

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière: Biochimie

Spécialité: Biochimie

THEME

**Contribution à l'étude de l'effet du diabète
sur la synthèse protéique et l'activité du
système glutathion chez les rats**

Promoteur:

DEROUICHE Samir

Présenter par:

DJERMOUN Manel

BEN AMARA Soumaya

ABBAS Kawther



REMERCIEMENTS

Au nom d'ALLAH le clément et qui manifeste sa clémence

Louage à ALLAH seigneur de l'univers. Que la miséricorde et la paix soient sur notre prophète Mohammed sur sa famille et tous ses compagnons.

Notre maître DEROUICHE Samir :

Croyez bien que nous apprécions à sa juste valeur l'immense service que nous devons à votre sollicitude éclairée. Nous gardons toujours le souvenir de votre bienveillance à notre égard, Nous vous remercions vivement à votre précieuse collaboration pour l'élaboration de ce mémoire, pour votre disponibilité et pour votre soutien et votre confiance.

Nos remerciements vont également à tous les enseignants et tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et la vie.

Kawther

Manel

Soumaya

SOMMAIRE

Introduction	
PREMIERE PARTI: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre: Le diabète et le stress oxydatif	
I. Généralité sur le diabète.....	03
I.1. Historique.....	03
I.2. Définition de diabète	04
I.3. Classification.....	04
I.3.1. Diabète de Type 1 (Insulino-dépendant DID).....	04
I.3.1.1. Définition.....	04
I.3.1.2. Origine de diabète type 1.....	04
I.3.1.3. Physiopathologie.....	05
I.3.1.3.1. Facteurs génétiques.....	05
I.3.1.3.2. Facteurs auto-immuns.....	06
I.3.1.3.3. Facteurs d'environnement et de nutrition.....	07
I.3.1.4. Diagnostic et Symptômes du diabète de type 1.....	07
I.3.1.5. Traitement.....	07
I.3.2. Diabète de type 2.....	08
I.3.2.1. Définition.....	08
I.3.2.2. Physiopathologie.....	08
I.3.2.2.1. L'insulinorésistance.....	08
I.3.2.2.1.1. Définition.....	08
I.3.2.2.1.2. Mécanisme.....	09
I.3.2.2.2. L'insulinodéficience.....	10
I.3.2.2.3. L'effet de l'Augmentation de Glucose et l'Acide Gras.....	10
I.3.2.3. Etiologie du diabète sucré de type 2.....	11
I.3.2.4. Le diagnostic.....	11
I.4. Anatomie et fonction de pancréas.....	12
I.4.1. Définition de pancréas.....	12
I.4.2. Anatomie de pancréas.....	12
I.4.3. Fonctions de pancréas.....	13
I.4.3.1. Fonction exocrine.....	13

I.4.3.2. Fonction endocrine.....	13
I.5. L'insuline.....	14
I.5.1. Définition.....	14
I.5.2. La structure.....	14
I.5.3. Structure du gène de l'insuline.....	15
I.5.4. Récepteur de l'insuline.....	15
I.5.5. Les étapes de la synthèse de l'insuline.....	16
I.5.6. Rôle de l'insuline dans la régulation du métabolisme cellulaire.....	17
II. Stress Oxydatif.....	18
II.1. Définition.....	18
II.2. Les radicaux libres.....	18
II.3. Les Antioxydant.....	19
II. 3.1. Définition.....	19
II. 3.2. Le glutathion (GSH).....	19
II. 3.3. La Glutathion peroxydase.....	21
II. 3.3.1. Définition.....	21
II. 3.3.2. Mécanisme d'action.....	21
II. 3.4. Diabète et stress oxydatif.....	22
II. 3.5. La Résistance à l'insuline et le stress oxydatif.....	22
Chapitre II: Généralité sur les protéines	
I. Les protéines.....	23
I.1. Définition.....	23
I.2. Structure.....	23
I.2.1. Structure primaire de protéine.....	23
I.2.2. Structure secondaire de protéine.....	23
I.2.3. Structure tertiaire de protéine.....	24
I.2.4. La structure quaternaire de protéine.....	24
I.3. Métabolisme des acides aminés.....	24
I.3.1. Dégradation des acides aminés.....	24
I.3.1.1. Désamination.....	24
I.3.1.2. Transamination.....	26
I.3.1.3. Décarboxylation.....	27
I.3.2. Cycle de l'urée.....	27
I.4. La biosynthèse protéique.....	28

I.4.1. Définition.....	28
I.4.2. Etapes de la biosynthèse protéique.....	28
I.4.2.1. La transcription.....	28
I.4.2.1.1. L'initiation de la transcription.....	28
I.4.2.1.2. L'élongation de la transcription.....	29
I.4.2.1.3. La terminaison de la transcription.....	29
I.4.2.1.4. La maturation.....	29
I.4.2.2. La traduction.....	29
I.4.2.2.1. L'initiation de la traduction.....	30
I.4.2.2.2. Elongation de la traduction.....	30
I.4.2.2.3. Terminaison de la traduction.....	31
I.4.2.3. Repliement et modifications post-traductionnelles.....	31
I.5. Le Rôle des protéines.....	31
I.6. Les variations quantitatives des protéines sériques.....	32
I.6.1. Type des protéines sériques.....	32
I.6.1.1. Albumine.....	32
I.6.1.2. Globulines.....	32
I.6.1.3. Le fibrinogène.....	33
I.6.2. Les Variations physiopathologiques.....	33
I.6.2.1. Les hyperprotéïnemies.....	33
I.6.2.2. Les hypoprotéïnémies.....	34
DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE	
Chapitre I: Matériels et Méthodes	
I. Matériels.....	35
I.1. Matériel animal.....	35
I.1.1. Entretien des animaux.....	35
I.1.2. Elevage et mesure du poids.....	35
I.1.3. Traitement des animaux.....	35
I.1.4. Prélèvement de sang et des organes.....	36
I.2. Réactifs.....	36
I.3. Les Appareils.....	36
II. Méthodes.....	39
II.1. Méthode de dosage des paramètres hématobiochimiques.....	39
II.1.1. Méthode de dosage de la glycémie.....	39

II.1.1.1. Principe.....	39
II.1.1.2. Réactifs.....	39
II.1.1.3. Préparation et stabilité.....	39
II.1.1.4. Mode opératoire.....	40
II.1.1.5. Calcule.....	40
II.1.2. Méthode de dosage des Protéines totales sériques.....	40
II.1.2.1. Principe.....	40
II.1.2.2. Réactifs.....	40
II.1.2.3. Mode opératoires.....	41
II.1.2.4. Calcule.....	41
II.1.3. Méthode de Dosage des protéines hépatiques.....	41
II.1.3.1. Préparation de la solution du bleu de Comassie.....	41
II.1.3.2. Mode d'opérateur.....	41
II.1.4. Méthode de Dosage de l'acide urique.....	42
II.1.4.1. Principe.....	42
II.1.4.2. Réactifs.....	42
II.1.4.3. Préparation et stabilité.....	42
II.1.4.4. Échantillon.....	43
II.1.4.5. Mode opératoire.....	43
II.1.4.6. Calcule.....	43
II.1.5. Méthode de dosage de l'urée sérique.....	43
II.1.5.1. Principe.....	43
II.1.5.2. Réactifs.....	43
II.1.5.3. Préparation et stabilité.....	44
II.1.5.4. Mode opératoire.....	44
II.1.5.5. Calcule.....	44
II.1.6. Méthode de dosage de l'hémoglobine.....	44
II.1.6.1. Principe.....	44
II.1.6.2. Réactifs.....	45
II.1.6.3. Mode opératoire.....	45
II.1.6.4. Calcule.....	45
II.2. Méthode de dosage des paramètres antioxydants.....	45
II.2.1. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH) hépatique.....	45
II.2.1.1. Principe.....	45

II.2.1.2. L'échantillon.....	45
II.2.1.3. Les Réactifs.....	46
II.2.1.4. Mode opératoire.....	46
II.2.1.5. Calcule.....	46
II.2.2. Mesure de l'activité du glutathion peroxydase (GPx) hépatique.....	47
II.2.2.1. Principe.....	47
II.2.2.2. Mode opératoire.....	47
II.2.2.3. Calcule.....	47
III. Méthode d'analyse statistique.....	48
Chapitre II: Résultats et Discussion	
I. Résultats.....	49
I.1. Effet du diabète sur l'humidité des organes et l'évolution du poids corporelle chez les rats.....	49
I.2. Effet du diabète sur des paramètres hémato-biochimiques chez les rats	51
I.3. Etude de la Corrélacion entre la variation de la concentration des protéines (sériques et hépatiques) et la concentration de l'urée chez les rats diabétiques	57
I.4. Effet du diabète sur des paramètres antioxydants.....	59
II. Discussion.....	61
Conclusion.....	66
Résumé.....	67
Références bibliographiques.....	68

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Développement naturelle du diabète de type 1	05
Figure 2	Etiopathogénie du diabète de Type 1	07
Figure 3	Inhibition du signal insuline par phosphorylation sur Ser/Thr des protéines IRS	09
Figure 4	Effets cytotoxiques des acides gras sur la cellule β du pancréas endocrine	10
Figure 5	Anatomie du pancréas	13
Figure 6	La synthèse de l'insuline	15
Figure 7	Structure du gène de l'insuline	15
Figure 8	La structure secondaire du récepteur de l'insuline	16
Figure 9	La biosynthèse et le transport des vésicules sécrétoires dans la cellule β pancréatique	17
Figure10	Sites d'action des antioxydants	19
Figure11	Mécanisme d'action du glutathion	20
Figure12	Mécanisme d'action de glutathion peroxydase	22
Figure13	Réactions des Transaminations	26
Figure14	Cycle de l'urée	27
Figure15	La transcription de l'ADN en ARN	28
Figure16	L'initiation coiffe-dépendante et des mécanismes de contrôle de cette initiation	30
Figure17	Protéinogramme des protéines sériques dans le cas normale	32

Figure18	Centrifugeuse horizontale de type SIGMA	36
Figure19	Bain-marie de type MEMMERT	37
Figure20	Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV-VIS-1240	37
Figure21	PH- mètre de type WTW	38
Figure22	Agitateur de type AREX	38
Figure23	Etuve de type MEMMERT	38
Figure24	Courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines	42
Figure25	Effet de diabète sur l'évolution du poids corporelle chez les rats	50
Figure26	Effet de diabète sur la concentration de Glycémie (g/l) chez les rats	51
Figure27	Effet de diabète sur la concentration des protéines sériques (g/dl) chez les rats	52
Figure28	Effet de diabète sur la concentration des protéines hépatiques (mg/g) chez les rats	53
Figure29	Effet de diabète sur la concentration d'acide urique chez les rats	54
Figure30	Effet de diabète sur la concentration Urée (g/l) chez les rats diabétiques et normaux	55
Figure31	Effet de diabète sur la concentration de hémoglobine chez les rats	56
Figure32	Corrélation entre la variation de concentration des protéines sériques et la concentration de l'urée chez les rats diabétiques	57
Figure33	Corrélation entre la variation de concentration des protéines hépatiques et la concentration de l'urée chez les rats diabétiques	58
Figure34	Effet de diabète sur la concentration de GSH (nM/mg protéine) chez les rats	59
Figure35	Effet de diabète sur la concentration de GPx (mU/g protéines) chez les rats	60

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Composition des aliments	35
Tableau 2	Effet de diabète sur l'humidité des organes (foie, reins, pancréas) chez les rats	49
Tableau 3	Poids initiale (g) et l'évolution du poids corporelle (g) chez les rats diabétiques et normaux	50
Tableau 4	La concentration de Glycémie (g/l) chez les rats diabétiques et normaux	51
Tableau 5	La concentration de Protéine sérique (g/dl) chez les rats diabétiques et normaux	52
Tableau 6	La concentration de Protéine hépatique (mg/g tissus) chez les rats diabétiques et normaux	53
Tableau 7	La concentration de l'acide urique (mg/dl) chez les rats diabétiques et normaux	54
Tableau 8	La concentration de Urée (g/l) chez les rats diabétiques et normaux	55
Tableau 9	La concentration d'hémoglobine chez les rats diabétiques et normaux	56
Tableau10	Coefficients de la corrélation entre les protéines sériques et l'urée chez les rats diabétiques	57
Tableau 11	Coefficients de la corrélation entre les protéines hépatiques et l'urée chez les rats diabétiques	58
Tableau 12	La concentration de GSH (nm/mg protéine) chez les rats diabétiques et normaux	59
Tableau 13	L'activité de glutathion peroxydase (mUI/g protéines) chez les rats diabétiques et normaux	60

Liste des Abréviations

4-AP:	4-aminophenazone.
AGL:	acide gras libre.
AS160:	Protéine substrat de l'Akt.
CoA:	Coenzyme A.
DCPS:	2-4 dichlorophéno sulfonâtes
DO:	Densité Optique.
DT1:	Diabète de type 1.
DT2:	Diabète de type 2.
DTNB:	5-5'-dithiobis2-nitrobenzoïque.
EDTA:	Acide éthylène diamine tétraacétique.
eIF:	Eukaryotic initiation factor.
ERO:	Espèces réactives de l'oxygène.
FAD:	Flavine adénine dinucléotide.
Fig:	Figure.
GABA:	γ amino butiric acid.
GAD:	Glutamate acide décarboxylase.
GLUT-4:	Glucose transporteur 4.
GPx:	Glutathion peroxydase.
GR:	Glutathion réductase.
GSH:	Glutathion.
GSSG:	Glutathion oxide.
GTP:	Guanoside triphosphate.
H₂O₂:	Peroxyde d'hydrogène.
H₃PO₄:	Acide phosphorique.
HGPO:	Test d'hyperglycémie provoquée orale.
HLA:	Human Leukocyte Antigens.
IA2:	Insulinoma Associated protein 2.
ICA:	Islet cell antibody.
IGF-2:	Insulin-like growth factor-2.

