DT2** et **Témoins** ; alors que chez les femmes ; la comparaison **d'LDL** entre les groupes **CVD** et **DT2** n'est aussi pas significativement différente. Néanmoins, la concentration d'LDL chez les **Témoins** des deux sexes s'affichent avec les valeurs les plus faible (F: 0.89 ± 0.26g/l *vs* H : 0.88 ± 0.44 g/l) (**Fig. 4.5**).

La glycémie des différents groups est illustrée dans la **figure 4.5**. On a constaté que le groupe **CVD** signale un taux très élevé en comparaison avec les deux autres groupes (**CVD**2.38 ± 0.84 vs **DT2**1.88 ± 0.77 et **Témoins** 0.8 ± 0.15 g/l) (p<0.01). Par rapport à l'effet des maladies contractées chez les différents sexes, on a aussi constaté la supériorité du groupe **CVD** et **DT2** en comparaison avec les **Témoins** (p<0.01) ; alors que chez les hommes, la **Glyc** ne se diffère pas entre le groupe **CVD** et **DT2**. (**Fig 4.5**).

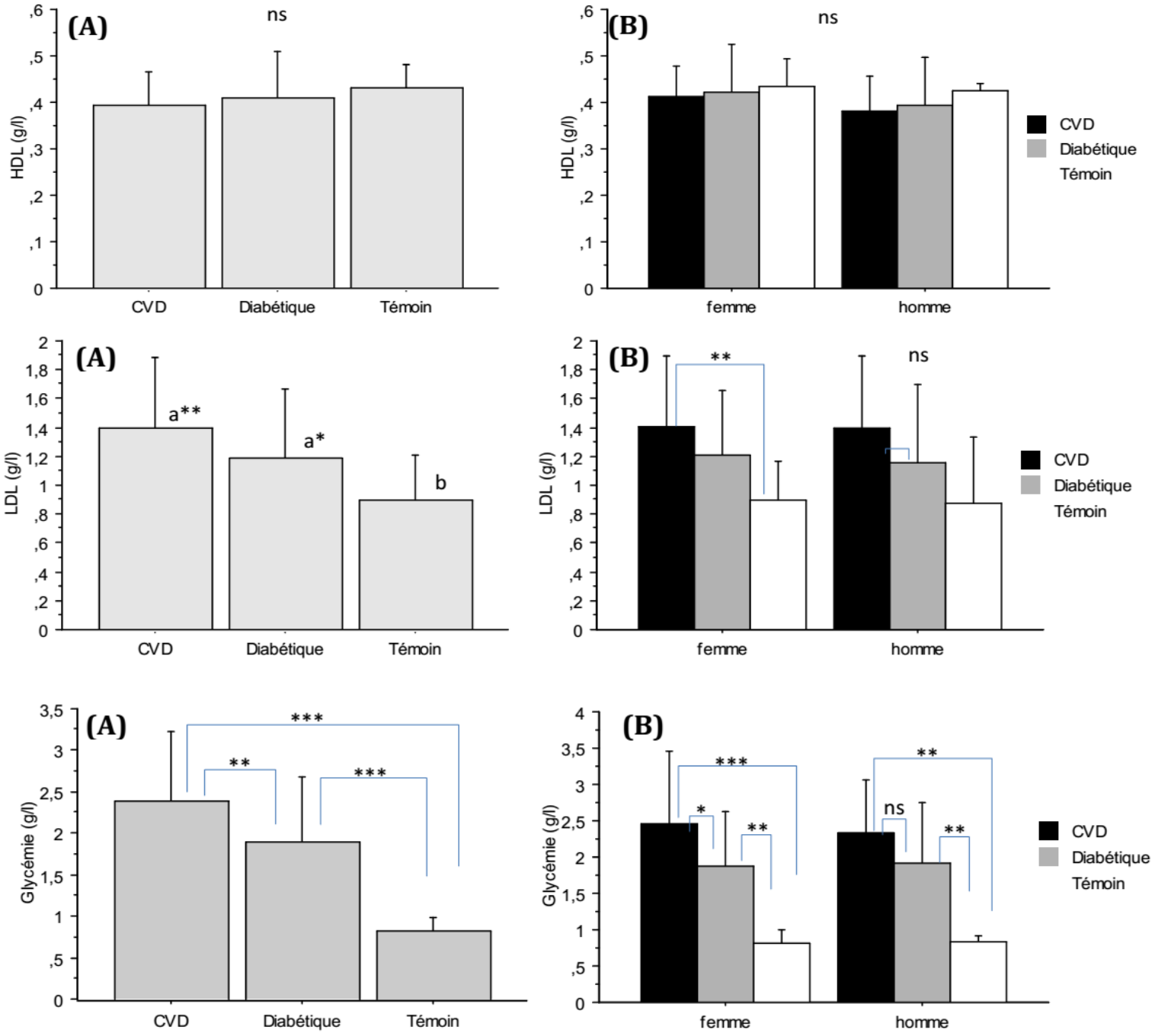


Figure 4.5: Comparaison de « HDL, LDL & Glycémie » par différents groupes de patients **(A)** comparaison globale ; **(B)** comparaison par sexe.
Lettres a,b,c différentes = p < 0.05 ; * =p<0.05 ; **= p<0.01 : *** = p<0.001 ; ns = non significatif

❖ Comparaison des paramètres du statut oxydatif **TBARS** et **ABTS** par groupe :

Le statut de la peroxydation lipidique en terme de **TBARS** (MDA) et le degrès d'ihibition de radical **ABTS** est illustré dans la **figure 4.6**.

Malgré les différences observées de **TBARS** chez les diffirents groupes en faveur de celui **DT2**, nous n'avons pas trouvé aucune différence significative dans aucun jeux de comparaison globale ou bien par sexes.

Le groupe **DT2** se caractérise par un niveau d'inhibition **d'ABTS** significativement élévé chez la totalité des patients et chez les femmes ($p<0.05$) (**Fig 4.6**).

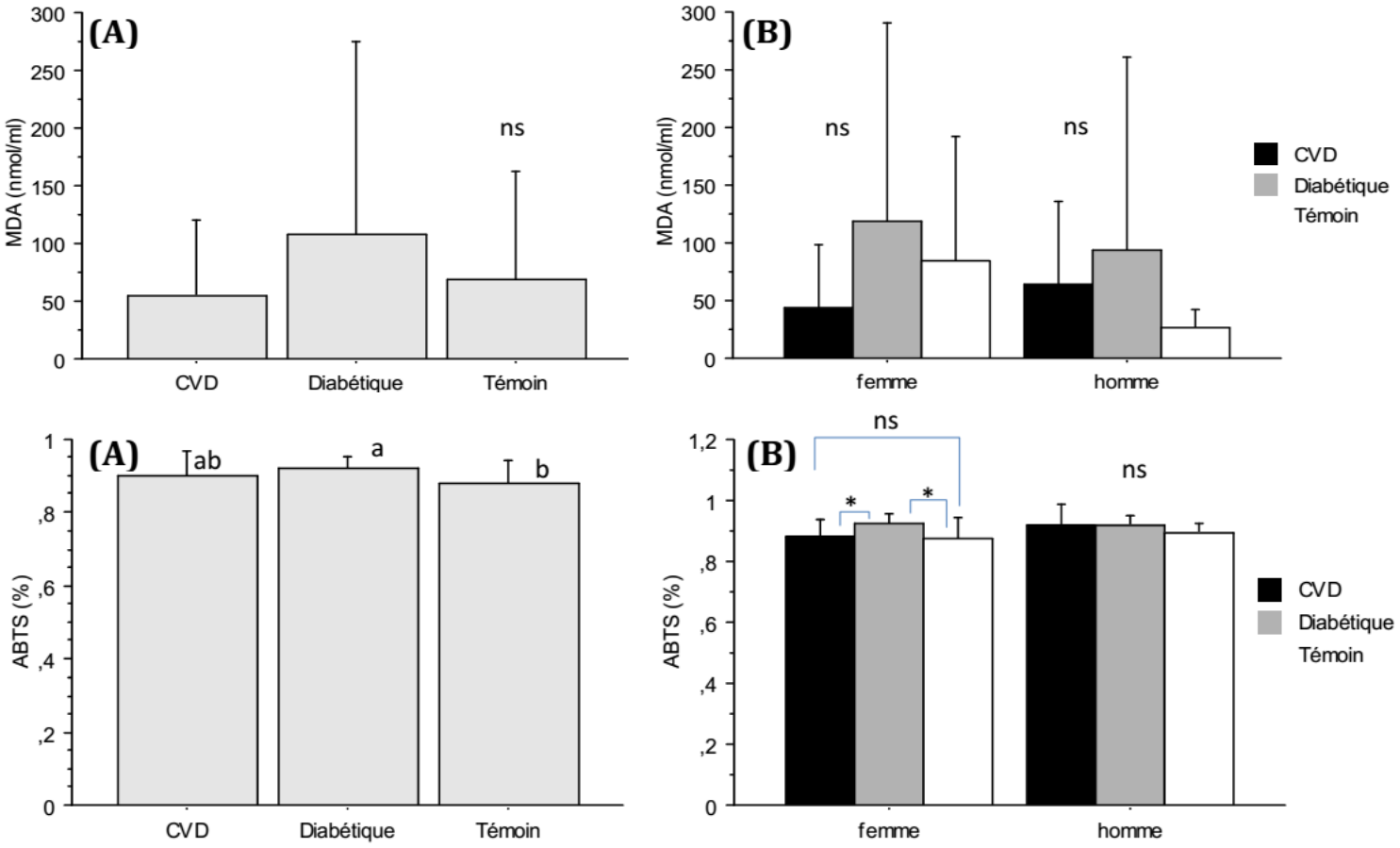


Figure 4.6 : Comparaison desparamètres « TBARS &ABTS » des différents groupes: **(A**) comparaison globale ; **(B)** comparaison par sexe.