Liste des Abréviations

IRS:	Substrat du récepteur de l'insuline.
LB:	Lymphocyte B.
LT:	Lymphocyte T.
MDA:	Malondialdéhyde.
mTOR:	Cible de la rapamycine chez des mammifères.
MVTS:	Microvesicule de type synaptique.
NAD:	Nicotinamide adénine dinucléotide.
NADH:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide.
NADPH:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
NH₂:	Groupement amine.
NH₃:	Ammoniac.
PC1/2:	Prohormone convertase1/2.
PDA ou APP:	La phénylalanine-désaminase.
PDX-1:	Pancreatic duodenal homeobox 1.
PI:	Pro-insuline.
PI-3K:	Phosphatidylinositol-3kinase.
PKC:	Protéines kinases C.
POD:	Peroxydase.
PPI:	Pré-pro-insuline.
R1.2:	Réactif 1.2.
ROS:	Reactive Oxygen Species.
STZ:	Streptozotocine.
TBS:	La solution tampon.
TCA:	Temps de céphaline activée.
TDA:	La tryptophane-désaminase.
TNF-α:	Tumor necrosis factor- α .

Introduction

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique qui touche 5 à 7% de la population mondiale (**Kebieche M., 2009**), il caractérise par une hyperglycémie chronique (**Ayoub M.H., 2011**), que l'on doit soigner, depuis sa découverte, tout au long de la vie. Il s'agit d'une pathologie dont la prévalence ne cesse de croître (**Chaumartin D., 2008**). L'organisation mondiale de la santé (OMS) estimait à plus de 220 millions le nombre de diabétiques dans le monde en 2010. Si aucune mesure n'est prise, il est probable qu'il y en aura plus du double en 2030 (**Ayoub M.H., 2011**). Cette maladie est classée en deux types (1 et 2) selon l'étiologie individuelle de chaque patient. 10 à 15% des diabétiques sont diagnostiqués avec le type 1, et environ 90% sont diabétiques de type 2 (**Ganong W., 2005**). Le diabète est une maladie très dangereuse car une hyperglycémie chronique va entraîner plusieurs complications à long terme, notamment des yeux (rétinopathie diabétique), des reins (néphropathie diabétique), du cœur (coronaropathie) et des vaisseaux sanguins (artériopathie) (**Pochet M., 2009**), et parfois, il s'arriver à l'état de pied diabétique (**Bouysset M., 2004**). A la lumière de la croissance et le développement humaine, Les protéines sont des macromolécules essentielles à la vie (**Lacroix M., 2008**), peut considérer comme les premières en raison de leur fonction biologiques exceptionnelles, et parce qu'elles sont les constituants essentiels du protoplasme, matière de base de la cellule. La simple énumération des fonctions des protéines permet de comprendre leur intérêt. Avant tout, certaines d'entre elles, les enzymes, servent de catalyseurs pour les réactions chimiques qui se produisent dans les êtres vivants, d'autres sont les transporteurs de certaines petites molécules. D'autres encore ont un rôle de soutien, de structure, ou encore un rôle contractile (**Randoux A. et al., 1997**). Aussi elles participent à la communication intra-et intercellulaire qui permet la coordination du métabolisme au niveau de la cellule et entre les différents niveaux de l'organisation hiérarchique des organismes (**Moussard C., 2006**). Chaque protéine se souvient de la fonction qu'elle doit exercer parce que ce rôle est dicté par sa structure qui elle-même dictée par celle d'une autre molécule mémoire qui est l'ARN messager. Au cours du phénomène de synthèse protéique (**Randoux A. et al., 1997**). Des nombreuses études révèlent que le diabète s'accompagne d'un stress oxydant qui favorise le développement de la maladie (**Auberval N., 2010**), de plus, la génération d'espèces radicalaires est importante provoquant des dommages cellulaires (**Benammar C.E., 2011**). Ce stress oxydant est dû à une rupture de l'équilibre physiologique qui existe dans l'organisme entre les molécules oxydantes et les systèmes de défenses antioxydants (**Auberval N., 2010**). Les antioxydants jouent un rôle

majeur dans la protection contre les dommages oxydatifs moléculaire (**Evans J.L., 2007**). Ils peuvent être divisés en antioxydants enzymatiques et les antioxydants non-enzymatiques (piégeurs) (**Badeau M., 2006**) tel que le système glutathion (**Januel C., 2003**), l'équilibre de ce système est maintenu par la glutathion peroxydase et la glutathion réductase (**Morel C., 2007**).

L'objectif de notre travail est le contrôle des troubles métaboliques causées par le diabète en utilisant des outils biochimiques. Un autre objectif fixé également par cette investigation est l'étude de la variation du taux de la synthèse des protéines et le statu antioxydants des cellules sous l'effet du diabète, afin d'évaluer cette variation, le teste de la glycémie, de la protéinémie, urémie, uricémie et le teste d'activité de système glutathion ont été analysés au cours du diabète expérimentale induit par l'Alloxane chez les rats.

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Le diabète et le stress oxydatif

I. Généralité sur le diabète

I.1. Historique

Le diabète a été décrit pour la première fois dans des textes de l'Égypte ancienne, il y a plus de 3500 ans, comme l'existence d'urines très abondantes. Un document turc vieux d'environ 2000 ans rapporte la soif extrême et le volume urinaire très important des personnes ayant un diabète (**Brink S.J. et al., 2011**).

Le mot diabète remonte à la civilisation grecque, particulièrement à Aretarus qui donne le mot diabète qui signifie « passer à travers ». Les médecins de cette époque pensaient qu'il existait un conduit entre le tube digestif et la vessie, ce qui pouvait expliquer que les diabétiques buvaient et urinaient tant. Les médecins hindous avaient noté deux types de maladie avec des urines sucrées, l'une chez le jeune enfant qui était rapidement mortelle chez l'adulte obèse qui était plus lentement mortelle. Le nom de diabète mellitus remonte au 16^{ème} ou 17^{ème} siècle lorsque le Dr Thomas Willis, médecin personnel du roi Charles II d'Angleterre, décrivit que l'urine diabétique « était merveilleusement sucrée » comme si elle était imprainée de miel ou de sucre et à ce moment il ajouta le nom de "diabète mellitus" à l'opposée du diabète salé compatible avec la maladie du diabète insipide qui apporte une grande quantité d'urine plutôt salée (**Tazairt C.B., 2002**).

L'hyperglycémie dans le diabète sucré fut découverte par Ambrosiani 1835 (**Potemkine V., 1989**).

En 1869, Paul Langerhans a démontré que le pancréas contient des cellules autres que celles qui sécrètent le suc pancréatique, de fonction inconnue et auxquelles il a donné son nom. Le rôle endocrinien des îlots de Langerhans fut signalé pour la première fois par Qulezko-Stroganova 1881. En 1900, le Russe Stobolev et l'Américain Opie ont confirmé que le diabète sucré est provoqué par la destruction des îlots de Langerhans (**Brink S.J. et al., 2011**).

En 1889-1900 Sobolev du laboratoire de Pavlov, lorsque la partie exocrine du pancréas était absolument atrophiée à la suite de la ligature de son canal excréteur le diabète sucré ne se manifestait pas. Sobolev aboutit donc à la conclusion que la ligature du canal excréteur du pancréas permettrait à l'avenir d'obtenir à partir des îlots de Langerhans un moyen de régulation du métabolisme glucidique (**Potemkine V., 1989**).

I.2. Définition de diabète

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme des glucides des lipides et des protéines entraînant une hyperglycémie chronique (**Grimaldi A., 2001**) résultant d'une carence absolue ou relative en insuline, ou de facteurs empêchant l'activité normale de cette hormone (**Duron F., 2006**) c'est-à-dire un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (**Drouin P. et al., 1999**). Selon l'OMS le diabète sucré se définit comme un état d'hyperglycémie permanente avec une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/l (7mmol) (**Guillausseau P.J., 2003**) à 2 reprises (seuil apparition microangiopathie: rétinopathie) et/ou supérieure à 2 g/l (11,1mmol/l) à n'importe quel moment de la journée (**Garabedian C.H. et al., 2010**).

I.3. Classification

Il existe deux principales formes cliniques de diabète correspondant à deux mécanismes pathogéniques différents: le diabète insulino-dépendant ou diabète de type 1 et le diabète non insulino-dépendant ou diabète de type 2 (**Bouldjadj R., 2009**).

I.3.1. Diabète de Type 1 (Insulino-dépendant DID)

I.3.1.1. Définition

L'insuffisance insulinique conduisant au diabète de type 1 (**Hennen G., 2010**) synonyme diabète juvénile, diabète maigre, diabète insulino-dépendant (**Moussard C., 2006**), elle est une maladie auto-immune polygénique chronique qui agit sélectivement contre les cellules β du pancréas produisant de l'insuline (**Woo M., 2004**), la destruction de ces cellules conduisant généralement à une insulino-pénie totale (l'hyperglycémie devient cliniquement manifeste quand 80% à 90% des cellules β sont atteintes) (**Moussard C., 2006**) conduisant à une baisse de la tolérance au glucose (**Rodriguez L.I., 2011**). Ce diabète représente 5 à 10% de tous les diabètes diagnostiqués (**Andaloussi A.B., 2009**). Bien qu'il puisse survenir à n'importe quel âge, le diabète de type 1 se développe bien souvent pendant l'enfance ou l'adolescence et est le type prédominant de diabète avant 30ans (**Beers M., Berkow R., 1999**).

I.3.1.2. Origine de diabète type 1

On distingue le DT 1 en deux sous types, auto-immun et le DT1 idiopathique (**Tournant F. et al., 1998**)

✓ **Le diabète de type 1 auto-immun:** Au cours duquel la destruction des cellules β par un processus auto-immun est authentifiée par la présence d'anticorps anticellules d'îlots, anti-insuline, anti-glutamate décarboxylase (GAD), anti-tyrosine phosphatase IA-2 et IA-2 B.

Cette forme est fortement associée aux gènes DQA et DQB du système HLA et influencée par les gènes DRB (**Drouin. et al., 1999**).

✓ **Le diabète de type 1 idiopathique:** Correspond à une minorité de sujets. Certains présentent une insulino-pénie permanente avec céto-acidose d'origine inconnue, cette forme à forte composante héréditaire est plus fréquente chez les sujets d'origine africaine ou asiatique. Chez les Africains, une forme voisine se caractérise par une céto-acidose révélatrice après laquelle l'insulinothérapie n'est pas indispensable (**Drouin. et al., 1999**). La maladie se présente en 3 phases (**Bouhours N.N., Coutant R., 2005**)

1. Une phase de latence caractérisée par les prédispositions génétiques.
2. Une phase préclinique silencieuse comprenant l'atteinte auto-immune responsable de l'insulte suivie de la phase de pré-diabète où la glycémie à jeûn est encore préservée mais la glycémie après charge en glucose est pathologique du fait d'une sécrétion d'insuline diminuée mais encore équivalente à 20 % de la sécrétion normale.
3. La phase clinique de diabète avec l'état d'hyperglycémie par carence en insuline, moins de 10-15 % des cellules bêta sont fonctionnelles.

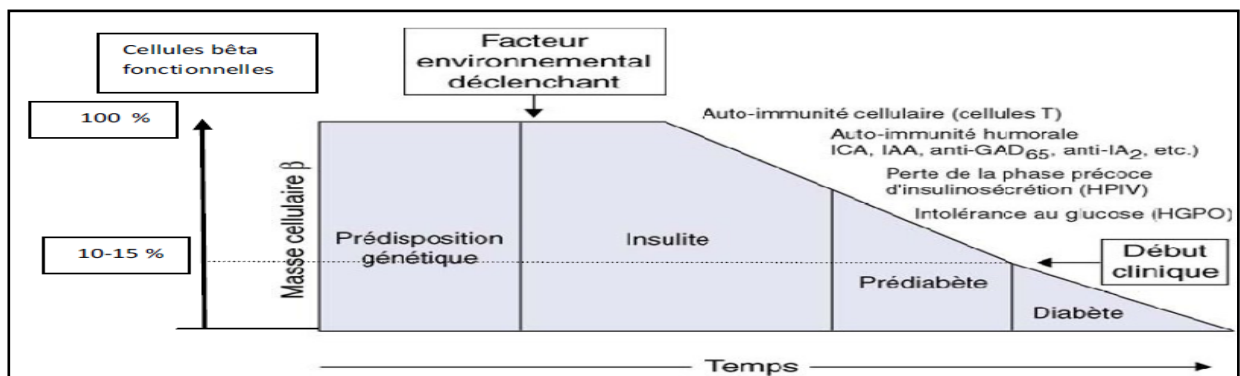


Fig01: Développement naturel du diabète de type 1 (**Bouhours N.N., Coutant R., 2005**).

I.3.1.3. Physiopathologie

Le développement du diabète de type 1 est le résultat de l'interaction synergique de différents facteurs génétiques, environnementaux et immunologiques, dont l'aboutissement est la destruction des cellules β pancréatiques (**Conceicao F.S., 2010**).

I.3.1.3.1. Facteurs génétiques

Plus de 20 régions différentes du génome humain représentent une certaine liaison avec le diabète de type 1 telles que le gène qui situe sur le chromosome 6p21 (50% du risque génétique global) ou du système HLA de classe II avec un risque relatif de 3 à 5%, Le risque relatif atteint 20 à 40% lorsque les deux antigènes DR3 et DR4 sont associés, ce qui veut dire que l'association DR3-DR4 est fréquente dans la population diabétique alors qu'elle est

exceptionnelle dans la population non-diabétique (**Grimaldi A., 2000; Redouane S.A., 2011**).

Le 2^{ème} gène repéré se situe dans la région du gène de l'insuline sur le chromosome 11p15 (gène appelé maintenant DSID2) (**Redouane S.A., 2011**). Il contribue au risque de diabète de type 1 pour près de 10%, L'autres régions du génome sont impliquées (**Bourgeois M., 2003**).

I.3.1.3.2. Facteurs auto-immuns

Le diabète de type 1 est lié à la destruction auto-immune de ces cellules bêta (**Bouhours N.N., Coutant R., 2005**) se déroule pendant plusieurs années. Pendant la phase de pré-diabète, il n'y a pas de réduction suffisante de la masse des cellules à insuline pour que la glycémie monte. Il est donc totalement asymptomatique mais des auto-anticorps sont détectables (**Duron F., 2006**). Ces auto-anticorps sont essentiellement au nombre de 4:

1. Les anticorps anti-îlots (islet cell antibody: ICA), présents dans 90% des cas au moment du diagnostic clinique, réaction auto-immune a été démontré chez l'homme que la susceptibilité génétique était liée à l'absence d'un seul acide aminé (acide aspartique) en position 57 de la chaîne β de la molécule DQ du système HLA de classe II (**Gottsater A. et al., 1994**).
2. Les auto-anticorps anti-insuline, retrouvés dans 30 à 60 % des cas au moment du diagnostic (**Grimaldi A., 2000**).
3. Les anticorps anti-IA2 (Insulinoma Associated protein 2) sont dirigés contre une phosphatase membranaire des cellules β (**Grimaldi A., 2000**).
4. Les anticorps anti-GAD (glutamate acide décarboxylase), Ces anticorps sont dirigés contre une enzyme ubiquitaire responsable de la synthèse du GABA, mais qui est exprimée au niveau pancréatique. Ils sont présents très tôt dans le pré-diabète (**Grimaldi A., 2000**).

➤ La Mécanismes de Destruction de La Cellule β

Les îlots de Langerhans sont infiltrés par les cellules mononuclées donnant le statut d'insulite où on trouve le lymphocyte T CD8 avec lesquels coexistent des lymphocyte T CD4 (**Bouhours N.N., Coutant R., 2005**), qui reconnaissent l'antigène présenté par des cellules présentatrices. Cette reconnaissance provoque son activation et déclenche la réaction auto-immune par le biais de la production de cytokines (**Rodier M., 2001**). L'effet cytotoxique induit aboutit le processus de destruction implique essentiellement l'immunité à médiation cellulaire (de type Th1) et pourrait passer, entre autres, par des mécanismes d'apoptose (**Bouhours N.N., Coutant R., 2005**), et l'activation des lymphocytes B déclenche la production des auto-anticorps anti-cellules β (**Rodier M., 2001**).

I.3.1.3.3. Facteurs d'environnement et de nutrition

Dans les pays scandinaves, des diabètes de type 1 ont été rapportés plus fréquemment chez des patients ayant consommé de grandes quantités de viandes fumées. Le rôle toxique des nitrosamines a été avancé. On a aussi mentionné une prévalence plus élevée de diabète type 1 chez des sujets ayant consommé de lait de vache dans les premiers de la vie par rapport à des "témoins" nourris au lait maternel. Au moment du diagnostic, d'anticorps anti-albumine bovine a également fait suspecter un rôle toxique de protéines du lait de vache. On sait aujourd'hui que c'est une séquence d'acides aminés de l'albumine bovine qui est considérée comme immunogène car présentant des analogies de structure avec certaines protéines des cellules β . Le gluten a été considéré comme facteur déclenchant d'une réaction immunitaire ciblant, outre la muqueuse intestinale, les cellules β et d'autres organes endocrines comme la thyroïde. Cette approche n'a cependant pas été confirmée (Buyschaert M., 2006).

I.3.1.4. Diagnostic et Symptômes du diabète de type 1

Dans 60 à 75 % des cas, le diagnostic de diabète est posé devant le syndrome cardinal, il y a quelques symptômes, comme l'augmentation du volume et de la fréquence des urines, une soif intense (Polydipsie) (Poirier N., 2007), Perte de poids par l'absence d'absorption des carbohydrates (éliminés par voie urinaire) et par la lipolyse et le catabolisme musculaire (du fait de l'insulinopénie) (Bouhours N.N., Coutant R., 2005), accompagnée d'un état de conscience.

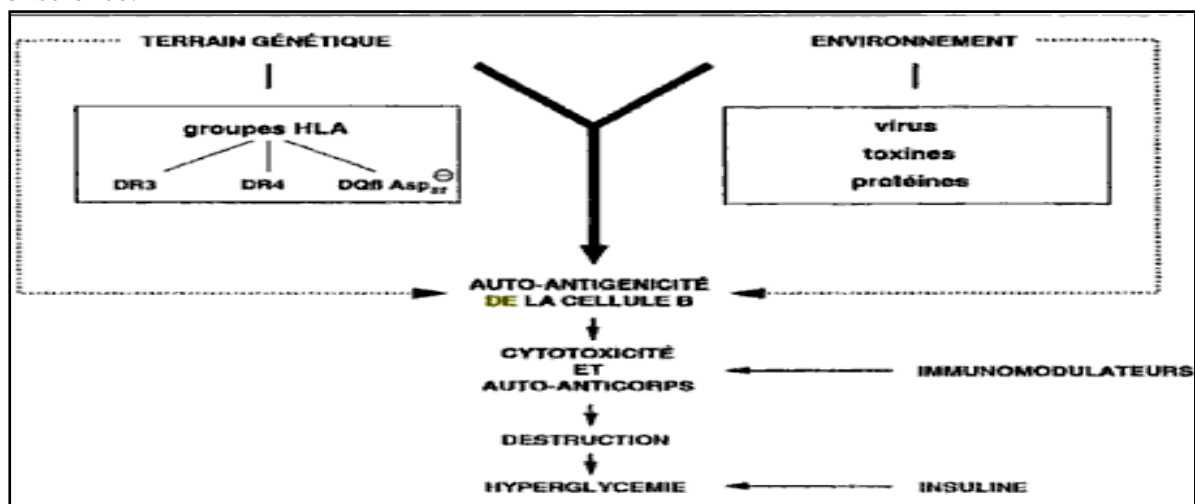


Fig02: Etiopathologie du diabète de type 1 (Buyschaer M., 2006).

I.3.1.5. Traitement

La prise en charge thérapeutique associe une alimentation adaptée à un traitement hypoglycémiant pour assurer un équilibre nutritionnel correct, et éviter les variations de la glycémie. Ainsi, les glucides doivent représenter 50% des apports caloriques, les lipides 35% et les protéines 15%. Les habitudes alimentaires seront modifiées progressivement. Les

apports caloriques doivent être fonction des objectifs pondéraux souhaités et la régularité des horaires de repas est un facteur important d'équilibre glycémique. Le patient peut réellement manger de tout, c'est uniquement une question de fréquence et de quantité (**Weber M.N., 2010**). Ce traitement nécessite plusieurs injections quotidiennes d'insuline car l'hormone étant dégradée dans l'estomac, elle ne peut pas être prise par voie orale. Le malade apprend à adapter les doses qu'il s'administre en fonction de son alimentation d'une part, de son activité Physique d'autre part (**Cornet M., 2009**).

I.3.2. Diabète de type 2

I.3.2.1. Définition

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique, définie par une hyperglycémie chronique (**Farret A., 2010**). Il est issu d'une insulino-résistance (défaut d'action de l'insuline sur ses organes cibles) et d'un endommagement progressif des cellules β pancréatiques (défaut d'insulino-sécrétion) (**Cleypssac E., 2011**). Le diabète de type 2 se caractérise typiquement par la découverte fortuite d'une hyperglycémie chez un sujet de plus de 40 ans (**Grimaldi A., 2000**), et est de loin la forme de la maladie la plus fréquente puisqu'elle présente 90% des cas mondiaux (**Bouldjadj R., 2009**).

I.3.2.2. Physiopathologie

Le diabète de type 2 est une maladie caractérisée par deux types d'anomalies: des altérations de l'insulinosécrétion (insulino-déficience) et des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles (insulino-résistance) (**Grimaldi A., 2000**).

I.3.2.2.1. L'insulino-résistance

I.3.2.2.1.1. Définition

Est une réponse biologique *in vivo* à l'insuline expliquée par une sécrétion réduite ou par son action défectueuse (**Buyschaert M. et al., 1999**). Il s'agit essentiellement des tissus musculaire et hépatique (**Duron F., 2006**). Elle est détectable 10 à 20 ans avant le diagnostic, même en l'absence d'obésité (**Lillioja S.D. et al., 1988**), et à des origines métabolique et génétique, les facteurs qui induisent l'insulino-résistance dans le diabète et l'obésité sont essentiellement la glucotoxicité et la lipotoxicité (**Lacolley P., 2007**). Sur le plan métabolique, l'insulino-résistance est secondaire à l'excès de graisses au niveau des muscles et du tissu adipeux viscéral (**Grimaldi A., 2000**). Ces acides gras favoriseraient l'insulino-résistance au niveau hépatique par une diminution de la clairance de l'insuline. Ils stimuleraient aussi la néoglucogénèse et inhiberaient la glycogénolyses (**Raccah D. et al., 1999**). Au niveau musculaire, il existe une véritable compétition entre les acides gras libres et le glucose pour être oxydé: les acides gras libres sont oxydés en priorité, entraînant une

production accrue d'acetyl CoA qui inhibe en retour les enzymes de la glycolyse (Attia M., 2008). L'énergie musculaire est donc fournie en priorité par l'oxydation des acides gras libres et le stock de glycogène musculaire reste intact, ce qui réprime en retour la glycogène synthase (Duron F., 2006).

I.3.2.2.1.2. Mécanisme

L'insulino-résistance peut être due à des anomalies situées en amont ou mieux, en aval des récepteurs tissulaires à l'insuline (Buysschaert M., 2006), sont également endommagés par les effets de cytokines libérées par les adipocytes (Medart J., 2009). L'excès de tissu adipeux, notamment viscéral, est responsable d'une augmentation de la sécrétion d'adipocytokines (Astrid P.M., Hebuterne X., 2007), pro-inflammatoires, en particulier de TNF- α et d'interleukine 6. Celles-ci vont bloquer dans le muscle la voie de signalisation intercellulaire de l'insuline au niveau post-récepteur, notamment son substrat (protéine IRS) qui sert d'intermédiaire entre le récepteur et les autres acteurs de signalisation dont la PI-3K (phosphatidylinositol-3kinase) (Buysschaert M., 2006). Tous les agents qui sont responsables de résistance à l'insuline (les acides gras libres, le diacylglycérol, les acyl-CoA et le glucose, mais également des cytokines inflammatoires comme le TNF- α (tumor necrosis factor α), ou l'IL (interleukine) 1 β , et même l'insuline) (Capeau J., 2003) sont conduits à l'activation de la protéine kinase C, qui stimule la phosphorylation de l'IRS-1 sur des résidus sérine et/ou thréonine, ce qui diminue la liaison de l'IRS-1 avec les tyrosines phosphorylées des sous-unités β des récepteurs et inhibe ainsi le signal insulinaire (Cleypssac E., 2011). Le TNF- α réduit également la phosphorylation de l'Akt (Protéine kinase), ce qui cause une réduction de la phosphorylation de l'AS160 et de la capture du glucose stimulée par l'insuline dans le tissu musculaire (Constantine S.M. *et al.*, 2008), ce qui diminue la stimulation de la PI-3K, d'où une diminution de la vitesse de fusion des vésicules contenant GLUT-4 avec la membrane plasmique (Voet D., Voet J.G., 2005).

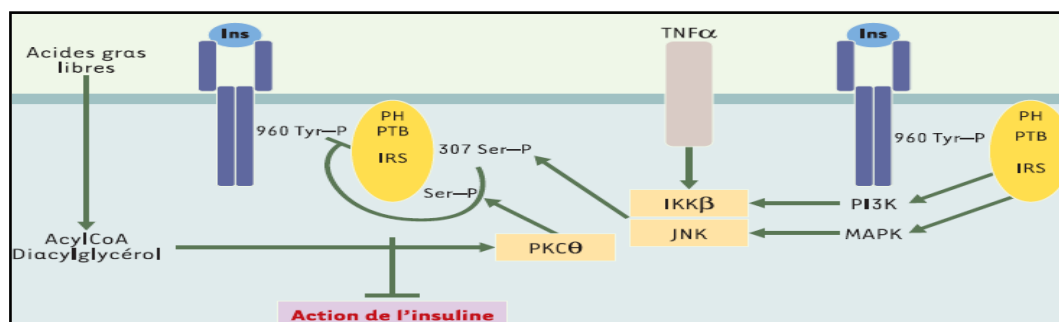


Fig03: Inhibition du signal insuline par phosphorylation sur Ser/Thr des protéines IRS (Capeau J., 2003).

I.3.2.2.2. L'insulinodéficience

Les anomalies de l'insulinosécrétion s'expriment par des altérations fonctionnelles de la cellule β , en particulier une perte de la première et un retard de la seconde phase de sécrétion d'insuline en réponse à une stimulation glucosée, ainsi que par un défaut de pulsatilité de la sécrétion de l'insuline (Buyschaert M., 2006).

I.3.2.2.3. L'effet de l'Augmentation de Glucose et l'Acide Gras

Cependant les phénomènes de toxicité sont liés essentiellement aux acides gras libres (non estérifiés) hydrolysés à partir des triglycérides ou provenant du plasma et aux produits qui en dérivent, tels que les céramides et les diacylglycérols (Fève B., Ferré P., 2008), qui seront transportés aux tissus, tels que le muscle squelettique et le foie. Dans ces organes, un défaut d'oxydation des acides gras va conduire à un stockage ectopique des triglycérides, ce qui aura des effets délétères sur le métabolisme cellulaire. À titre d'exemple, une accumulation intracellulaire de triglycérides peut inhiber la voie de signalisation de l'insuline (Cleypac E., 2011).

La glucotoxicité découle de l'accumulation dans les cellule de produits dérivés directement ou indirectement du glucose (Moussard C., 2006). Elle est en partie responsable des altérations de la sécrétion d'insuline dans la cellule β -pancréatique (Dubois M., Kerr C.J., 2004). Le glucose par lui-même conduit à une glucotoxicité au niveau des cellules par différentes voies: la voie des polyols, la déplétion en myoinositol, la glycation protéique, un défaut en héparine sulfate, la voie de la protéine kinase C, une action sur l'expression génique et le stress oxydatif (Leibowitz G. *et al.*, 2001). L'effet toxique synergique de l'hyperglycémie et de l'hyperlipidémie chroniques combinées est appelé la « glucolipotoxicité». C'est une cause majeure de dysfonction et de lésion des cellules bêta, ainsi que la cause fréquente de mortalité chez les patients atteints de DT2 (Wang Q., 2008).