Lettres a,b,c différentes = $p < 0.05$; * =$p<0.05$; **= $p<0.01$: *** = $p<0.001$; ns = non significatif

❖ Comparaison de la concentration en Ox-LDL par groupe :

La **figure 4.7** illustre la comparaison de la concentration d'**Ox-LDL** mesuré par ELISA chez les différents groupes de patients **CVD**, **DT2** et **Témoins**. Nous avons constaté des différences significatives ($p<0.01$) entre tous les groupes expérimentaux ; en effet, le groupe **CVD** montre une concentration **Ox-LDL** (403.4± 120.9 ng/ml) plus élevée que **DT2** (316.06 ± 73.8 ng/ml) et témoins (263.4 ± 100.97 ng/ml).

Nos résultats montrent une augmentation de la concentration d'**Ox-LDL** chez les hommes du groupe **Témoins**; qui se montre plus élevée par rapport au **DT2** mais sans aucun degré de signification. Chez le même sexe (homme), le groupe **CVD** présente un taux d'**Ox-LDL** élevé (402.91 ± 115.89 ng/ml) en comparaison avec le **DT2** (308.64 ± 79.7 ng/ml)($p<0.05$), mais Il s'avère non significativement différent avec les **Témoins** (334.44 ± 126.51 ng/ml) (**Fig 4.7**).

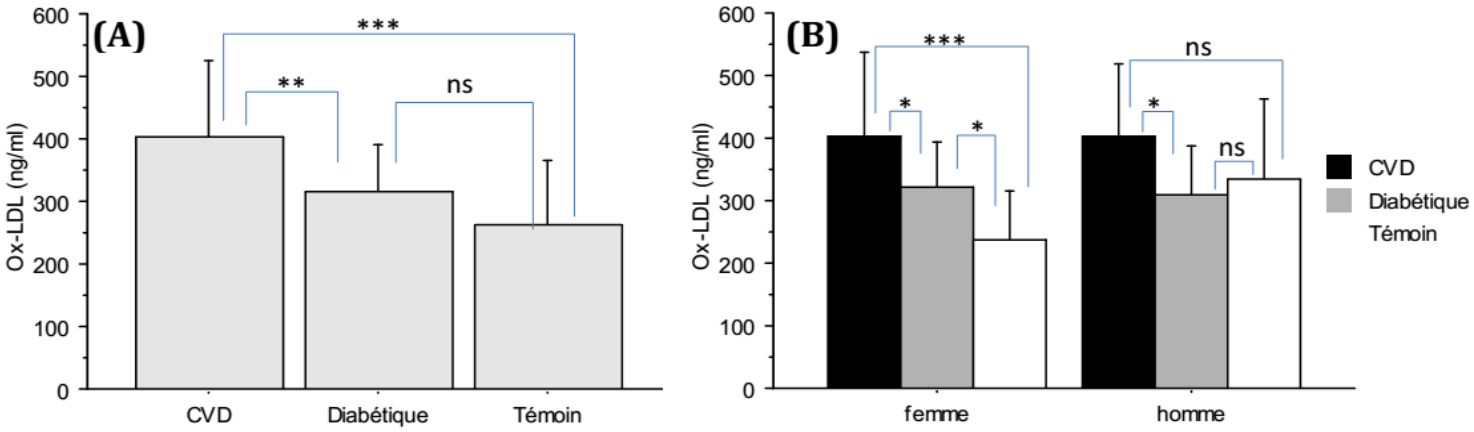


Figure 4.7 : Comparaison du paramètre « Ox-LDL» des différents groupes de patients **(A)** comparaison globale ; **(B)** comparaison par sexe.
* =p<0.05 ; **= p<0.01 : *** = p<0.001 ; ns = non significatif

IV.3. Corrélations entre la concentration d'Ox-LDL et les paramètres biochimiques

Le **tableau 4.4** démontre les niveaux de corrélations calculées entre différents paramètres de notre étude. On a choisi l'appariement de **l'âge**, **IMC**, **TBARS**, **ABTS** avec la concentration de **l'Ox-LDL** et le bilan biochimique; nous avons aussi calculé les corrélations inter-duelles des mesures biochimiques.

On a constaté que **l'âge** et **IMC** des patients sont fortement corrélés avec la glycémie **Glyc** ($r = 0.47$et $r= 0.36$ respectivement) ($p<0.001$) ; ces deux paramètres sont aussi corrélés positivement ($p<0.01$) avec le **CHOL**($r = 0.22$ et $r =0.27$ respectivement) et **TG**($r = 0.29$ respectivement).

Nous avons constaté que quelques paramètres biochimiques sont corrélés en eux. En occurrence, nous avons démontré que le **CHOL** présente significativement ($p<0.001$) une forte corrélation avec **Glyc, TG**et **LDL** (0.41, 0.56 et 0.95 respectivement). D'autre part, Le **TG** s'avère d'être significativement corrélé ($p<0.001$) avec **LDL** (0.37).

On remarque aussi dans la même marche une corrélation significative entre **Glyc** et **CHOL** ($r=0.41$ $p<0.001$), **TG** ($r=0.28$ $p<0.05$) et **LDL** ($r=0.35$ $p<0.01$).

L'**HDL** ne représente avec les autres paramètres biochimique que de faibles corrélations ; néanmoins elles s'avèrent négative avec **LDL** ($r=-0.14$) ; mais en contrepartie, il se trouve une corrélation négative existe aussi entre **HDL** et **ABTS** ($r=-0.22$ $p=0.04$) .

On observe dans ce tableau une forte corrélation entre la concentration de **l'Ox-LDL et l'âge** ($r=0.35$) et la **Glyc** ($r=0.46$) avec une différence hautement significative ($p<0.0001$). En deuxième degré, l'**Ox-LDL** est positivement corrélé ($p<0.05$) avec le **CHL** ($r=0.24$) et avec **TG** ($r=0.22$).

Tableau 4.4 : Corrélation entre différents paramètres d'étude

	LDL	CHOL	TG	GLY	OX –LDL
Age(ans)	0.18	0.22*	0.29**	0.44***	0.35**
IMC(Kg /m^2)	0.25*	0.27*	0.29**	0.36**	0.18
Glyc (g/l) :	0.35**	0.41***	0.28*		0.46***
TG(g/l) :	0.37***	0.56***		0.28*	0.22*
CHOL(g/l)	0.95***		0.56***	0.41***	0.24*
LDL(g/l)		0.95***	0.37***	0.35**	0.21
HDL(g/l)	-0.143	0.03	0.05	0.02	-0.17
TBARS (MDA nmol/ml)	0.19	0.20	0.22	-0.103	-0.01
ABTS%	-0.02	0.04	0.16	0.14	-0.05

* =p<0.05 ; **= p<0.01 : *** = p<0.001

IV.4 La Discussion :

La présente étude répond à l'objectif d'investiguer le degré d'influence des facteurs pathologiques d'états cardiovasculaire et glycémique sur l'évolution du bilan lipidique, l'oxydation d'LDLs et le statut oxydatif des sujets à risque.

En effet, plusieurs facteurs comme la dyslipidémie, l'hypertension, le surpoids et le diabète sont rattachés pleinement à une responsabilité importante dans le processus pathogénique de déclenchement d'affections cardiovasculaires (Okada et al., 2004). Il est aussi emblématique d'admettre au dysfonctionnement de métabolique lipidique (Cholestérol et LDL élevés avec HDL faible) et leur oxydation un rôle important sur le durcissement pathologique des vaisseaux sanguins et aux risques de maladies cardiaques (Castelli et al., 1988). Cependant, plusieurs études proposent la mesure des produits d'oxydation ou d'adduits d'LDLs oxydées comme des éléments indicateurs au risque potentiel ; qui peut être cliniquement silencieux.

De façon générale, le stress oxydant représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des ROSs (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Le stress oxydatif occupe un intérêt en croissance dans les troubles cardio-vasculaires et métaboliques ; En effet, ce dernier est culpabilisé dans le développement des affections vasculaires (Ceriello et al., 2004); diabète, syndrome métabolique et obésité (Holvoet et al., 2004 ; Njajo et al., 2009) .

Le stress oxydant est délétère pour l'endothélium et leurs fonctions vasculaires. L'accumulation sous-endothéliales des cellules spumeuses peut être déclenchée par la capture d'LDL oxydés grâce a récepteur scavenger suite à un déséquilibre du potentiel redox de l'environnement vasculaire (Wang et al., 1997) . Le déséquilibre pro-oxydant entraîne la formation de LDL oxydées par de multiples facteurs ; en occurrence, les cellules endothéliales, macrophages, et cellules musculaires lisses déterminent la formation d'LDL oxydés par une dégradation excessive de cholestérol, phospholipides et apoliprotèines (Levitan et al., 2010). Le dysfonctionnement et la libération de facteurs pro-inflammatoires recrute et propage aussi la formation d'LDL oxydés ; Cependant, Carneval et al., 2014 montre qu'un stress issue de la voie NOX2 incitent les plaquettes à produire les LDL oxydés qui à leurs tour amplifiée l'activation des plaquettes en accumulant un effet pro-thrombotique direct.

Le diabète de type 2 et le syndrome métabolique sont aussi associés à l'augmentation des LDLs oxydées. Ainsi, le niveau d'OxLDL et non pas le cholestérol été prédictive à contracter un diabète (Rozen et al., 20010 ; Njajo et al., 2009 ; Bouhadja et al., 2017). Le diabète de type 2 et l'intolérance au glucose sont souvent associé à plusieurs affections comme l'hypertension, l'insuffisance rénale et de troubles cardiovasculaires. Le potentiel athérogénique du diabète pourrait être associé à la modification de l'insuline de façon insuffisante ou bien non efficace résultant à un problème de glycation et d'oxydation ; ceci est toujours coïncide avec un taux élevé d'Ox-LDL (Rajkovic et al., 2012 ;NouEldin et al., 2014).