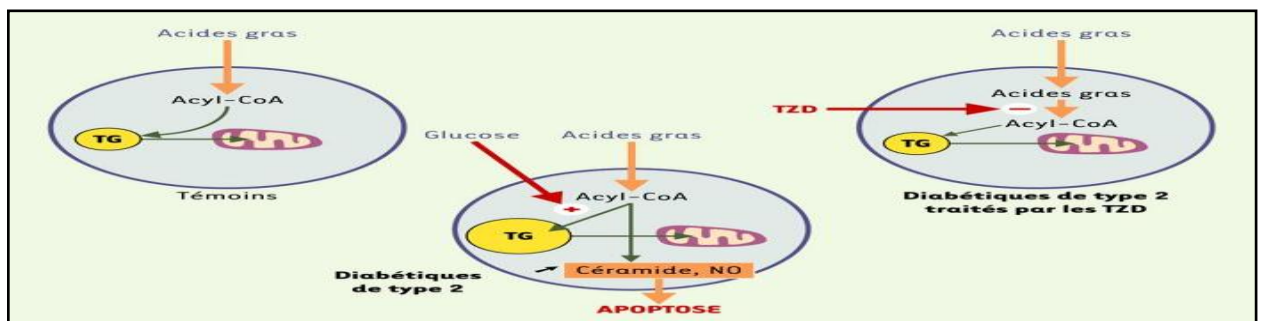


Fig04: Effets cytotoxiques des acides gras sur la cellule β du pancréas endocrine (Girard J., 2003).

I.3.2.3. Etiologie du diabète sucré de type 2

L'étiologie du diabète de type 2 a surtout été étudiée chez l'homme en raison de son expansion croissante. Cette forme de diabète est hétérogène, et la clinique montre qu'il existe de nombreux facteurs prédisposants (hérédité, obésité, âge) (**Rigalleau V. et al., 2007**).

➤ L'hérédité

L'historique familial a permis de mettre en exergue le caractère héréditaire du diabète de type 2 (**Rochiccoli P. et al., 2001**). En effet, la majorité des patients ont un parent au premier degré atteint de la maladie et ce risque « héréditaire » augmente avec le nombre de parents affectés. De plus, des études chez des jumeaux monozygotes ont montré une concordance proche de 100%, ce qui conforte l'aspect génétique de la maladie (**Klein F., 2009**). Le diabète de type MODY (ou diabète de maturité survenant chez le jeune) est une forme particulière de diabète de type 2, génétiquement hétérogène et ne touche que 5% de l'ensemble des diabétiques de type 2. Il pourrait être lié au locus du chromosome 20 dans quelques familles (**Arbouche L.Z., 2007**). Les diabétiques de ce type ne possèdent pas le génotype HLA-DR4, il existe un facteur génétique évident: 90 à 100% des jumeaux vrais souffrent de l'affection. L'hérédité est considérée comme polygénique (**Stevens A., Lowe J., 1997**).

➤ L'obésité

Est un facteur majeur du DT2, due à une augmentation des apports caloriques et une sédentarité accrue qui s'explique par l'insulinorésistance. En effet, les acides gras libres ont des effets délétères sur la sensibilité à l'insuline (**Benammar E., 2009**) qui résulte de surpoids, surtout si répartition abdominale de la graisse ou si associé à l'inactivité physique (**Simon D., 2008**).

➤ L'âge

Chez l'homme, le diabète de type 2 survient le plus souvent ≥ 45 ans (**Simon D., 2008**).

I.3.2.4. Le diagnostic

Jusqu'en 2006, selon les critères de l'Organisation Mondiale de la Santé, le diabète se définissait par une glycémie à jeun supérieure à 7,8 mmol/l de plasma veineux à deux reprises et à 11 mmol/l deux heures après ingestion orale de 75 grammes de glucose (**Mlange G., 2004**), (test d'hyperglycémie provoquée orale (HGPO)] $\geq 2,00$ g/l (11,1 mmol/l). D'autres examens biochimiques pourront être mis en œuvre au moment du diagnostic: glycosurie, dosage de l'insuline et du peptide-c (**Vaubourdolle M., 2007**), on estime que la sécrétion pancréatique d'insuline est réduite de près de 50 %. Par la suite, plusieurs études ont montré une détérioration graduelle du contrôle glycémique avec le temps avec ou sans agent antidiabétique oral (**Garneau A., 2009**).

I.4. Anatomie et fonction de pancréas

I.4.1. Définition de pancréas

Le pancréas est une glande abdominale allongée de bas en haut, de droite à gauche, annexée au tube digestif, appartenant à la cavité péritonéale située derrière l'estomac (**Papin J., 2009**), généralement au niveau de la première et de la deuxième lombaire, et occupe l'espace entre le duodénum et le hile splénique (**Potemkine V., 1989**). Le pancréas est une glande mixte exocrine et endocrine (**Giraud N. et al ., 2010**). Chez l'Homme, avoisine les 15 cm de long pour une masse allant de 70 à 80 g (**Leger L., 1978**). C'est la deuxième glande la plus grosse en volume après le foie. Il se forme à partir de l'endoblaste, il se développe par bourgeonnements (l'un ventral et l'autre dorsal) sur l'intestin primitif antérieur sous l'ébauche hépatique (**Papin J., 2009**).

I.4.2. Anatomie de pancréas

Le pancréas une glande digestive accessoire allongée traverse transversalement la paroi abdominale postérieure dans le plan rétropéritonéal, situé derrière l'estomac, le pancréas s'étend depuis le duodénum du côté droit jusqu'à la rate du côté gauche. Le mésocolon transverse se fixe sur son bord antérieur (**Moore K.L., Dalley A.F., 2001**). Son extrémité gauche débordant dans l'hypo-chondre. Il est presque entièrement rétro-péritonéal, à l'exception de la queue. A l'extrémité droite, volumineuse-la tête-fait suite le col, puis le corps allongé, s'effilant en queue. Tête et col se moultent sur la convexité du rachis et gros vaisseaux, corps et queue, se portant en arrière et à gauche, reposent sur la paroi lombaire (**Leger L., 1978**).

On distingue dans le pancréas quatre parties : la tête, le corps, le col, et la queue.

- ✓ La tête traverse par le cholédoque, solidaire de l'anneau duodénale, la tête présente à son extrémité inféro-gauche un prolongement, le crochet qui est développé en arrière de la veine mésentérique supérieure (**Leger L., 1978**).
- ✓ Le corps ,c'est la partie centrale et allongée de la glande, au devant de la colonne vertébrale et présente, près de la tête, la tubérosité épiploïque (**Ebert U.B. et al ., 2008**). La face postérieure est attenante au tissu cellulaire rétropéritonéal, au pôle supérieur du rein gauche et à la surrénale (**Potemkine V., 1989**).
- ✓ Le col, son bord inférieur est sous-croisé par les vaisseaux mésentériques. Sa face postérieure recouvre l'origine du tronc porte, formé par confluence de la veine mésentérique supérieure et du tronc spléno mèsaraique (**Leger L., 1978**).

✓ La queue constitue le seul segment intra- péritonéal de l'organe, contenu dans l'épiploon pancréatico-splénique. Arrivant au contact de la rate, la queue peut y marquer son empreinte (Leger L., 1978).

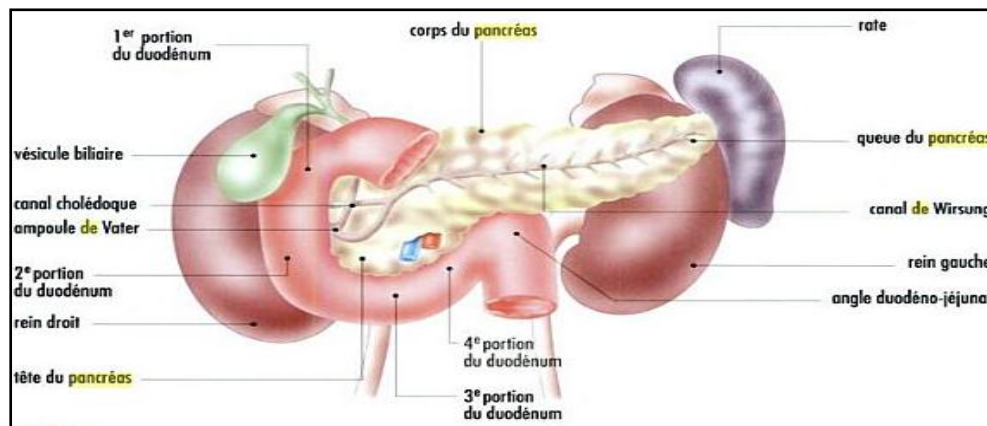


Fig05: Anatomie du pancréas (Lacombe M., 2006).

I.4.3. Fonctions de pancréas

I.4.3.1. Fonction exocrine

Le pancréas exocrine est la partie glandulaire acineuse du pancréas et comporte donc les acini pancréatiques et les canaux excréteurs (Papin J., 2009), caractérisé par la sécrétion de suc pancréatique, ce dernier contient des électrolytes et les enzymes (Thiebault C.M., Sprumont P., 2005), nécessaires à la digestion des lipides (les lipases), des glucides (les amylases) et les protéines (les peptidases et les estérases) (Karaa A., Labayle D., 2008).

I.4.3.2. Fonction endocrine

Cette fonction est assurée par les îlots de Langerhans (α , β , δ , pp) à partir ces hormones respectivement (glucagon, insuline, somatostatine, polypeptides)(Wheater P.R .et al., 2001).

Ces hormones offrent les fonctions suivant(Giraud N. et al., 2010):

- ✓ Le glucagon est un hormone hyperglycémiant agit préférentiellement sur le foie.
- ✓ L'insuline a un effet global hypoglycémiant, agit principalement sur le muscle, le tissu adipeux et le foie.
- ✓ La somatostatine est une hormone globalement inhibitrice. Elle inhibe à la fois la sécrétion de glucagon et la sécrétion d'insuline.
- ✓ La polypeptide est une hormone linéaire de 36 acide aminés qui elle est diminuée par la somatostatine et par une infusion de glucose (Ganong W., 2005).

I.5. L'insuline

I.5.1. Définition

L'insuline est une hormone formée dans les îlots de Langerhans. Certain nombre d'études récentes suggèrent que des neurones particuliers, situés dans l'hypothalamus, ont également la capacité d'exprimer le gène et de synthétiser l'hormone (**Magnan C., Ktorza A., 2005**). Elle permet au glucose d'entrer dans les cellules et de leur fournir l'énergie dont elles ont besoin. Elle joue un rôle majeur dans le mécanisme du diabète. Quand le niveau de glucose est élevé dans le sang, les cellules du pancréas sécrètent de l'insuline (**Fagherazzi G., 2011**). Il joue un rôle anabolique majeur dans la mise en réserve des substrats glucidiques et lipidiques. Ses effets résultent de sa liaison à un récepteur membranaire spécifique exprimé en priorité sur ses trois tissus cibles (le foie, le muscle et le tissu adipeux) (**Capeau J., 2003**).

I.5.2. La structure

L'insuline est un petit polypeptide de 51 acides aminés d'environ 6 kDa (**De Meyts P., 2004**), composé de deux chaînes polypeptidiques, la chaîne α comporte 21 acides aminés et la chaîne β comporte 30, reliées entre elles par deux ponts disulfures. Un pont disulfure intracaténaire relie les acides aminés 6 et 11 de la chaîne α (**Magnan C., Ktorza A., 2005**). L'insuline est formée à partir d'un précurseur, la pro-insuline, sous l'effet des protéases. La pro insuline est un polypeptide monocaténaire. Sa molécule comprend plus de 80 acides aminés. La pro-insuline représente la molécule d'insuline (fermée) par un peptide qui assure la liaison entre le carboxyle terminal de la chaîne β de l'insuline et la fonction amine terminale de la chaîne α . Ce peptide dit peptide C, rend la molécule d'insuline biologiquement inactive. Sous l'effet des enzymes protéolytiques, le peptide C se détache de la molécule d'insuline, ce qui fait que la molécule de pro-insuline scinde en molécule d'insuline et en peptide C. Ce dernier est formés de 27-33 acide aminés. Sa masse moléculaire est de 3000(**Potemkine V., 1989**).

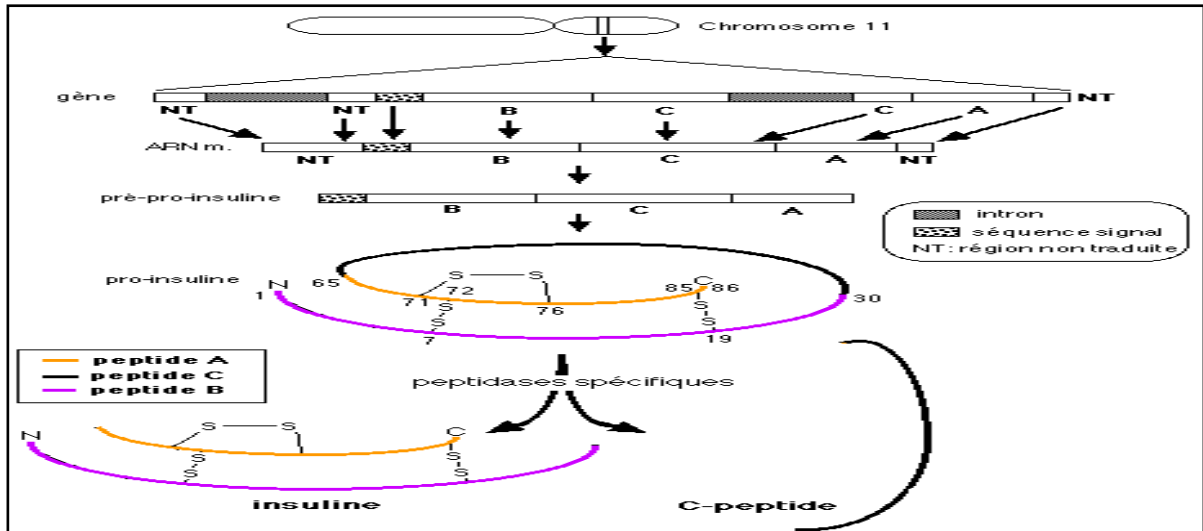


Fig 06: La synthèse de l'insuline (Riant E., 2009).

I.5.3. Structure du gène de l'insuline

Le gène de l'insuline humaine est situé sur le bras court du chromosome 11, à proximité du gène de (IGF-2). Ce gène contrôle la synthèse d'un précurseur de haut poids moléculaire, la pré-pro-insuline. Il est long de 1355 paires de bases et sa région codante comporte trois exons séparés de deux introns (région non transcrites), qui comportent respectivement 179 et 786 paires de bases. Le premier exon, long de 42 paires de bases, contrôle la synthèse du peptide signal. Le deuxième exon (187 paires de bases) code pour la chaîne β de l'insuline et une partie du peptide connecteur, le troisième exon dont la taille est de 220 paires de bases, code pour la chaîne B et le reste du peptide connecteur (Magnan C., Ktorza A., 2005).

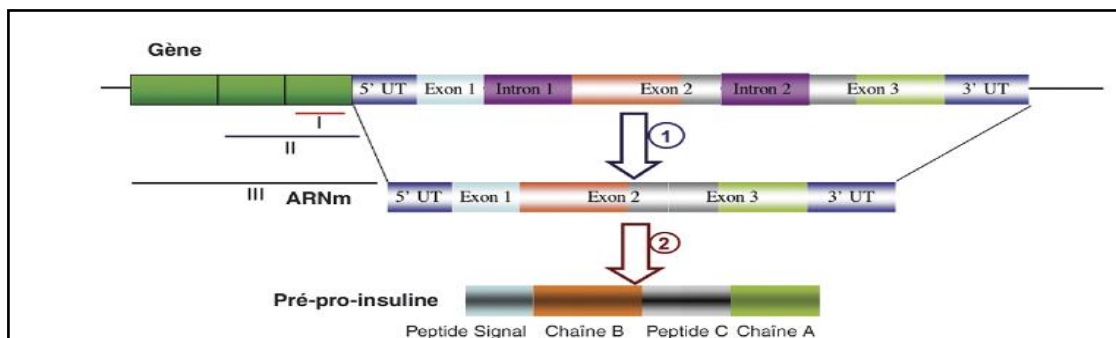


Fig07: Structure du gène de l'insuline (Magnan C., Ktorza A., 2005).

I.5.4. Récepteur de l'insuline

L'action d'insuline est médiée par un récepteur, décrit pour la première fois par Freychet et isolé par Cuatrecasa (Cuatrecasa P., 1971; Freychet P. *et al.*, 1971). Ce récepteur est une glycoprotéine transmembranaire appartient à la famille de récepteurs à activité tyrosine kinase (Freychet P., 1990), il est exprimé sur presque tous les types cellulaires des vertébrés (Kahn

C.R., Folli F., 1993). Le gène codant ce récepteur est situé sur le chromosome 19 chez l'humain (Gaudreault N., 1999). Dans sa configuration naturelle à l'état non activé, le récepteur de l'insuline se présente sous la forme d'un hétérodimère constitué de deux sous-unités β et de deux sous-unités α , liées de façon covalente par des ponts disulfures (De Meyts P., 2005). Les sous-unités α sont entièrement extracellulaires et contiennent les domaines de liaison de l'insuline. Les sous-unités β sont constituées par un domaine extracellulaire, une région transmembranaire et une partie intracellulaire (Dorrestijn J. *et al.*, 1998).

L'activation du récepteur va entraîner la liaison de l'ATP sur son site consensus et le dépliage de la boucle régulatrice qui occluait le site catalytique à activité tyrosine kinase. Il y aura donc transphosphorylation des sous-unités β sur des résidus tyrosine, c'est-à-dire activation du domaine tyrosine kinase. Cette activation va permettre la phosphorylation d'autres tyrosines présentes sur les chaînes β et l'autophosphorylation du récepteur ou d'autres protéines substrats (Cleypssac E., 2011).

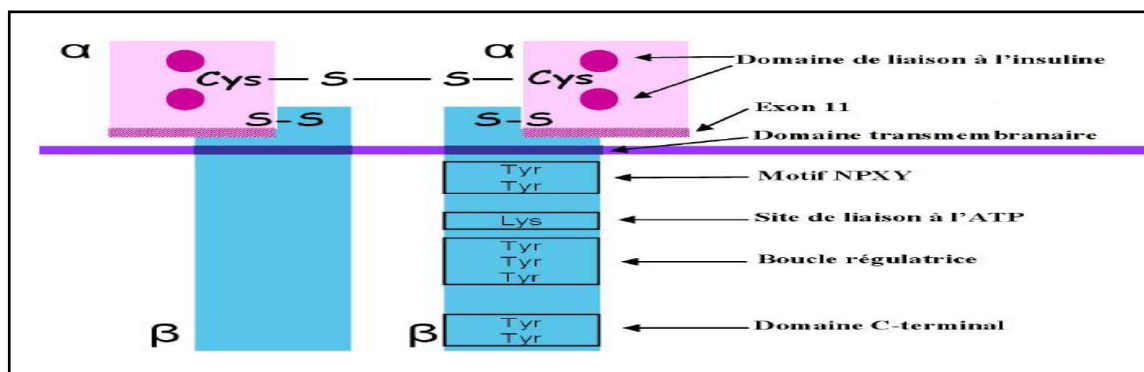


Fig08: Structure secondaire du récepteur de l'insuline (Riant E., 2009).

I.5.5. Les étapes de la synthèse de l'insuline

1. Le gène de la prépro-insuline (PPI) est sous la dépendance de nombreux facteurs de transcription comme PDX-1. L'ARNm est traduit dans le réticulum endoplasmique rugueux et la prépro-insuline est aussitôt clivée en pro-insuline (PI) (Melloul D. *et al.*, 2002).
2. La maturation de pro-insuline se fait à travers l'appareil de Golgi (Wang Y. *et al.*, 2000).
3. Dans le réseau trans de l'appareil de Golgi, les vésicules immatures couvertes de clathrine sont formées (Huang X.F., Arvan P., 1995).
4. La maturation des vésicules de sécrétion implique la perte du manteau de clathrine et la coupure par les enzymes prohormone-convertase (PC2 et PC1/3) de la pro-insuline en insuline (I) et peptide C (Monterrat C., 2004).
5. Les vésicules sécrétoires matures peuvent alors se diriger vers la voie de sécrétion Constitutive (Monterrat C., 2004).

6. Dans la voie régulée leur contenu sera libéré par une stimulation calcique (**Montserrat C., 2004**).
7. Après l'exocytose les vésicules sont endocytées (**Montserrat C., 2004**).
8. Puis recyclées vers l'appareil de Golgi via le compartiment endosomal (**Montserrat C., 2004**).
9. Les micros vésicules de type synaptique (MVTs), plus petites que les vésicules sécrétoires, ont un cycle d'exocytose-endocytose indépendant de l'appareil de Golgi (**Badeau M., 2006**).

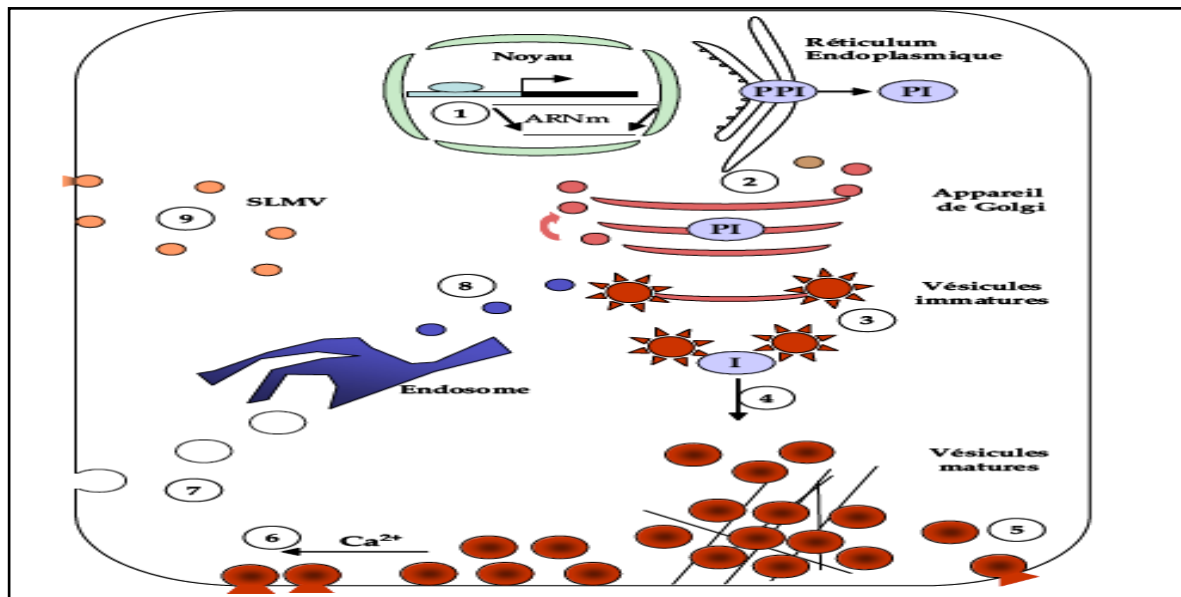


Fig09: Biosynthèse et transport des vésicules sécrétoires dans la cellule β Pancréatique (**Montserrat C., 2004**).

I.5.6. Rôle de l'insuline dans la régulation du métabolisme cellulaire

L'insuline est un facteur de croissance ubiquiste qui régule la prolifération cellulaire, l'expression des gènes, la synthèse des protéines et la survie cellulaire dans la plupart des tissus mammifères (**Wang Q., 2008**). L'insuline a un rôle essentiel dans la mise en réserve et l'oxydation du glucose absorbé au niveau de l'intestin après les repas (**Capeau J. et al., 1996**). Elle module aussi la transcription, stimule la croissance, la synthèse de l'ADN et la division cellulaire (**Kevorkova O., 2006**). Elle favorise la glycogénogénèse en agissant sur le transport du glucose et la glycogène synthétase. Elle inhibe la glycogénolyse et de la néoglucogénèse stimulées, dans les périodes post-absorptives, par le glucagon. L'insuline joue aussi un rôle principalement dans la synthèse et le stockage de triglycérides, grâce à l'activation de la lipoprotéine lipase et de la lipogénèse et inhibe la lipolyse adipocytaire. (**Capeau J. et al., 1996**).

II. Stress Oxydatif

II.1. Définition

Stress oxydatif que l'on définit comme une altération cellulaire et tissulaire par des molécules oxydantes (**Atta N. F., El-Kady M.F., 2010**), et comme un déséquilibre entre la production et la destruction d'espèces radicalaires (**Kanoun K., 2011**). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants. L'équilibre ou homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques par les ERO (**Kirschvink N. et al., 2011**).

II.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes, des ions ou des molécules que possèdent un électron non apparié dit "libre" prêts à se recombinaison (**Jelen G., 1999**). Ils forment ainsi des molécules susceptibles de provoquer d'importants dégâts organiques. Ces molécules issues des réactions chimiques engendrées par l'utilisation de l'oxygène dans notre corps (oxydation) sont très instables (**Massart A., 2011**), tel que la production lors des respirations oxydatives (mitochondries), Cellules phagocytaires, Métabolisme de l'acide arachidonique, Système xanthine/Xanthine oxydase (source endogène) (**Berruex J.C., 1996**), Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) (**Pastre C., 2005**). Leur origine liés à de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air, l'eau et les aliments, Les rayons ultraviolets...etc, sont également des facteurs qui augmentent la présence des radicaux libre (sources exogènes) (**Kanoun K., 2011**). Ces radicaux sont très réactifs vis-à-vis des autres radicaux libres ou de molécules dénaturées .ils donnent naissance à un édifice stable et alors la réaction s'arrête, ou bien il apparait un nouveau radicale à l'origine d'une réaction en chaine (**Frenot M., Vierling É., 2001**). On peut distinguer les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires (**Belkheiri N., 2010**) (Ces radicaux s'attaquent à une série de substrats biologiques : glucides, lipides, protéines et acide désoxyribonucléique) (**Amiour D., 2009**). Il est désormais bien établi que la formation de radicaux libres peut s'effectuer au niveau de différents organites cellulaires comme: Les mitochondries, les microsomes, le cytosol, les peroxysomes (**Pillon N., 2010**). Il s'agit essentiellement de l'inflammation, de l'ischémie tissulaire, du vieillissement cellulaire, du cancer de hyperoxygénation, de la toxicité de certaines substances (**Jadot G., 1994**).

II.3. Les Antioxydant

II.3.1. Définition

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat (Pastre C., 2005; Halliwell., 1999), Selon le type, les antioxydants peuvent réduire et même éviter les dégâts causés par les radicaux libres (ROS) (Descheemaeker K. *et al.*, 2002), en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant les métaux de transition libres (Katbab A. *et al.*, 1985) ou à induit la synthèse des antioxydants (Pelletir E. *et al.*, 2004). Il existe une quantité innombrable d'antioxydants et ceux-ci peuvent être non-enzymatiques ou enzymatiques (You H.J. *et al.*, 2003). En effet, plusieurs études démontrent que la défense antioxydant peut être soit diminuée ou compromise dans certaines conditions physiopathologiques (Belkheiri N., 2010).

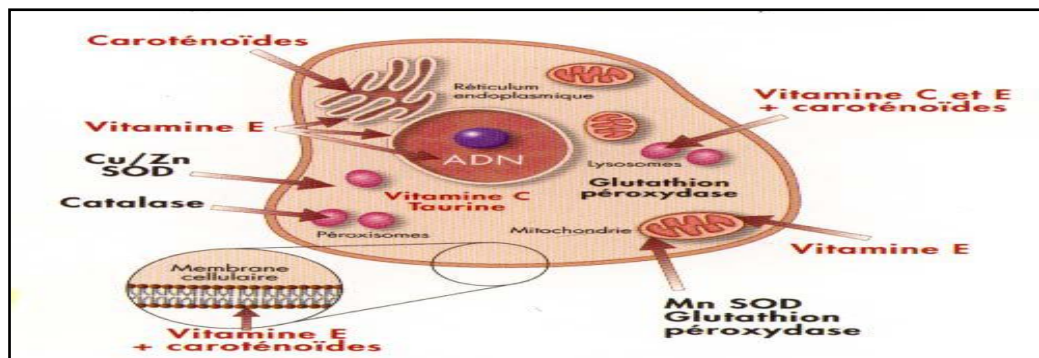


Fig10: Sites d'action des antioxydants (Opara E.S., 2002).