Les MDAs exprimé en sens de TBARS ont été reconnu comme un marqueur de produit final de peroxydation lipidique pertinent. Plusieurs enquêtes ont signalé des niveaux élevés de MDA dans les sujet de diabete de type 2 (NouEldin et al., 2014 ; Bouhadja et al., 2017), et dans les sujets athérosclérotiques (Tanaka et al., 2011 ; Walter et al., 2004). Des études antérieures montrent que les marqueurs de peroxydation lipidique, sont également associé au développement des maladies coronariennes (Weinbrenner et al.,2004). Quelques études avaient démontré des corrélations entre les niveaux de TBARS et les facteurs de risque cardiovasculaire, y compris la cigarette, l'hypertension, l'hyperlipidémie et le diabète (Brigues et al ., 1993).

……..

La présente étude analyse les mesures biochimiques et d'oxydation chez deux groupes de malades en comparaison avec des témoins. L'ensemble des sujets de notre échantillon s'annonce avec un âge moyen de retraite dont presque 60% pépères et avec un IMC moyen de surpoids qui se rapproche à l'obésité. Cette description anthropométrique de notre échantillon serait une caractéristique inerte liée aux affections choisis pour l'étude. En effet, les personnes âgés et obèses sont les plus prédisposées à contracter les troubles cardiovasculaires et le diabète de type 2 (Meisinger et al., 2005 ;Njajo et al., 2009).

Les valeurs hémodynamiques des sujets étudiés s'avèrent stables en comparaison avec les normes, sans aucune différence entre les différents groupes ; Ceci pourrait être lié au suivis médicamenteux de leurs états d'hypertension.

……..

La présente étude a abordé le niveau de TBARS de l'ensemble de la population. Nous n'avons constaté aucun effet significatif chez CVD et Diabétique. Ainsi, il est attendu à ce que l'obésité puisse renforcer l'association entre MDA plasmatique et le risque de diabète de type 2. Notre constatation est en dés-concordance d'une part avec (Tiwari et al., 2013) qui suggère que des niveaux élevés de MDA peuvent être impliqués dans le développement de complication diabétique ; et d'autre part avec Tanaka 2011 qui observe que le taux de TBARS est associé au risque cardiovasculaire. De plus, nous avons montré une faible corrélation entre MDA et obésité (r=0.16) ; alors que Bouhajia et al,. 2017 suggèrent que l'obésité a donné lieu à l'augmentation des MDA chez les patients diabétiques de type 2.

Malgré l'absence d'effet significatif, notre constatation suggère que le diabète, pourrait favoriser la peroxydation des lipides par hyperglycémie. En effet, Loppèse-vérila et al,. 1999 affirment que de nombreux mécanismes peuvent favoriser l'augmentation du stress oxydatif dans le diabète, l'hyperglycémie en soi peut favoriser la génération de radicaux libres qui peut à son tour catalyser la peroxydation lipidique. En effet, Wang et al., 2014 a montré que le niveau élevé de MDA inhibait la sécrétion d'insuline qui par conséquent stimule l'augmentation de la concentration du glucose ; Cependant, l'exacte rôle de signalisation de la MDA dans les processus pathologiques du diabète de type 2 n'est pas complètement compris.

Dans notre étude, les niveaux de TBARS est en corrélation d'autres facteurs de risque connus (cholestérol, LDL, triglycérides). Ce ci est en accordance avec Sakuma et al., 1997 et Peni et al., 2001.

D'autres marqueurs d'oxydation a pourrait donner un surplus à notre étude ; en effet les isoprostanes sont des composés de type prostaglandine qui peuvent être formés in vivo à partir de la peroxydation à base de radicaux libres d'acide arachidonique, indépendamment de la voie cyclooxygénase. Des études ont démontré que ces composés se trouvent dans la plaque d'athérome et associé à un risque accru de cardiovasculaire (Hazen et al., 2001).

Dans la présente étude, il n'y a pas beaucoup de différence entre les groupes en termes d'inhibition d'ABTS, et qui présente des faibles corrélations avec l'ensemble des paramètres. Nous pensons que l'inhibition ABTS n'est pas associée aux paramètres du bilan lipidique ou bien d'oxydation ; Ceci pourrait être caché par d'autres systèmes antioxydant non lié aux lipoprotéines qui pourrait influencer notre méthode.

Kopprasch et al. 2003 suggèrent que les niveaux de LDL oxydé ne sont pas associés aux paramètres de l'équilibre oxydatif / antioxydant dans le sang. Ils ont signalé que LDL, le cholestérol et les triglycérides étaient les prédicteurs les plus forts des taux d'oxydation d'LDL. Kopprasch et al. 2003 trouvent qu'il y a une forte corrélation d'Ox-LDL avec LDL-cholestérol et TG ce qui indique que l'oxydation des LDL est préférentiellement associée à la dyslipidémie ; ce qui explique le risque athérogène élevée de la dyslipidémie dans les pré-diabétiques.

Selon de nombreuses études cliniques, il y a assez la preuve que l'abaissement des taux de LDL est une stratégie de prévention importante pour les complications cardiovasculaires diabétiques (Matsuda et al., 2013). Mais, Les LDLs oxydés attirent une importance considérable au cours des dernières années en recherche biomédicale avec la persistance du risque résiduel aux affections cardiovasculaire chez les patients à bilan lipidique stable.

Nous avons démontré dans notre étude des niveaux élevés d'Ox-LDL chez les sujets CVD et DT2 par rapport au contrôle. Ce qui suggère que l'oxydation du LDL est influencée positivement par l'état de la maladie contractée, suggèrerait d'une part l'effet d'un stress vasculaire et d'autre part, l'effet de l'hyperglycémie et le dysfonctionnement de l'insuline. Notre étude est en concordance avec Bouhajia et al,. 2017 , NouEldin et al., 2014, Meisinger et al., 2005.

Plusieurs études sont instauré sur l'effet du statut antioxydant sur l'oxydation des LDL et effets possibles des suppléments alimentaires avec des sources de vitamines antioxydants sur la capacité antioxydant et l'oxydation deLDL (Déronzo et al., 2014). Une diminution du Ox-LDL a été signalée après consommation de jus de raisin, source de polyphénols, dethé vert (Hirano 200), La vitamine E et la C (Winklhofer et al., 2005).

La dyslipidémie diabétique est un facteur de risque bien reconnu pour la maladie cardiovasculaire athéroscléreuse (NG DS et al., 2013). Nos données suggèrent que l'oxydation des LDLs augmente avec le cholestérol, triglycéride et la glycémie dans le groupe CVD et diabétique. Diwadkaret al. 1999 suggèrent que des taux élevés de TG sérique peuvent contribuer à l'oxydation rapide des LDL observées chez les diabétiques. Il est connu que l'oxydation des LDL est particulièrement associées à des niveaux élevés D'LDL. Toute la situation de dyslipidémie qui améliore l'oxydation des LDL, Le mode de vie sédentaire et l'obésité fournissent un bon risque de perturbation du profil lipidique et par conséquent d'Ox-LDL.

La pertinence clinique de la mesure de l'Ox-LDL chez des hommes d'âge moyen apparemment en bonne santé n'a pas d'usage ; néanmoins chez les patients à risque. Ainsi, les résultats de notre étude ont plusieurs implications de diagnostic, prise en charge et de recherche.

Conclusion et perspectifs

Conclusions et perspectives

Nous avons montré que la mesure d'Ox-LDL, du statut de la peroxydation lipidique pourrait constituer un portfolio évaluateur de l'état du stress oxydant chez les sujets à risque. Ainsi, ces résultats vont soutenir l'hypothèse à laquelle la présence des concentrations élevées d'LDL oxydes dans le plasma peuvent contribuer à la manifestation d'accident vasculaire. Bien que l'Ox-LDL pourrit être facilement introduit dans la panoplie des mesures de diagnostic, il semble peu probable que des concentrations élevées d'Ox-LDL dans le plasma pourraient refléter sa libération d'une la plaque athéromateuse potentiellement silencieuse. La mesure supplémentaire en partie du statut oxydatif apparié avec les technologies d'imagerie de pointe (IRM) pourrait améliorer la prédiction de complications cardiovasculaires et d'orienter sensiblement l'ordonnance de la médication proposée.

Cependant, notre étude pourrait servir de support à d'autres recherches pour explorer l'effet qu'on a démontré sur une multitude de paramètres. En particulier, l'évaluation des marqueurs d'inflammation comme le NO et le CRP ; l'évaluation de l'oxydation des différentes sous-classes de lipoprotéines épurés, en relation avec le statut pathologique des patients serait un bon projet expérimental. Il serait aussi préférable de corrélé le niveau d'oxydation des lipoprotéines avec le dosage des différents systèmes antioxydants; en particulier, les tocophérols et de la vitamine C. En fin, La modélisation animale *in-vivo* est un moyen expérimental intéressant pour analyser différentes explorations métaboliques, tissulaires et cellulaires des différents facteurs induisant les dysfonctionnements cardio-vasculaires.

Références Bibliographiques

A

1. Acton, S., Rigotti, A., Landschulz, K. T., Xu, S., Hobbs, H. H., and Krieger, M. (1996).
Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. Science *271*, 518-520.

2. ANDERSON J.W., KENDALL C.W., JENKINS D.J.,2003- Importance of weight management in type 2 diabetes: review with meta-analysis of clinical studies. J Am Coll Nutr. Vol. 22(5):331-339.