II.3.2. Le glutathion (GSH)

Le glutathion est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) (Li Y. *et al.*, 2005), présente dans toutes les cellules animales. Il existe sous deux forme, une forme réduit GSH, et une forme oxydée GSSG. Dans la lumière de réticulum endoplasmique, la proportion de GSH est plus importante, ce qui est favorable à la formation de ponts disulfures dans les protéines (Morel C., 2007). Dans la cellule, il est majoritairement présent sous forme réduite (90%) qui est sa forme active (Meister., 1988). Il est un composé de petite masse moléculaire qui contient un groupement thiol libre apporté par la cystéine lui conférant ses principales propriétés biochimiques. Toutes les cellules en contiennent à une concentration élevée de l'ordre de 0,5Mm (Chabory E., 2009). La régénération de la fonction thiol GSH à partir de la forme oxydée se fait grâce à l'activité de la glutathion réductase (GR) (Kruidenier L. *et al.*, 2002; Théron P. *et al.*, 2005). Cette enzyme catalyse la réduction de GSSG en GSH selon la réaction suivante (Chaoui A. *et al.*, 1997).

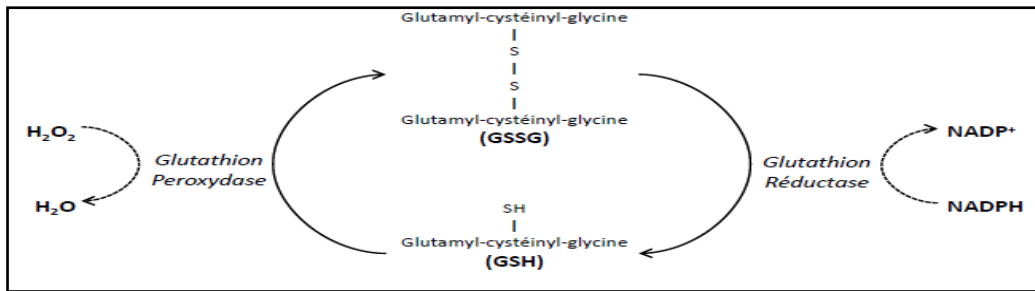
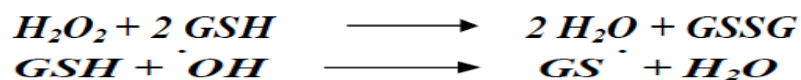


Fig11: Mécanisme d'action du glutathion (Pillon N., 2010).

Le GSH est oxydé en GSSG lui-même régénéré en GSH grâce à l'oxydation du NADPH par la glutathion réductase. Le NADPH est ensuite régénéré par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (Chan A.C., 1993). Le glutathion permet dans un premier temps, l'inactivation des espèces radicalaires en réagissant rapidement et de façon non enzymatique avec le radical hydroxyle ou encore les peroxy-nitrites (produit cytotoxique formé lors de la réaction de l'oxyde nitrique avec l'oxygène) grâce à son groupement thiol (-SH). Cette détoxication se fait par simple transfert d'électrons, rendant ainsi les ROS moins toxiques pour l'organisme (Deleve L.D., Kaplowitz N., 1991).

La fonction thiol confère au glutathion un rôle d'antioxydant, c'est-à-dire de réducteur, qu'il exerce vis-à-vis de nombreuses espèces oxydées, en particulier vis-à-vis de l'eau oxygénée et des radicaux hydroxyles (Favier A., 2003):



La réaction du H₂O₂ avec le GSH, semble être plutôt lente. Cette réaction passe par l'intermédiaire d'un acide sulfonique (GSOH). La réaction des thiols avec HO° est plus rapide. La chaîne fondamentale des réactions est complexe. Elle commence par la formation d'un radical sulfinyle, qui réagit avec du thiol pour former un acide sulfonique et un radical thiyle (GS°). Ce dernier réagit avec du thiol pour former l'anion radical du glutathion disulfure (GSSG•-), qui va conduire au GSSG (Jacob C., 2006).

Toutefois, le rôle protecteur de GSH semble provenir de sa capacité à réagir avec les radicaux centrés sur le carbone R° (Capture des espèces radicalaires) (Boumaza A., 2009):

En effet dans ce cas, un phénomène de « réparation » des radicaux R° en RH se produit, par opposition à l'oxydation possible des radicaux R° par O₂, donnant naissance à des radicaux peroxydes RO². Cependant, les radicaux thiyles GS° formés lors des réactions suscitées, sont loin d'être eux-mêmes « inoffensifs » car leurs réactions ultérieures peuvent générer de nouveaux radicaux libres susceptibles d'initier à leur tour des dommages

moléculaires. Par conséquent, l'effet protecteur des thiols reste relativement limitée. La régénération de la fonction thiol SH semble se faire, in vivo, à l'aide d'autres réducteurs tels que l'ascorbate (Vit C), et le système glutathions peroxydase (**Milane H., 2004**).

Le glutathion est utilisé comme marqueur du système antioxydant et du stress oxydant, analysé par spectrophotométrie (**Hellsten. et al., 2001; Margaritis. et al., 2003**).

II.3.3. La Glutathion peroxydase

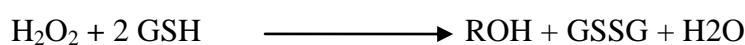
II.3.3.1. Définition

Les Glutathion peroxydases(GPx) sont des enzymes tétramériques à sélénium Cytoplasmiques et mitochondriales (**Lacolley P., 2007**), donc La GPx est localisée dans le cytosol ainsi que dans la mitochondrie (**Gutteridge J., 1994**), La GSH-Px mitochondriale est responsable de la protection des membranes internes de la mitochondrie. Alors que la GSH-Px cytosolique est responsable de la protection des membranes externes de la mitochondrie (**Cossette C., 1997**), ils sont constituent une famille d'enzymes capables de réduire des composés hydroperoxydes en leurs composés hydroxyles (**Bouldjadj R., 2009**). Cette enzyme lutte contre les radicaux libres (H_2O_2) qui, s'ils sont en trop grand nombre, vont attaquer et détruire l'ADN (**Belkheiri N., 2010**). Elles sont induites par l'augmentation de la teneur en oxygène (**Chabory E., 2009**).

II. 3.3.2. Mécanisme d'action

Les formes plasmatique et cellulaire de la glutathion peroxydase (GPX) catalysent la même réaction, à savoir la réduction du peroxyde d'hydrogène ou H_2O_2 et des hydroperoxydes (R-OOH) formés à partir des acides gras et d'autres substances (**Callejas M., 2009**). Ces enzymes utilisent le glutathion réduit comme donneur d'électron (GSH) (**Chabory E., 2009**).

GPx



Le site catalytique de l'enzyme comprend un résidu sélénocystéine dans lequel le sélénium subit un cycle redox impliquant le séléniol (E-Se-H) correspondant à la forme active qui réduit les peroxydes d'hydrogène ou des peroxydes organiques. Le séléniol est oxydé en acide séléinique (E-Se -OH), qui réagit avec le glutathion réduit (GSH) pour former un adduit sélénosulfide (E-Se-S-G). Un deuxième glutathion régénère ensuite la forme active de l'enzyme en attaquant le E-Se-S-G pour former le glutathion oxydé (GSSG) (**Mugesh G. et al., 2001**). Ensuite la glutathion réductase avec comme cofacteur le NADPH, H^+ va réduire le glutathion oxydé G-S-S-G en glutathion G-SH, permettant ainsi de garder le rapport constant la glutathion peroxydase peut également réduire les hydroperoxydes organiques R-O-O (**Comporti M., 1987**).

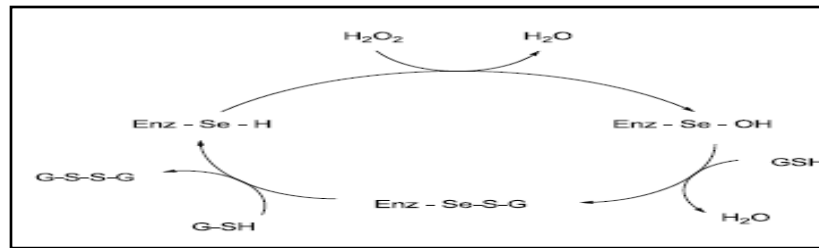


Fig12: Mécanisme d'action de glutathion peroxydase (Comporti M., 1987).

II. 3.4. Diabète et stress oxydatif

Le stress oxydant est augmenté dans les différents tissus dans le cas de diabète, l'hyperglycémie prolongent le gradient électrochimique des protons généré dans la chaîne mitochondriales menant à une surproduction d'anion superoxyde, qui est l'une des ERO qui peut endommager les cellules dans de nombreuses voies à travers le stress oxydatif, en l'absence d'une compensation appropriée de la réponse des réseaux antioxydants endogènes des cellules, le système est débordé, entraînant un déséquilibre d'oxydo-réduction, ce qui aggrave encore la situation. Les ERO générés lors de l'hyperglycémie causent principalement des dommages de l'ADN, des protéines et des lipides. En plus il est évident que dans le diabète de type 2, l'activation des voies de stress sensible par l'élévation du glucose et des acides gras conduit à deux niveaux de résistance à l'insuline et une diminution de la sécrétion d'insuline et la dysfonction des cellules β sécrétrice de l'insuline (Hamadi N., 2010).

II.3.5. La Résistance à l'insuline et le stress oxydatif

Une augmentation de la concentration en insuline, en AGL et/ou en glucides augmente la production des ERO, induit un stress oxydant, et active les voies métaboliques génératrices d'ERO, ce qui en retour aggrave à la fois l'action et la sécrétion d'insuline et le dysfonctionnement des cellules β -pancréatiques et les dommages cellulaires responsables des complications cliniques du diabète. Enfin, l'attaque radicalaire modifie la transcription des transporteurs du glucose, et le taux de GLUT-1 est augmenté alors que le GLUT-4 est réduit (Bloch D.A., Bashan N., 2005). L'activation de la PKC par des ERO pourrait aussi être impliquée dans l'insulinorésistance, est ce dernière entraîne une phosphorylation des résidus sérine/thréonine des IRS, qui conduit à l'inactivation des récepteurs hormonaux inhibant ainsi la transmission du signal insulinique et la capture cellulaire du glucose qui en découle (Benaraba A., 2007).

CHAPITRE II

Généralité sur les protéines

I. Les protéines

I.1. Définition

Le mot protéine a été inventé en 1838 par le chimiste suédois Jöns Berzelius et tire son origine du mot grec proteios, qui signifie « au premier rang ». Comme leur nom le suggère (Mcquarrie D.A. *et al.*, 2000). Les protéines sont des biopolymères appelés polypeptides, ils sont des complexes formés par l'enchaînement d'un grand nombre d'acides aminés p (Goudet P., Yindoula J., 2008), unis par une liaison amide, établie entre le groupement α -carboxyle de l'un et le groupement α -aminé du suivant. Le mot protéines pouvant être pris comme l'acronyme de leur rôle, Protection, Régulation, mouvement, Transport, Energie, Influx Nerveux, Enzymes, Structure (Moussard C., 2006). Les protéines fibreuses structurales sont résistantes aux déformations physiques et chimiques dues à l'environnement. Les protéines globulaires, leur structure complexe les rend susceptibles de modification en fonction de leur environnement (Brooker C., 2000). Ils représentent une partie importante de la masse de tout organisme. Une protéine peut être la substance principale d'un tissu, comme l'hémoglobine dans les globules rouges (Voet D., Voet G., 2005).

I.2. Structure

I.2.1. Structure primaire de protéine

La structure primaire d'une protéine est la séquence des acides aminés de sa ou de ses chaînes polypeptidiques (Harley J.P. *et al.*, 2010), tous agencés selon une séquence définie et génétiquement déterminée (Perutz M.F., 1996). La chaîne d'acide aminé associée par des liaisons peptidiques. On réserve généralement le terme de protéine à un polypeptide qui peut en comporter jusqu'à 4000 acides aminés qui possèdent une structure tridimensionnelle bien définie (Lodish H. *et al.*, 2005).

I.2.2. Structure secondaire de protéine

Les protéines n'existent pas sous forme de chaînes linéaires d'acides aminés, elles se tordent et se replient sur elles-mêmes. C'est la structure secondaire (Petsko G.A., Ringe D., 2008). La structure secondaire la plus courante est celle de l'hélice α , la chaîne primaire s'enroule sur elle-même puis est stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupes NH et CO, à tous les quatre acides aminés environ (Pollard T.D., Earnshaw W.C., 2004). Le feuillet plissé β est une autre structure secondaire, où les chaînes polypeptidiques primaires ne s'enroulent pas mais se lient côte à côte au moyen de liaisons hydrogène et forment une sorte d'échelle pliante. Dans ce type de structure secondaire, les liaisons hydrogène peuvent unir différentes parties d'une même chaîne qui s'est repliée sur elle-même en accordéon ou encore différentes chaînes polypeptidiques. Dans les hélices α , les liaisons hydrogène unissent

toujours différentes parties d'une même chaîne. Une chaîne polypeptidique peut présenter les deux types de structure secondaire (Lodish H. *et al.*, 2005).

I.2.3. Structure tertiaire de protéine

La structure tertiaire définie et stable, c'est l'enroulement de la chaîne polypeptidique dans les trois dimensions de l'espace avec formation d'un ou de plusieurs sites actifs. La structure tertiaire est stabilisée par quatre types de liaisons qui s'établissent entre les chaînes latérales: ionique, Hydrogène, Hydrophobe et ponts disulfures (Audigie C., Zonszain F., 1991). Il est stabilisée dans de nombreux cas, par des molécules non protéine (coenzymes, métaux, glucides) (Frenot M., Vierling E., 2001).

I.2.4. La structure quaternaire de protéine

La structure quaternaire correspond à l'assemblage de plusieurs protéines (protomères, monomères) pour former un oligomère avec des protomères identiques ou différentes. L'activité biologique de la protéine est bien souvent conditionnée par cette structure. L'assemblage des protomères se fait par de nombreuses liaisons ioniques, hydrophobes, hydrogènes et de force de van der waals (Claverie I. *et al.*, 2008).