3. ATAMER, A. et al. The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *J. Int. Med. Res* 36, 771-776 (2008).

4. Auge, N., Negre-Salvayre, A., Salvayre, R., and Levade, T. (2000). Sphingomyelin metabolites in vascular cell signaling and atherogenesis. Prog Lipid Res *39*, 207-229.

B

5. Berliner, J. A., and Heinecke, J. W. (1996). The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. Free Radic Biol Med *20*, 707-727.

6. Brown, A. J., Mander, E. L., Gelissen, I. C., Kritharides, L., Dean, R. T., and Jessup, W.(2000). Cholesterol and oxysterol metabolism and subcellular distribution in
macrophage foam cells. Accumulation of oxidized esters in lysosomes. J Lipid Res *41*, 226-237.

7. Berliner, J. A., and Heinecke, J. W. (1996). The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. Free Radic Biol Med *20*, 707-727.

8. Berthier, A., Lemaire-Ewing, S., Prunet, C., Monier, S., Athias, A., Bessede, G., Pais de Barros, J. P., Laubriet, A., Gambert, P., Lizard, G., and Neel, D. (2004). Involvement
of a calcium-dependent dephosphorylation of BAD associated with the localization of Trpc-1 within lipid rafts in 7-ketocholesterol-induced THP-1 cell apoptosis. Cell Death Differ *11*, 897-905.

9. BONNET J., ELIAS A. Athérosclérose et plaque d'athérome. Encyci Méd Chir. (Elsevier, Paris), Cardiologie- Angéiologie,, 1997; 11-605-A-10, 19 p.

10. BRUNEVAL P. Anatomopathologie de l'athérosclérose humaine. L'Athérosclérose. Masson 2003; (19): 333-344

11. BRANCA F., NIKOGOSIAN H et LOBSTEIN T., 2007-Le Defi de l'obesite dans la Region europeenne de l'OMS et les strategies de lutte/ The Challenge of Obesity

in the WHO European Region and the Strategies for Response. Ed. WHOEurope, Danemark.68p.

12. BONGARD V., FERRIERES J., 2006- Facteurs de risque cardiovasculaire et prévention. La revue du praticien. Vol. 56(1) : 79-87.

13. BJORKHEM, I., and DICZFALUSY, U. (2002). Oxysterols: friends, foes, or just fellow passengers Arterioscler Thromb Vasc Biol *22*, 734-742.

C

14. Chancharme, L., Therond, P., Nigon, F., Lepage, S., Couturier, M., and Chapman, M. J. (1999). Cholesteryl ester hydroperoxide lability is a key feature of the oxidative
susceptibility of small, dense LDL. Arterioscler Thromb Vasc Biol *19*, 810-820.

15. Calvo, D., Gomez-Coronado, D., Suarez, Y., Lasuncion, M. A., and Vega, M. A. (1998).

16. Human CD36 is a high affinity receptor for the native lipoproteins HDL, LDL, and VLDL. J Lipid Res *39*, 777-788.

17. Covey, S. D., Krieger, M., Wang, W., Penman, M., and Trigatti, B. L. (2003). Scavenger receptor class B type I-mediated protection against atherosclerosis in LDL receptornegative mice involves its expression in bone marrow-derived cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol *23*, 1589-1594.

18. COHEN A., BELMATOUG N., 2002- Coeur et médecine interne. Ed. De Boeck, Secundair. Paris. 2303p

19. Castell wp :choleterol and lipids in the risk of coronary artery diseas – the framinghan heart study can j cardial ,4 :5A- 10A ,1988 vol.11 , No.4

20. Ceriello A. Moty E . TS oxidative stress the pathologenic mechanisme underlyning insulin resistance . diabetes , and cardiovascular disease ?the common soil hypothosis revisted arterioscler thromb vasc biol 2004 :24. 816 -823.

21. Christa Meisinger, MD, MPH; Jens Baumert, MS; Natalie Khuseyinova, MD; Hannelore Loewel, MD; Wolfgang Koenig, MD Circulation. 2005;112:651-657.

D

22. DEFRAIGNE JO & PINCEMAIL J . Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Rev Med Liège* 2008; 63: 10-19.

23. de Beer, M. C., Zhao, Z., Webb, N. R., van der Westhuyzen, D. R., and de Villiers, W. J. (2003). Lack of a direct role for macrosialin in oxidized LDL metabolism. J Lipid Res *44*, 674-685.

24. Devries-Seimon, T., Li, Y., Yao, P. M., Stone, E., Wang, Y., Davis, R. J., Flavell, R., and Tabas, I. (2005). Cholesterol-induced macrophage apoptosis requires ER stress
pathways and engagement of the type A scavenger receptor. J Cell Biol *171*, 61-73.

25. Daugherty, A., Cornicelli, J. A., Welch, K., Sendobry, S. M., and Rateri, D. L. (1997).
Scavenger receptors are present on rabbit aortic endothelial cells in vivo. Arterioscler Thromb Vasc Biol *17*, 2369-2375.

26. DOMINIC S., 2005- Quoi de neuf dans l'étude et le traitement de l'hypocholestérolémie HDL. Endocrinologie conférences scientifiques. Vol. 5(10): 16.

27. DEURENBERG P., JAROSZ M., RABENECK S., G. NANTEL., 2003- Obésité : prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale.OMS, Série de Rapports techniques 894, Singapour. 299p.

28. DESPRES J.P., LEMIEUX I., 2006- Abdominal obesity and metabolic syndrome. Nature. Vol. 444(7121):881-7

29. DRAY C.,VALET P., CASTAN-LAURELL I., 2008- Adipokines : quelles nouvelles ?. Obese. Vol. 3: 33-41.

E

30. Esterbauer, H., Dieber-Rotheneder, M., Waeg, G., Striegl, G., and Jurgens, G. (1990).
Biochemical, structural, and functional properties of oxidized low-density lipoprotein. Chem Res Toxicol *3*, 77-92.

31. Escargueil-Blanc, I., Salvayre, R., Vacaresse, N., Jurgens, G., Darblade, B., Arnal, J. F., Parthasarathy, S., and Negre-Salvayre, A. (2001). Mildly oxidized LDL induces activation of platelet-derived growth factor beta-receptor pathway. Circulation *104*,1814-1821.

F

32. FAVIER A., 2003- Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique: 108 - 115.

33. Febbraio, M., Guy, E., and Silverstein, R. L. (2004). Stem cell transplantation reveals that absence of macrophage CD36 is protective against atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol *24*, 2333-2338.

34. FERRO-LUZZI A. GARZA C., HAAS J., HABICHT J.P., HIMES J., PRADILLA A., RAMAN L., RANSOME-KUTI O., SEIDELL J.C., VICTORA C., WAHLQVIST M.L ET YIP CHIEF R., 1995- Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Ed. WHO Technical Report Series,Switzerland.452 p

35. FRIEDMAN J.M., HALAAS J.L ., 1998- Leptin and the regulation of body weight in mammals. Nature. Vol. 395: 763-770

36. FONTBONNE A. Epidémiologies des états diabétiques. In : Diabétologie. 2e éd. Paris: Elvesier Masson; 2014. ISBN:9782294739545.

G

37. Galle, J., Hansen-Hagge, T., Wanner, C., and Seibold, S. (2006). Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells. Atherosclerosis *185*, 219-226.

38. GOFMAN, J. W., LINDGREN, F. T., and ELLIOTT, H. ,1949., Ultracentrifugal studies of lipoproteins of human serum. J Biol Chem 179, 973-979.

39. GUSTAFSON.A.,ALAUPOVIE.A.,AND FURMAN,R.H.,1966., Studies of the composition and structure of serum lipoproteins. Separation and characterization of phospholipidprotein residues obtained by partial delipidization of very low density lipoproteins of human serum. Biochemistry 5, 632-640.

40. GIRAL P. Athérome 1998-anatomie pathologique, physiopathologie, épidémiologie et facteurs de risque, prévention. RevPrat; 48: 99-106.

41. GIACHELLI CM, LOMBARDI D, JOHNSON RJ, MURRY CE, ALMEIDA M. Evidence for a role 0f osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo. Am J. Pathol, 1998; 152(2): 353-358

42. GAUCHER E.A., MIYAMOTO M.M., BENNER S.A., 2003- Evolutionary, structural and biochemical evidence for a new interaction site of the leptin obesity protein. Genetics. Vol. 163: 1549-1553

43. GUILHERME A., VIRBASIUS J.V., PURI V., CZECH M., 2008- Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. Nat Rev Mol Cell Biol. Vol. 9(5):367-377.

44. GILLOTTE-TAYLOR, K., BOULLIER, A., WITZTUM, J. L., STEINBERG, D., and QUEHENBERGER, O.(2001). Scavenger receptor class B type I as a receptor for oxidized low density lipoprotein. J Lipid Res *42*, 1474-1482.

H

45. HAZOUT A., MENEZO Y., MADELENAT P., YAZBECK C., SELVA J., COHEN BACRIE P., 2008- Causes et implications cliniques des altérations de l'ADN des spermatozoïdes. Gynécologie Obstétrique &Fertilité . Vol. 36(11): 1109-1117.

46. HENNEN G., 2001- Endocrinologie. Ed. Boeck, Espagne. 520p.

47. Holvoet P,kritchevsky SB, Tracy RP , et al the metabolic syndrom,circulating oxidized LDL , and risk of myocardial infarction in well –functioning elderly people in the health ,aging body composition cohort .diabetes 2004 ;53.1068-1073.