I.3. Métabolisme des acides aminés

Les α -aminoacides sont des métabolites énergétiques et des précurseurs de nombreux composés azotés importants, en particulier les amines physiologiquement actives, le glutathion, les nucléotides...ect (Voet D., Voet J.G., 2005). Le métabolisme des acides aminés concerne l'ensemble des réactions de leur biosynthèse et de leur utilisation à des fins anaboliques ou catabolique (Larbier M., Leclercq B., 1992), ce fait dans l'organisme est essentiellement effectué au niveau du foie ou le cycle de l'ornithine fournit de l'urée à coté d'une proportion significative d'ions ammonium (Georges H., 1996). Il fait partie des acides aminés indispensables, qu'il faut trouver obligatoirement dans les aliments. Au contraire, l'organisme peut synthétiser les acides aminés non indispensables, soit en modifiant la chaîne carbonée d'un autre acide aminé, soit en transférant la fonction NH_2 d'un radical carboné à un autre, si ce dernier est disponible (Randoux A. *et al.*, 1997).

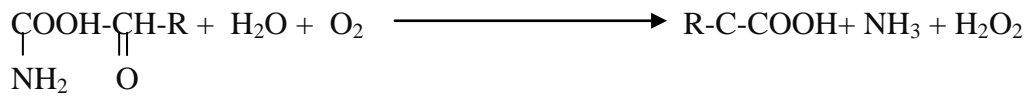
I.3.1. Dégradation des acides aminés

I.3.1.1. Désamination

La première phase de la dégradation métabolique de la plupart des acides aminés est la désamination (Mcmurry J., Begley T., 2006), elle conduit à libération du groupe NH_2 le plus souvent sous forme d'ammoniaque son remplacement par un groupe carbonyle (Meyer A. *et al.*, 2004).

a. Désamination oxydative (Leyral G., Vierling E., 2007)

- ✓ Catalysée par des aminoacides-déshydrogénases autoxydable à coenzymes flaviniques (FAD).

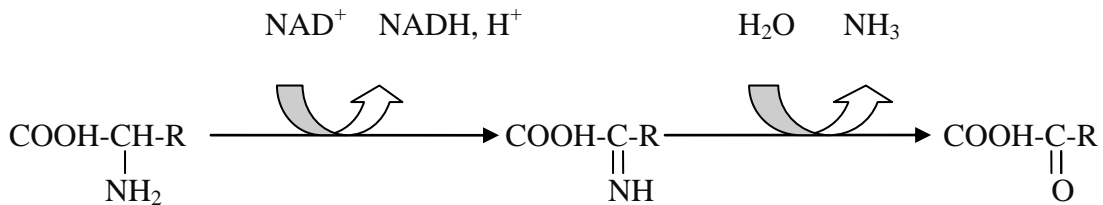


Acide α -aminé acide α -cétonique

le peroxyde d'hydrogène, toxique, doit être détruit par l'action d'une catalase ou d'une peroxydase.

- ✓ Catalysée par des aminoacides-déshydrogénases fonctionnant avec du NAD.

La désamination se déroule alors en deux temps:



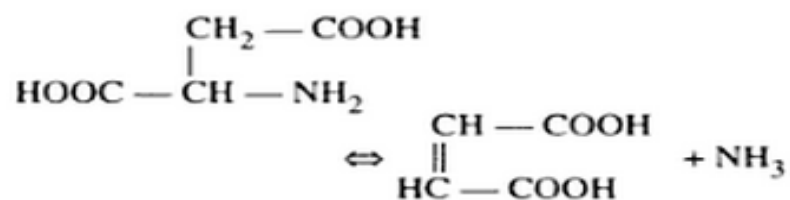
Production d'un acide α iminé

hydrolyse de l'acide α iminé

La phénylalanine-désaminase (PDA ou APP) et la tryptophane-désaminase (TDA) fonctionnent sur ce principe.

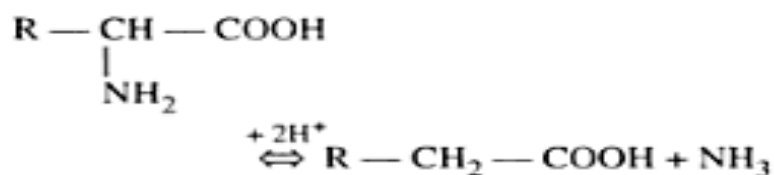
b. Désamination désaturante

Elle conduit à la formation de NH_3 et d'un acide désaturé. Par exemple, l'acide aspartique est transformé en acide fumarique par E.coli, fluorescens...ect, grâce à une aspartase (Meyer A. *et al.*, 2004):



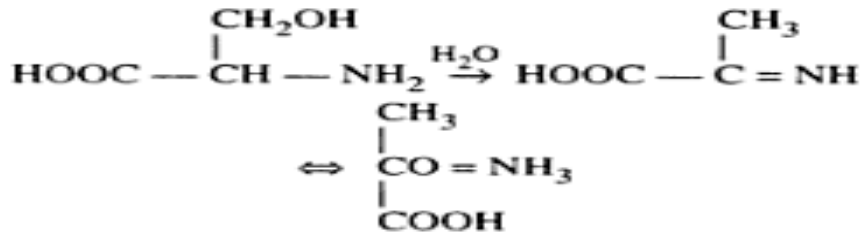
c. Désamination réductrice

Elle donne naissance à des acides gras saturés et de l'ammoniac selon la réaction (Meyer A. *et al.*, 2004):



d. Désamination par déshydratation

Ce mode de désamination est particulier aux acides aminés hydroxylés et est exclusivement microbien, il y a formation de NH₃ et d'un acide cétonique. Par exemple, *E. coli* possède une sérine désaminase qui catalyse la réaction (Meyer A. *et al.*, 2004):



I.3.1.2. Transamination

Les acides aminés transfèrent de leur groupement aminé à un acide α-cétonique pour donner l'acide α-cétonique correspondant à l'acide aminé de départ et un nouvel acide aminé (Voet D., Voet J.G., 2005). Les enzymes responsables de ce type de réaction sont appelées aminotransférases ou transaminases. Elles sont présentes dans tous les types cellulaires en particulier dans le foie, le rein et le cerveau, et utilisent le phosphate de pyridoxal comme coenzyme (Randoux A. *et al.*, 1997). En réalité, la plupart des réactions de Transamination font intervenir les couples alanine/ pyruvate, aspartate / oxaloacétate, glutamate / α-cétoglutarate. Grâce aux Transamination, l'organisme peut augmenter la quantité de certains acides aminés nécessaires (Dupin H. *et al.*, 1992). Souvent, le sel d'acide α-cétonique, aminoaccepteur, est l'α-cétoglutarate lequel est transformé en glutamate. Ce dernier subit une nouvelle Transamination, en présence d'oxaloacétate, pour donner l'aspartate, à côté de l'α-cétoglutarate qui est recyclé (Milcent R., Chau F., 2003).

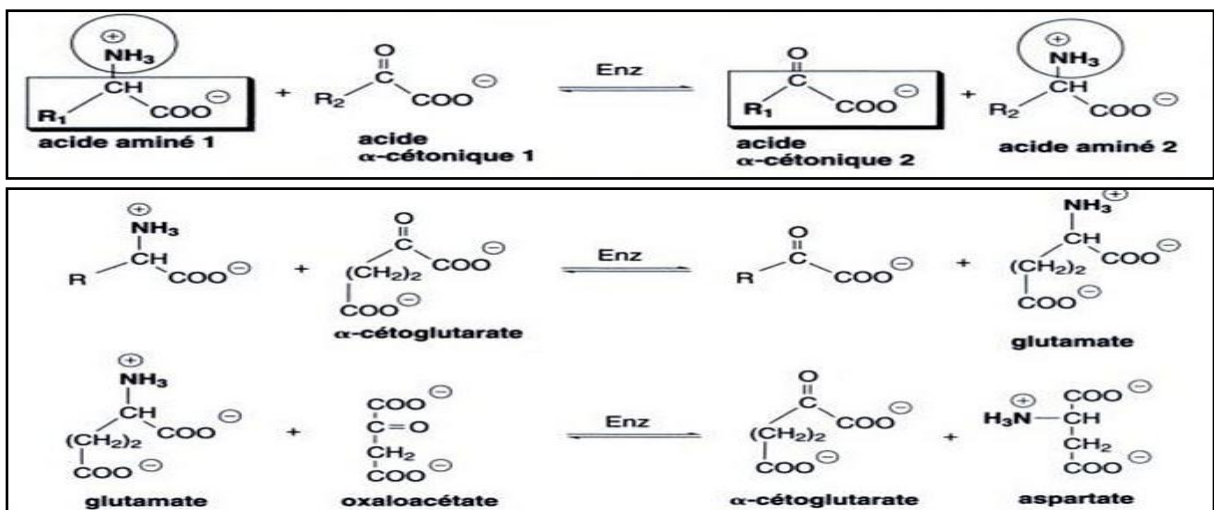


Fig13: Réactions des transaminations (Milcent R., Chau F., 2003).

I.3.1.3. Décarboxylation

Ces réactions conduisent à la formation d'amines. Elle sont catalysées par décarboxylases et répondent à ce réaction (**Raisonnier A., 2004**):



I.3.2. Cycle de l'urée

Le cycle de l'urée était le premier cycle métabolique à être mis en évidence, découverte en 1932 par Hans Krebs et Kurt Henseleit (**Vignais P., 2001**), est exclusivement hépatique. Il est constitué de cinq étapes réactionnelles catalysées par cinq enzymes (3enzymes mitochondriales et 2 enzymes cytosoliques) et d'un étape de transport au de la membrane mitochondriale (**Chabrol B., Lonlay P., 2011**), dont quatre forment le cycle proprement dit, aboutissent à la régénération de l'ornithine et à la libération d'une molécule d'urée (**Vaubouedolle M., 2007**). L'urée est synthétisée dans le foie par les enzymes du cycle de l'urée, passe ensuite dans le sang pour être concentrée dans les reins et excrétée dans l'urine (**Voet D., Voet J.G., 2005**). L'urée n'est pas directement impliquée dans ce cycle, mais l'acide aminé arginine qui lui sert de précurseur. L'urée est donc une excellente forme d'excrétion de l'azote: l'élimination urinaire d'une mole d'urée permet d'excréter deux moles d'azote (**Randoux A. et al., 1997**).

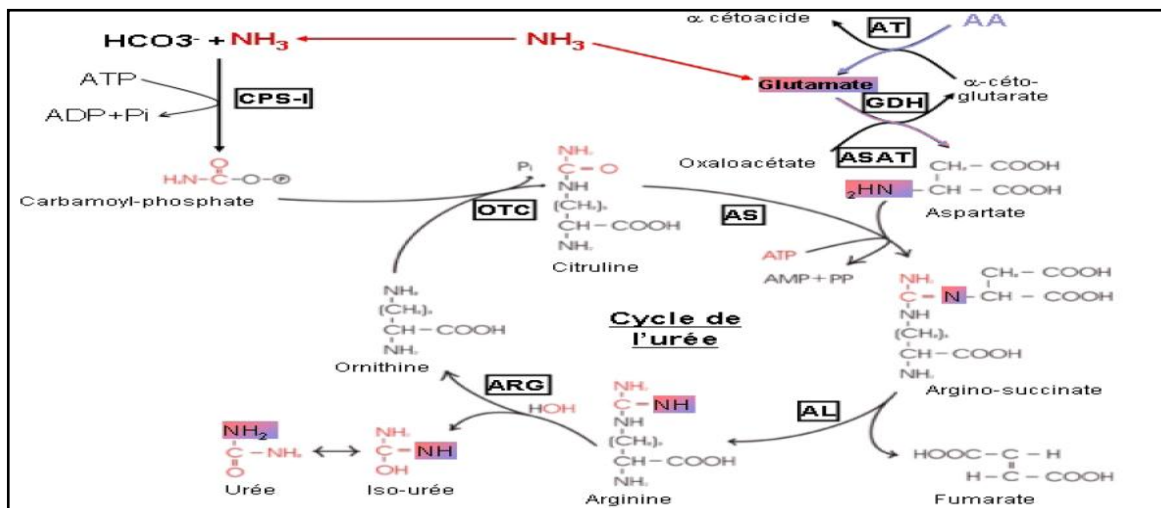


Fig14: Cycle de l'urée (**Kraft G., 2009**).

I.4. La biosynthèse protéique

I.4.1. Définition

La biosynthèse protéique correspond à la transformation d'un message codé en langage nucléotidique en langage protéique codé par un enchaînement précis d'acides aminés. L'ADN est confiné dans le noyau alors que la synthèse protéique se déroule dans le cytoplasme (Descamps M.C., 2010).

I.4.2. Etapes de la biosynthèse protéique

I.4.2.1. La transcription

L'ARN des Eucaryotes est synthétisé par trois types d'ARN polymérases, Pol I, Pol II et Pol III. Les gènes des Eucaryotes, présentent des promoteurs et contiennent cis-séquences activatrices (enhancers) (Weinman S., Mehul P., 2004). Des sites fonctionnels fixant des facteurs de transcription (facteurs trans) (Lescuyer P., 2002).