48. Houda Bouhajja PhD The Canadian Diabetes Association is the registered owner of the name Diabetes Canada. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.06.006

49. HALLIWELL B.,1996- Antioxidants in human health and disease. Annu.Rev Nutr.Vol. 16:33-50.

I

50. Inoue, K., Arai, Y., Kurihara, H., Kita, T., and Sawamura, T. (2005). Overexpression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 induces intramyocardial vasculopathy in apolipoprotein E-null mice. Circ Res *97*, 176-184.

J

51. Jurgens, G., Hoff, H. F., Chisolm, G. M., 3rd, and Esterbauer, H. (1987). Modification of human serum low density lipoprotein by oxidation--characterization and pathophysiological implications. Chem Phys Lipids *45*, 315-336.

52. JOHANNES Z., HOFFMANN G.F., 2005- Vademecum metabolicum: manuel de pédiatrie métabolique. Ed. Schattauer Verlag, Allemagne. 168p.

K

53. Kontush, A., Chancharme, L., Escargueil-Blanc, I., Therond, P., Salvayre, R., Negre- Salvayre, A., and Chapman, M. J. (2003). Mildly oxidized LDL particle subspecies are distinct in their capacity to induce apoptosis in endothelial cells: role of lipid hydroperoxides. Faseb J *17*, 88-90.

54. Krauss, R. M. (1994). Heterogeneity of plasma low-density lipoproteins and atherosclerosis risk. Curr Opin Lipidol *5*, 339-349.

55. Kodama, T., Freeman, M., Rohrer, L., Zabrecky, J., Matsudaira, P., and Krieger, M. (1990). Type I macrophage scavenger receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coils. Nature *343*, 531-535.

56. Kunjathoor, V. V., Febbraio, M., Podrez, E. A., Moore, K. J., Andersson, L., Koehn, S., Rhee, J. S., Silverstein, R., Hoff, H. F., and Freeman, M. W. (2002). Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. J Biol Chem *277*, 49982-49988.

57. Kataoka, H., Kume, N., Miyamoto, S., Minami, M., Moriwaki, H., Murase, T., Sawamura, T., Masaki, T., Hashimoto, N., and Kita, T. (1999). Expression of Lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in human atherosclerotic lesions. Circulation *99*, 3110-3117.

58. Kaplan, M., and Aviram, M. (2001). Retention of oxidized LDL by extracellular matrix proteoglycans leads to its uptake by macrophages: an alternative approach to study lipoproteins cellular uptake. Arterioscler Thromb Vasc Biol *21*, 386-393.

59. KIRAN M., 2010- Atherogenic Dyslipidemia: Cardiovascular Risk and Dietary Intervention. Lipids. Vol. 45(10) :907-914.

60. KOSTNER, HORNYKEWYCZ S, YANG P, NEUNTEUFL T, GLOGAR D, WEIDINGER F, MAURER G, HUBER K. ; 1997 , oxidative stress causally linked to unstable angina pectoris? A study in 100 CAD patients and matched controls. Cardiovasc Res ;36:330-6.

L

61. Libby, P. (2000). Changing concepts of atherogenesis. J Intern Med *247*, 349-358.

62. LAGROST ,L.,MASSON,D.,AND CHAPMAN,J. (2004). Lipoprotéines et métabolisme lipidique. L'athérosclérose : Physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques, 59-77.

63. LEONI, J., Physiopathologie de l'athérosclérose. Mécanisme et prévention de l'athéroth rom bose. Université de Franche-Comté. Besançon., 2001.

64. LEAN M.E., 2000- Pathophysiology of obesity. Proceedings of the Nutrition Society. Vol.59(3): 331-336.

65. LEVERVE X., COSNES J., ERNY P., HASSELMANN M., 2001- Traité de nutrition artificielle de l'adulte.Springer, France. 957p.

66. Levitan I, volkov S, subbaiah PV oxidized LDL :diversity,patterns of recognition ,and pathophysiologie antioxid redox signal 2010 :13 :39

67. LAGROST ,L.,MASSON,D.,AND CHAPMAN,J. (2004). Lipoprotéines et métabolisme lipidique. L'athérosclérose : Physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques, 59-77.

M

68. MASSY Z., FABRIZIO A., 2004- Cholestérol et triglycérides. Ed. Wolters Kluwer, France. 80p.

69. MAGDER S. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Crit Care. 2006, 10, 208-216.*

70. Moore, K. J., and Freeman, M. W. (2006). Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake. Arterioscler Thromb Vasc Biol *26*, 1702-1711.

71. Mehta, J. L., Chen, J., Hermonat, P. L., Romeo, F., and Novelli, G. (2006). Lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1): a critical player in the development of atherosclerosis and related disorders. Cardiovasc Res *69*, 36-45.

72. Murphy, J. E., Tedbury, P. R., Homer-Vanniasinkam, S., Walker, J. H., and Ponnambalam, S. (2005). Biochemistry and cell biology of mammalian scavenger receptors. Atherosclerosis *182*, 1-15.

73. MACHEBOEUF, M. (1928) Recherche sur les stérols, lipides, et les protéides du sérum et du plasma sanguins, Paris

74. MEGNIEN JL, TOUBOUL PJ. Incidence pronostique. L'Athérosclérose. Masson, 2003; 26: 485-496

75. Monnier L. Diabétologie. Issy-les-M oulineaux: Elsevier M asson, 2010.

76. Mary F. Walter, PHD,* Robert F. Jacob, PHD,* Barrett Jeffers, PHD, 2004 by the American College of Cardiology Foundation ISSN 0735-1097/04/$30.00 Published by Elsevier Inc.

77. Masahika okada, Takayuki mastsuto, takashi miida ,konenobayashi, ying zhu,yuriko fueki jornal of atherosclerosis and thrombosis vol.11(2004)No.4 P190-199

78. MEHTAET, J. L., Chen, J., Hermonat, P. L., Romeo, F., and Novelli, G. (2006). Lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1): a critical player in the development of atherosclerosis and related disorders. Cardiovasc Res *69*, 36-45.

79. MOLLER , P., Wallin, H. & Knudsen, L.E. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chem. Biol. Interact* **102**, 17-36 (1996).

80. MUOIODM , NEWGARD CB. M echanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. Nat Rev M ol Cell Biol 2008; 9: 193–205.

81. MURPHYET, J. E., Tedbury, P. R., Homer-Vanniasinkam, S., Walker, J. H., and Ponnambalam, S. (2005). Biochemistry and cell biology of mammalian scavenger receptors. Atherosclerosis *182*, 1-15.

N

82. Naito, M., Suzuki, H., Mori, T., Matsumoto, A., Kodama, T., and Takahashi, K. (1992).

83. Coexpression of type I and type II human macrophage scavenger receptors in macrophages of various organs and foam cells in atherosclerotic lesions. Am J Pathol *141*, 591-599.

84. Negre-Salvayre, A., Coatrieux, C., Ingueneau, C., and Salvayre, R. (2008). Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins.

Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. Br J Pharmacol *153*, 6-20.

85. NALBONE GILLES, FRANCK PEIRETTI, MATTHIAS CANAULT, MARIE-CHRISTINE ALESSI. Lipides peroxydés et réaction immuno-inflammatoire dans l'athérosclérose. OCL. 2006;13 (5) 337-338

86. Nour Eldin Essam Eldin Mohamed Nour Eldin1*, Abdullah Almarzouki2, Adel Mohamed Assiri1, Osman Mohammed Elsheikh3, Badreldin Elsonni Abdalla Mohamed4 and Abdullatif Taha Babakr5. Diabetology & Metabolic Syndrome 2014, 6:94 http://www.dmsjournal.com/content/6/1/94

87. Njajou1Alka M. Kanaya1Paul Holvoet2Stephanie Connelly3Elsa S. Strotmeyer4Tamara B. Harris5Steve R. Cummings1Wen-Chi Hsueh1* fortheHealth ABC Study 2009 John Wiley & Sons, Ltd.

O

88. ORCHARD TJ, VIRELLA G, FORREST KY, EVANS RW, BECKER DJ, LOPES-VIRELLA MF. Antibodies to oxidized LDL predict coronary artery disease in type 1 diabetes: a nested case-control study from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. Diabetes 1999;48:1454-8.

89. OTSUKA A, AZUMA K, IESAKI T, SATO F, HIROSE T, SHIMIZU T, TANAKA Y, DAIDA H, KAWAMORI R and WATADA H (2005). "Temporary hyperglycaemia provokes monocyte adhesion to endothelial cells in rat thoracic aorta." Diabetologia **48**(12): 2667-74.

P

90. PIERRE V.,2002- Biochimie clinique. Ed. Médicales internationales, France. 332p.

91. Poirier P., Despres J.P., 2003- Obésité Et Maladies Cardiovasculaires. Médecine Sciences. Vol. 19(10): 943-949.

92. Pathak A., Rouet P., Despas F., Jourdan G., Verwaerde P., Galinier M., Senard J.M .,2007- Obésité Et Hypertension Artérielle : Epidémiologie, Physiopathologie Et Prise En Charge. Mt Cardio. Vol. 3(3):169-77

93. Parillo M., Riccardi G., 2004- Diet Composition And The Risk Of Type 2 Diabetes: Epidemiilogical And Clinical Evidence. British Journal of Nutrition. Vol.92 (1):7-19

94. Robbesyn, F., Auge, N., Vindis, C., Cantero, A. V., Barbaras, R., Negre-Salvayre, A., and Salvayre, R. (2005). High-density lipoproteins prevent the oxidized low-density lipoprotein-induced epidermal [corrected] growth factor receptor activation and subsequent matrix metalloproteinase-2 upregulation. Arterioscler Thromb Vasc Biol *25*, 1206-1212.

R

95. Ross, R. (1990). Mechanisms of atherosclerosis--a review. Adv Nephrol Necker Hosp *19*, 79-86.

96. ROSS R., 1999- Atherosclerosis--an inflammatory disease. The New England journal of Medicine. Vol. 340(2): 115-126.

97. Rajavashisth, T. B., Xu, X. P., Jovinge, S., Meisel, S., Xu, X. O., Chai, N. N., Fishbein, M. C., Kaul, S., Cercek, B., Sharifi, B., and Shah, P. K. (1999). Membrane type 1 matrix metalloproteinase expression in human atherosclerotic plaques: evidence for activation by proinflammatory mediators. Circulation *99*, 3103-3109.

98. Rajkovia N,Zamaklar M,lali K, lalic NM,popovicl ,Draskovic –Radojkovic D,Singh S ,stosicl,jitic A ,lukicl,Milicic T :op3 :oxidized LDLD as redual lipid risk Marker in type 2 diabetes ,diabets metab 2012 ;38(supplement 5) :S98-S99 Jornal Of Atherosclerosis And Thrombosis Vol 18 .No .7

99. Rosen P , Nawroth pp, king G , moller w ,Tritschiler Hj , packer L . the role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications :a summary of a cogress series sponsored by UNESCO-MCBN , the american diabetes association and the german diabets siciety .diabetes metab rc rev 2001 :17 :189-212

S

100. SIES H.,1991- Oxidative stress: from basic research to clinical application. Am J Med. Vol. 91(3):31-38.

101. Sawamura, T., Kume, N., Aoyama, T., Moriwaki, H., Hoshikawa, H., Aiba, Y., Tanaka, T., Miwa, S., Katsura, Y., Kita, T., and Masaki, T. (1997). An endothelial receptor for

102. oxidized low-density lipoprotein. Nature *386*, 73-77. Suc, I., Meilhac, O., Lajoie-Mazenc, I., Vandaele, J., Jurgens, G., Salvayre, R., and Negre-Salvayre, A. (1998). Activation of EGF receptor by oxidized LDL. Faseb J *12*,665-671.

103. Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T. E., Khoo, J. C., and Witztum, J. L. (1989b). Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that

increase its atherogenicity. N Engl J Med *320*, 915-924.

104. STEINBERRG D., LEWIS A. Conner memorial lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. Circulation 1997; 95(4): 1062-71.

105. SPECTOR A A. Plasma lipid transport. Clin Physiol Biochem. 2(2-3):123-34, 1984.

106. SALVAYRE, R., AUGE, N., BENOIST, H., and NEGRE-SALVAYRE, A. (2002). Oxidized lowdensity lipoprotein-induced apoptosis. Biochim Biophys Acta 1585, 213-221.

107. SCHWEIZ B. Infarctus du myocarde Brochure d'information à l'intention du patient. Fondation Suisse de Cardiologie (2000).

108. SKURK T., HAUNER H.,2004- Obesity and impaired fibrinolysis : role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1 . Int J Obes Relat Metab Disord. Vol.28 :1357-64.

109. SAÏLE R., TAKI H., 2007- Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose : de la biochimie à la physiopathologie. Les technologies de laboratoire. Vol. 6 (2) :5-11.

110. SHAW, P. X., HORKKO, S., CHANG, M. K., CURTISS, L. K., PALINSKI, W., SILVERMAN, G. J., and WITZTUM, J. L. (2000). Natural antibodies with the T15 idiotype may act in atherosclerosis, apoptotic clearance, and protective immunity. J Clin Invest 105, 17311740.

T

111. Terentis, A. C., Thomas, S. R., Burr, J. A., Liebler, D. C., and Stocker, R. (2002). Vitamin E oxidation in human atherosclerotic lesions. Circ Res *90*, 333-339.

112. TOUSSAINT J.F., JACOB M.P., LAGROST L., CHAPMAN J., 2003- L'athérosclérose: physiopathologie, diagnòstics, thérapeutiques. Ed.Elsevier Masson, Paris. 776 p

113. Tontonoz, P., Nagy, L., Alvarez, J. G., Thomazy, V. A., and Evans, R. M. (1998). PPARgamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. Cell *93*, 241-252.

114. TEDGUI A. Pathogenèse de l'athérosclérose., Neurolo endocrinologieNutrition. Encyci Méd Chir. (Elsevier, Paris). 2001; 10-368-1-10, 7p.

115. TEDGUI A, CHAPMAN J. Pathogenèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes. L'Athérosclérose. Masson, 2003; 12: 245-253

U

116. USITUPA MI, NISKANEN L, LUOMA J, VILJA P, MERCURI M, RAURAMAA R, YLA-HERTTUALA S.Autoantibodies against oxidized LDL do not predict atherosclerotic vascular disease in non-insulindependent diabetes mellitus. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1996;16:1236-42.

V

117. Van Eck, M., Twisk, J., Hoekstra, M., Van Rij, B. T., Van der Lans, C. A., Bos, I. S., Kruijt, J. K., Kuipers, F., and Van Berkel, T. J. (2003). Differential effects of scavenger receptor BI deficiency on lipid metabolism in cells of the arterial wall and in the liver. J Biol Chem *278*, 23699-23705.

118. Vindis, C., Escargueil-Blanc, I., Elbaz, M., Marcheix, B., Grazide, M. H., Uchida, K., Salvayre, R., and Negre-Salvayre, A. (2006). Desensitization of platelet-derived growth factor receptor-beta by oxidized lipids in vascular cells and atherosclerotic lesions: prevention by aldehyde scavengers. Circ Res *98*, 785-792

119. VALKO, M., MORRIS, H. & CRONIN, M.T.D. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med.Chem* **12**, 1161-1208 (2005).

120. VALKO , M., RHODES, C.J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M. & MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact* **160**, 1-40 (2006).

W

121. WILLIAM J.M., STEPHEN K.B., 2005- Biochimie médicale physiologie et diagnostic. Ed. ELSEVIER, France. 379p

122. WHO., 2000- Obesity: preventing and managing the global epidemic. World Health Organ Tech Rep Ser. Vol. 894: i-xii, 1-253.

123. WOLF H.K., TUOMILEHTO J., KUULASMAA K., DOMARKIENE S., CEPAITIS Z., MOLARIUS A., SANS S., DOBSON A., KEIL U., RYWIK S., 1997- Blood pressure levels in the 41 populations of the WHO MONICA project. J Hum Hypertension. Vol. 11(11) :73342

124. Witztum, J. L., and Steinberg, D. (1991). Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. J Clin Invest *88*, 1785-1792.

Y

125. Yuan, X. M., Li, W., Brunk, U. T., Dalen, H., Chang, Y. H., and Sevanian, A. (2000). Lysosomal destabilization during macrophage damage induced by cholesterol oxidation products. Free Radic Biol Med *28*, 208-218.

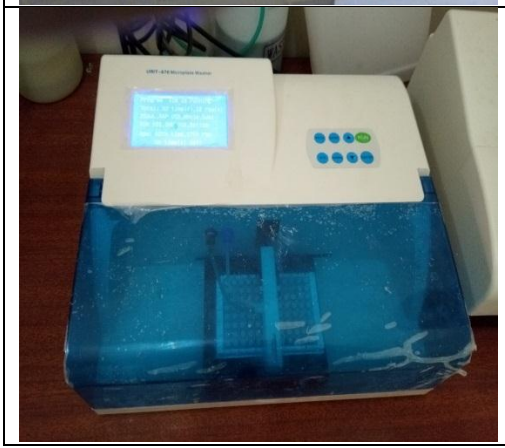
Z

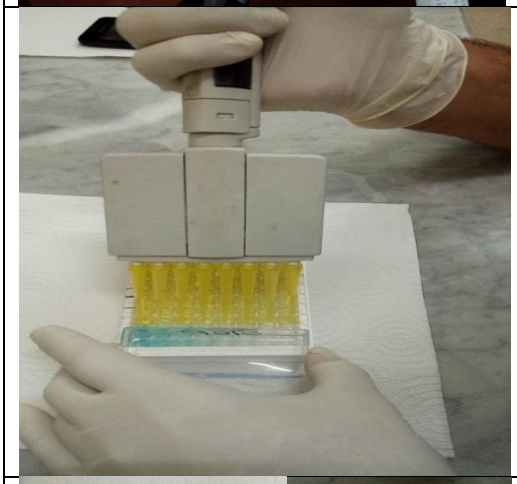
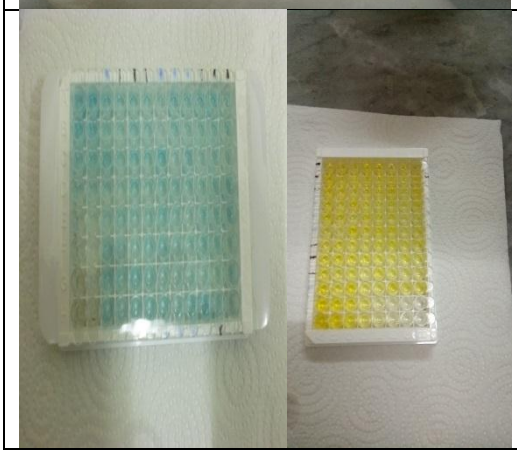
126. ZHANG, W., Yancey, P. G., Su, Y. R., Babaev, V. R., Zhang, Y., Fazio, S., and Linton, M.F. (2003). Inactivation of macrophage scavenger receptor class B type I promotes atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. Circulation *108*,2258-2263.

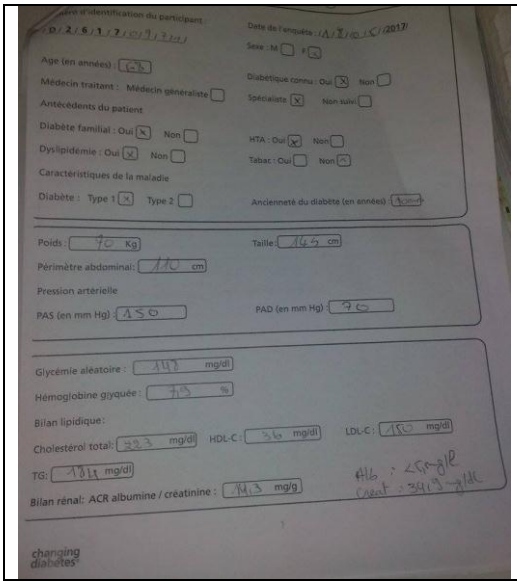
127. Ziegler O., Quilliot D., Guerci B., 2000- Physiopathologie De L'obésité. Elsevier Masson. Vol 61 (1): 3-56.

Annexes

	« centrifugeuse »
	« centrifugeuse du epindorfe »
	« Vortex »
	« bain marie »

	« **Spectrophotométrie** »
	« **PH mètres** »
	« **Incubateur** »
	« **laveur de microplaques automatique** » **URIT - 670**

	« Lecteur de microplaques avec filtre de 450 ± 10nm. Elisa » URIT - 660
	« micropipette multi-canaux »
	«Plaque Elisa de 96 puits »

	**«fiche questionnaire des malades»**

Evaluation du statut antioxydant total (ABTS) :

1. Préparation de la solution ABTS : à 7 mM (dans L'Eau distillé)

Mm (ABTS) = 548.68 g/mol 514.62 g/mol

548.68 g → 1L → 1 mol

(x) g → 1 L → 7×10^{-3} mol

(x) = 3.84 g → 1 L

= 0.023 g → 6 mL

2. Préparation du Persulfate de Potassium : à 2.45 mM

Mm ($K_2 S_2 O_8$) = 270.32 g/mol

270.32 g → 1L → 1 mol

(x) g → 1 L → 2.45×10^{-3} mol

(x) = 0.66 g → 1 L

= 0.0033 g → 5 mL

3. Préparation de la solution ABTS° :

Solution d'ABTS + Persulfate de Potassium → ABTS° (bleu vert)

(2 volume) (1 volume)

Laissez le mélange au repos à l'obscurité et à température ambiante pendant 12-16 h.

4. Dilution de la solution ABTS° = ABTS°⁺ (solution de paillasse):

Dilution avec un tampon phosphate **PBS** (pH = 7.4)

- ABTS° (100 µL) + **PBS** (1500 µL) = ABTS°⁺
- Obtenir une absorbance de ABTS°⁺ = 0.7 (longueur d'onde = 734 nm)
- ABTS°⁺ (1 mL) + Echantillon (10 µL)
- lecture prise à 5 min exactement après Réaction
- Le pourcentage d'inhibition a été calculé et exprimé en équivalent millimolaire de (Trolox)
- % d'inhibition = $\frac{At - Ae}{At} \times 100$

On calcule :

$$\begin{cases} \textbf{blanc du témoin : PBS } (10\ \mu L) + \textbf{ PBS } (1mL) \\ \textbf{témoin : PBS } (10\ \mu L) + \textbf{ ABTS°}^{+} (1mL) \end{cases}$$

$$\begin{cases} \textbf{blanc du l'échantillon : Ech } (10\ \mu L) + \textbf{ PBS } (1mL) \\ \textbf{échantillon : Ech} (10\ \mu L) + \textbf{ ABTS°}^{+} (1\ mL) \end{cases}$$

Préparation de solution tampon Phosphate 50mM pH 7.4 :

1. Préparez la Solution A (Basique) :

Na_2HPO_4 (Base)
Mm=141.96 g/mol

$$141.96\ g \rightarrow 1\ L \rightarrow 1\ mol$$
$$(x)g \rightarrow 1\ L \rightarrow 50\ .10^{-3}\ mol$$

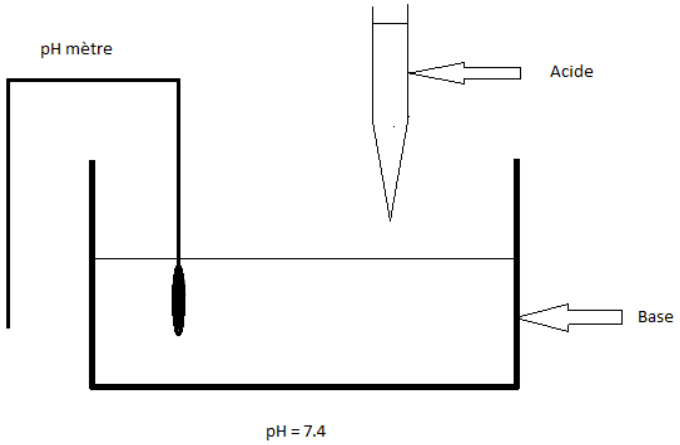
(x) = 7.1 g → 1 L
= 0.71 g → 100 mL

2. Préparez la Solution B (acide)

NaH_2PO_4(acide)
Mm=137.99 g/mol

$$137.99\ g \rightarrow 1\ L \rightarrow 1\ mol$$
$$(x)g \rightarrow 1\ L \rightarrow 50\ .10^{-3}\ mol$$

(x) = 6.9 g → 1 L
= 0.69 g → 100 mL



Préparation de PBS Phosphate Buffered Saline pH 7.4 :

1. Préparez la Solution A (Basique) :

Réactifs	Pesée	mM
NaCl	8 g	137 mM
KCL	0.2 g	2.7 mM
Na_2HPO_4	1.44 g	10 mM
KH_2PO_4	0.24 g	1.8 mM

Ajoutez les Solutés au 800ml H2O
Ajustez par HCL à pH 7.4
Complétez jusqu'au 1 Litre

Analyse de TBARS

JOHN A. BUEGE and STEVEN D. AUST 1978. Microsomal lipid peroxidation.

1. Préparation de solution Stock TCA-TBA-HCl « TTH »

TCA (15% w/v) ; **TBA** (0.375% w/v) ; **HCL** (0.25 N)

TCA (15 g) ; **TBA** (0.375 g) ; **HCL** (100 ml)

La solution peut être chauffée légèrement pour dissoudre le TBA
La solution **TTH** peu être aliquoté et conservé a -20°C

1. Mesure spechtro-photométrique

1. **TTH** (1 mL) + **Ech** (0.5 mL) ; mélanger bien au vortex
2. **Bain Marie** (95 – 100°C) (60 min)
3. **Bain De Glace** (Stop réaction)
4. **Centrifugez** (18000 g) (15 min)
5. Lecture **surnageant** Spechtrophotomètre a **532 nm**

$$[\ ]\ \text{MDA nm} = \frac{Abs}{1.56} \times 10^5\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$$

……..

Préparation de HCL à O.25 N

Préparation de 100 ml HCL 0.25 N ; a partir de HCL Stock solution (37.2%)

Ajoutez **2.042 ml** d'HCL de stock à **25 ml** d'eau distillé ;

puis ajustez le volume final à 100 ml avec de l'eau distillé

Analyse de TBARS

Mary F. Walter 2004 Serum Levels TBARS CAV in Stable Coronary Artery Disease

1. **NaOH '10M'** (50 µl) + **Ech** (0.5 ml) ; mélanger bien au vortex
2. **Bain Marie** (60°C) (30 min)
3. Ajoutez de l'**HCL '586 g/L'** (500 µLl)
4. **Centrifugez**
5. Le **surnageant** (300µl) + **TBA** 10g/L 50mM Phosphate buffer (50µL)
6. Vortexez ; **Bain Marie** (100°C) (30 min)
7. Cooling
8. 100µL Spechtrophotomètre a **532 nm**

$$[\ ]\ \text{MDA nm} = \frac{Abs}{1.56} \times 10^5\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$$

Analyse de TBARS

Hamdy F.Moselhy, 2013. Mesure of total plasma malondialdehyde.

1. **NaOH '3M'** (25 µl) + **Ech/Blanc** (100 µL) ; mélanger bien au vortex
2. **Bain Marie** (60°C) (30 min)
3. Ajoutez de l'**Acide Sulfurique '0.05M'** (1ml) + **TCA** 20% w/v (0.5ml)
4. Vortexez et **Centrifugez** (3000 rpm) (10 min)
5. Le **surnageant** + **TBA** 0.355% (0.5ml)
6. Vortexez ; **Bain Marie** (90°C) (40 min)
7. Cooling et **Centrifugez** (3000 rpm) (10 min)
8. Spechtrophotomètre a **532 nm**

$$[\ ]\ \text{MDA nm} = \frac{Abs}{1.56} \times 10^5\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$$

Réactifs du TBARS :

NaOH avec Mm = 39.99 g/mol

39.99 g → 1L → 1 mol

(x) g → 1 L → 0.05 mol

(x) = 1.99 g → 1 L

= 0.04 g → 20 mL

TBA :

$$\left.\begin{array}{l} 1\ \text{g} \rightarrow 100\ \text{mL} \\ (\text{x})\ \text{g} \rightarrow 10\ \text{mL} \end{array}\right\} \text{x} = 0.1\ \text{g}$$

TBA° = 0.1 g (TBA) + 10 ml (NaOH)

Préparation de l'EDTA :

EDTA avec Mm = 292.24 g/mol

292.24 g → 1L → 1 mol

(x) g → 1 L → 0.1 mol

(x) = 29.22 g → 1 L

= 0.58 g → 20 mL

Préparation de TCA :

$$\left.\begin{array}{l} 30\ \text{g} \rightarrow 100\ \text{mL} \\ (\text{x})\ \text{g} \rightarrow 20\ \text{mL} \end{array}\right\} \text{x} = 6\ \text{g}$$

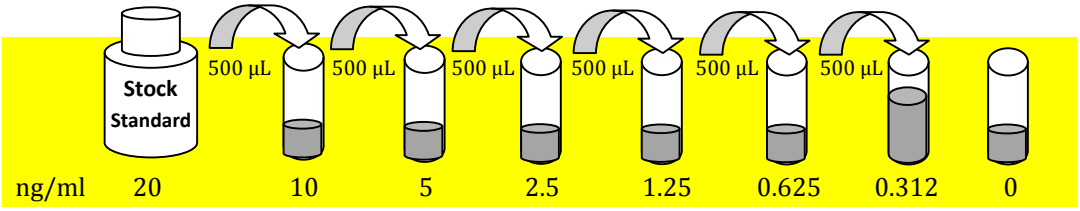
TCA° = 6 g (TCA) + 20 mL (EDTA)

ELISA Ox-LDL BIOMATIK ®

1. Préparation des Réactifs

❖ Le Standard (**témoin positif**) :

- Ampoule (**standard**) + **Diluent Sample** (1ml) = [20 ng/ml]$^{Ox\text{-}LDL}$
- Laissez reposer (**15** min), avec agitation douce
- Préparez 07 tubes en (500µL) de **Diluent Sample**
- Préparez une dilution en série, le **Diluent Sample** représente [0 ng/ml]



ng/ml	Mean O.D
20	2.917
10	2.01
5	1.352
2.5	0.814
1.25	0.425
0.625	0.221
0.312	0.11
0	0

❖ Le réactif de détection **A** et **B** (solution paillasse)

- Diluez (1 :100). Réactif de détection (**A**) + **Diluent A.** ; (100µL +9900µL)
- Diluez (1 :100). Réactif de détection (**B**) + **Diluent B.** ; (100µL +9900µL)

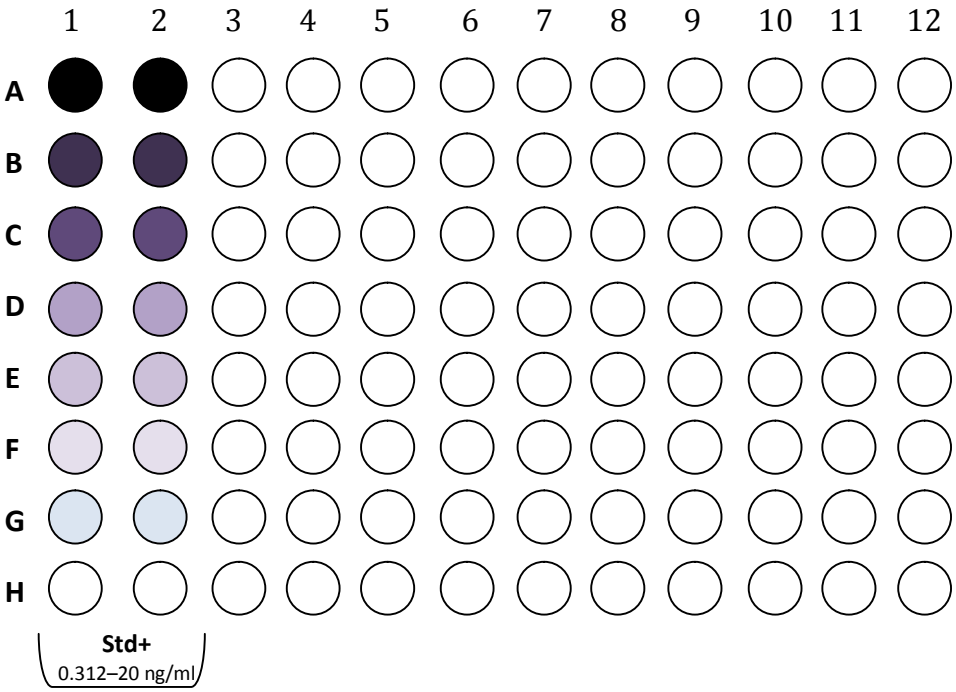
❖ Solution de Lavage

- Mixez gentiment à T° ambiante, si des cristaux sont formés dans le concentré.
- Préparez 750 ml de Solution de Lavage ; Diluez le concentré par l'eau distillée.

2. Précédé d'emploi

- Atteindre la T° ambiante pour tous les réactifs
- Mixez tous réactif avant pipetage (éviter la formation de mousse)
- Prédire et déterminer la dilution appropriée des échantillons (marges/détection)

1. Ajoutez (100µL) **Standards +** / Echantillons



2. Couvrez la plaque
3. Incubez à **37°C ; 2 h**
4. Enlevez le liquide de chaque puits. **Ne lavez pas**
5. Ajoutez (100µL/well) Réactif de détection **(A)** (solution paillasse)

   Si la solution A s'apparait nuageux : mixez bien jusqu'au éclaircissement

6. Couvrez la plaque
7. Incubez à **37°C ; 1 h**
8. Aspirez et lavez (~ 400µL/well). Effectuez Trois 03 lavage

   Assurez l'enlèvement du liquide après chaque étape de lavage

9. Laissez reposez 1-2 min
10. Décantez la plaque ; inversez et tapez sur papier hygiénique
11. Ajoutez (100µL/well) Réactif de détection **(B)** (solution paillasse)
12. Couvrez la plaque
13. Incubez à **37°C ; 1 h**
14. Aspirez et lavez (~ 400µL/well). Effectuez Cinq 05 lavage

    Assurez l'enlèvement du liquide après chaque étape de lavage

15. Décantez la plaque ; inversez et tapez sur papier hygiénique

16. Ajoutez (90µL/well) Solution substrat
17. Couvrez la plaque
18. Incubez à **37°C ; 15 - 30 min** **protégez de la lumière**
19. Ajoutez (50µL/well) Solution Stop

    Si le changement de la couleur n'apparait pas ; tapez gentiment pour mixer

20. Lecture à 450 nm

Statistiques descriptives
Eclaté par : Sexe

	Moy.	Dév. Std	Erreur Std	Nombre	Minimum	Maximum
Age (Ans), Total	57,587	12,237	1,368	80	32,000	85,000
Age (Ans), femme	56,977	14,045	2,142	43	35,000	85,000
Age (Ans), homme	58,297	9,874	1,623	37	32,000	84,000
Poids (kg), Total	81,525	15,790	1,765	80	53,000	130,000
Poids (kg), femme	76,186	14,055	2,143	43	55,000	110,000
Poids (kg), homme	87,730	15,590	2,563	37	53,000	130,000
Taille (cm), Total	165,750	8,458	,946	80	143,000	185,000
Taille (cm), femme	161,186	7,062	1,077	43	143,000	175,000
Taille (cm), homme	171,054	6,708	1,103	37	150,000	185,000
Tour de Taille (cm), Total	98,625	15,824	1,769	80	70,000	133,000
Tour de Taille (cm), femme	96,000	16,160	2,464	43	70,000	123,000
Tour de Taille (cm), homme	101,676	15,067	2,477	37	70,000	133,000
Cholestérol (g/l), Total	1,885	,540	,060	80	,600	2,990
Cholestérol (g/l), femme	1,883	,486	,074	43	,600	2,660
Cholestérol (g/l), homme	1,887	,603	,099	37	,860	2,990
Triglycérides (g/l), Total	1,382	,642	,072	80	,320	3,970
Triglycérides (g/l), femme	1,428	,644	,098	43	,430	3,970
Triglycérides (g/l), homme	1,327	,644	,106	37	,320	2,930
HDL (g/l), Total	,409	,082	,009	80	,210	,620
HDL (g/l), femme	,423	,080	,012	43	,300	,620
HDL (g/l), homme	,393	,082	,013	37	,210	,540
LDL (g/l), Total	1,199	,489	,055	80	-,134	2,166
LDL (g/l), femme	1,174	,455	,069	43	-,134	1,936
LDL (g/l), homme	1,229	,530	,087	37	,290	2,166
BP systolique (mm Hg), Total	133,600	28,495	3,186	80	11,000	180,000
BP systolique (mm Hg), femme	135,372	25,458	3,882	43	11,000	180,000
BP systolique (mm Hg), homme	131,541	31,899	5,244	37	15,000	170,000
BP diastolique (mm Hg), Total	79,213	12,314	1,377	80	60,000	130,000
BP diastolique (mm Hg), femme	75,814	12,953	1,975	43	60,000	130,000
BP diastolique (mm Hg), homme	83,162	10,354	1,702	37	60,000	107,000
Glycémie (g/l), Total	1,838	,925	,103	80	,600	4,230
Glycémie (g/l), femme	1,732	,971	,148	43	,620	4,200
Glycémie (g/l), homme	1,961	,865	,142	37	,600	4,230
MDA (nmol/ml), Total	77,681	119,876	14,227	71	2,564	576,923
MDA (nmol/ml), femme	84,792	127,128	20,101	40	2,564	576,923
MDA (nmol/ml), homme	68,507	111,204	19,973	31	3,205	576,923
Colonne 1, Total	90,435	5,595	,626	80	76,800	99,600
Colonne 1, femme	89,526	5,829	,889	43	78,400	98,900
Colonne 1, homme	91,492	5,189	,853	37	76,800	99,600
IMC, Total	29,664	5,298	,592	80	19,706	43,943
IMC, femme	29,337	5,196	,792	43	20,701	41,623
IMC, homme	30,044	5,462	,898	37	19,706	43,943
Ox-LDL (ng/ml), Total	337,013	113,098	12,645	80	117,285	628,545
Ox-LDL (ng/ml), femme	321,152	114,004	17,385	43	117,285	628,545
Ox-LDL (ng/ml), homme	355,446	110,709	18,201	37	228,058	609,069