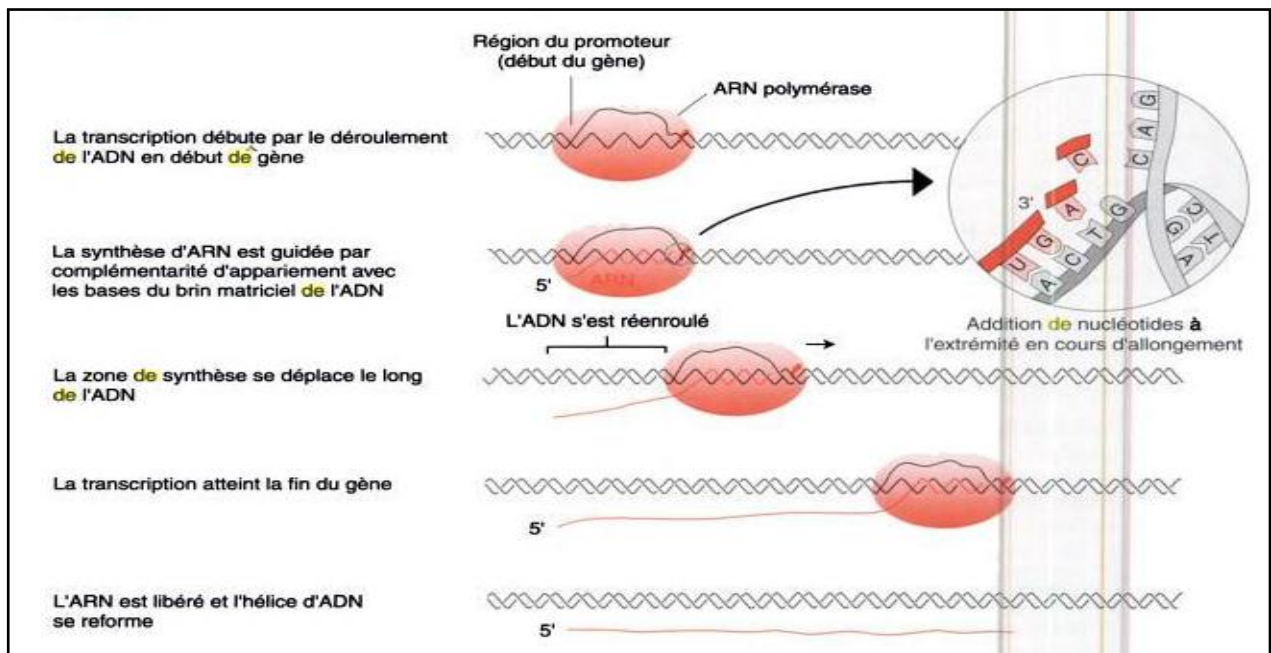


Fig15: La transcription de l'ADN en ARN (Leroux C., Tosser K.G., 2000).

I.4.2.1.1. L'initiation de la transcription

Chez les eucaryotes, La transcription est régulée par des activateurs et des répresseurs, et aussi par la structure de la chromatine (Miladi N., 2012). L'ARN polymérase est un complexe protéique, se fixe sur le promoteur. Leur liaison avec l'ADN permet d'une part d'ouvrir la double Hélice et d'autre part de catalyser l'insertion des ribonucléotides pour former un brin d'ARN selon la complémentarité des bases (Descamps M.C., 2010). Le site promoteur comporte deux boîtes, la boîte de PRIBNOW est l'équivalente de la boîte TATA, dont la séquence est TATAAAA, il existe la boîte CAAT située 70 à 80 nucléotides en amont

du gène. Lorsque l'ARN polymérase se fixe sur la boîte TATA, elle s'associe avec différentes protéines et les facteurs de transcription pour former une particule d'initiation (**Fontaine A., 2009**).

I.4.2.1.2. L'élongation de la transcription

L'ARN polymérase construit un ARN hybridé, cette enzyme progresse de manière séquentielle de l'extrémité 3' vers l'extrémité 5' du brin d'ADN codant (**Fontaine A., 2009**). Au cours de cette élongation l'ARN polymérase est accompagné avec le facteurs d'élongation qui permette l'avancée de l'enzyme, empêchent la formation d'obstacles comme des épingles à cheveux. Le transcrit primaire reste hybridé sur quelques nucléotides avec le brin anti-sens puis s'en détache pour permettre la régénération de double hélice (**Charbonneau J., 2012**).

I.4.2.1.3. La terminaison de la transcription

Vers la fin du gène, des facteurs liés à la RNA-polymérase reconnaissent sur le brin anti-sens une séquence 3'-TTATTT-5' suivie dans la plupart des gènes d'un autre signal 3'-ATACAAAC-5'avec la libération du transcrite primaire de condensation en diverses structures secondaires (épingles à cheveux). La transcription s'arrête en effet peu après le premier signal. La RNA-polymérase ayant libéré le DNA et le transcrit primaire qui contient la copie de l'information génétique qui va permettre l'expression du gène sous forme de protéine (**Housset C., Raisonnier A., 2009**).

I.4.2.1.4. La maturation

L'ARNm subit un ensemble de modifications post-transcriptionnelles (**Crick F. et al., 1961**). L'ARNm subit à l'opération de l'épissage qui assurée l'élimination les introns, comme épissage alternatif qui conduit à la création d'ARNm différents et donc de protéines distinctes à partir d'un même gène. La formation de coiffe du messenger ou cap (M7 méthyle-guanosine) va protégé les RNA messagers de catabolisme aux exonucléases, une endonucléase coupe la fin du transcrit environ une quinzaine de nucléotides a près un autre signal: AAUAAA dit boîte de polyadénylation sur l'extrémité 3'OH de cette coupure par le polyA polymérase (**Housset C., Raisonnier A., 2009**).

I.4.2.2. La traduction:

La traduction est le processus qui permet de synthétiser les protéines. Le ribosome synthétise les protéines en incorporant un à un les acides aminés en se basant sur l'information contenue dans les ARNm (**Gendron K., 2012**).

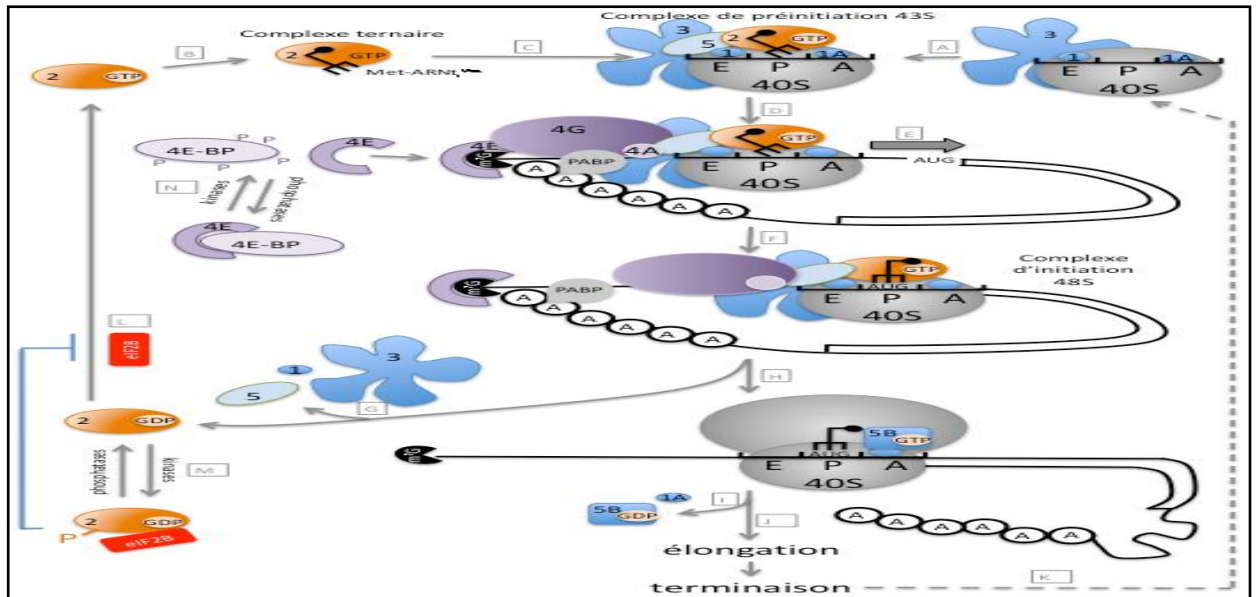


Fig16: L'initiation coiffe-dépendante et des mécanismes de contrôle de cette initiation (Gendron K., 2012).

I.4.2.2.1. L'initiation de la traduction

Cette étape nécessite des facteurs d'initiation de la traduction, chez les eucaryotes eIF (Lebaron S., 2008). En présence du cofacteur eIF4C, la petite sous-unité va fixer le facteur eIF3 et le facteur eIF2 activé qui porte le RNAt chargé de la méthionine initiale. L'énergie de la formation de ce complexe a été fournie par l'hydrolyse du GTP porté par le facteur eIF2 (Housset C., Raisonnier A., 2009). Cette initiation fait au niveau de la coiffe 5' de l'ARNm et nécessite aussi l'intervention de facteurs de la queue polyA. La petite sous-unité va ensuite scanner l'ARNm en se déplaçant dans le sens 5'-3' à la recherche du codon initiateur AUG (Lebaron S., 2008). L'ARNt initiateur portant la méthionine (Met-ARNti Met) localisé au site P (Gendron K., 2012). La séquence 5' non traduite du RNAm est reconnue par les cofacteurs eIF4A, eIF4B et eIF4F qui s'y fixent. en vis-à-vis du codon AUG, formant ainsi le complexe ternaire dit « d'amorçage ». La grande sous-unité va associée, lors la présence du cofacteur eIF5 (Lebaron S., 2008; Housset C., Raisonnier A., 2009).

I.4.2.2.2. Elongation de la traduction

Le facteur d'élongation eEF1 va activé à partir un GDP, et va recevoir un tRNA chargé qu'il viendra fixer sur ce site A. Dès que le codon du messenger au fond du site a pu se lier avec l'anticodon du RNAt apporté. Le ribosome catalyse alors le transfert du peptide situé sur le tRNA du site P sur la fonction amine de l'acide aminé du tRNA du site A. Enfin, grâce au facteur eEF2 et à l'hydrolyse d'un autre GTP, le tRNA du site P est libéré, le tRNA restant et le peptide en cours de synthèse sont alors déplacés du site A vers le site P (Housset C., Raisonnier A., 2009).

I.4.2.2.3. Terminaison de la traduction

Le ribosome entre dans un complexe de pré-terminaison lorsqu'un codon d'arrêt se retrouve dans son site A (Alkalaeva E.Z. *et al.*, 2006). Il y a 3 codons du stop sont appelés « non-sens » (Descamps M.C., 2010). Il s'agit des codons UAA, UAG et UGA. Les facteurs RF1/2 se positionnent dans le site A, permettent à la fin, la libération du polypeptide. Après l'utilisation d'une molécule de GTP, la GTPase RF3 interagit avec les RF1/2 et va éjectés du ribosome. Suit par une étape de recyclage. Elle permet la dissociation des complexes ribosome/ARNt/ARNm. Ce processus de recyclage nécessite l'intervention de facteurs RRF assistés par les facteur IF3 et EF-G (Lebaron S., 2008).

I.4.2.3. Repliement et modifications post-traductionnelles

Les protéine néo-synthétisée doit subir plusieurs modifications et doit être repliée (Miladi N., 2012), qui entraîne en changement de la fonction de la protéine considérée, que ce soit au niveau de son action, de sa demie-vie, ou de sa localisation cellulaire (Terrapon N., 2010). Ces modifications sont regroupées en plusieurs type, comme (Miladi N., 2012):

- ✓ Modifications impliquant l'addition d'un groupe fonctionnel: acétylation, alkylation lipoylation, sulfatation, Glycosylation N et O,...etc .
- ✓ Modifications impliquant l'addition de groupes peptidiques ou de protéines: ubiquitination, sumoylation... etc.
- ✓ Modifications changeant la nature chimique des acides aminés: citrullination....etc.
- ✓ Modifications impliquant des changements structuraux: formation de ponts disulfures, clivage protéique.

I.5. Le Rôle des protéines

- ✓ Les protéines ont essentiellement à un rôle structural protègent la structure biologique, assurés par les protéines fibreuses comme l' α -Kératine et le collagène du tissu conjonctif animal et la tubuline des microtubule du cytoplasme (Nguyen H., Bourouina R., 2008).
- ✓ Les protéines joué un rôle biologique assurés par les protéines globulaires, peuvent être entrés dans le catalyse (Robert D., Vian B., 2004).
- ✓ Transportes de certaines petites molécules, comme l'oxygène transportée par l'hémoglobine, et diverses protéines transportent des ions métalliques (Randoux A. *et al.*, 1997).
- ✓ Les protéines servent aussi de canaux ioniques dans les membranes cellulaires de récepteurs hormonaux, de pigments et remplissent aussi diverses fonctions importantes dans la cellule (Hopkins W.G., 2003).

✓ Elle sont assurent aussi la protection par les anticorps de l'immunité hormonale défendent le soi contre le non- soi (les substances étrangères). Les protéines sont des réserves d'acides aminées en tant que substrats énergétique (Moussard C., 2006).

I.6. Les variation quantitatifs des protéines sériques

I.6.1. Type des protéines sériques

La protéine sérique est une protéine contenue dans le sérum. La valeur normale de ce protéine est varie entre: 64-76g/l. Ils comprennent l'albumine, les globulines et le fibrinogène. Les protéines sériques participent donc ensemble au maintien du volume sanguin et à son équilibre avec les liquides interstitiels. Cet équilibre est maintenu par ajustement qualitatif convenable des éléments protéiques entre eux (Alajati K.S. *et al.*, 2006).

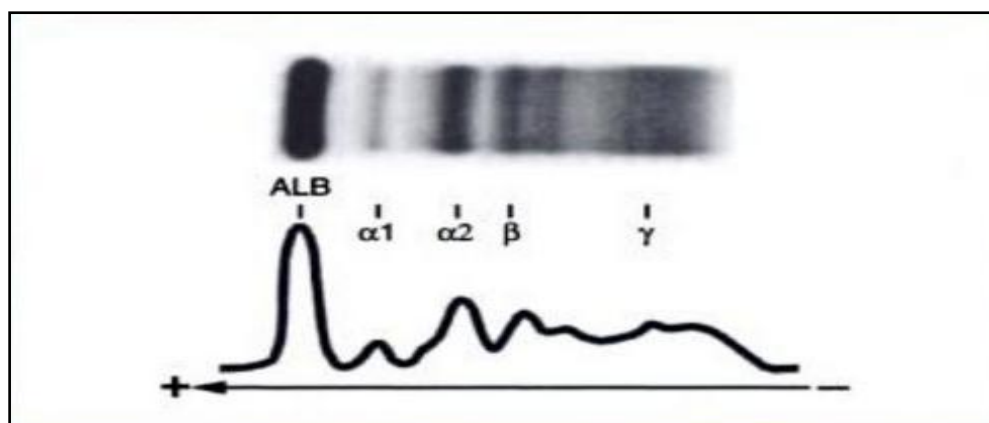


Fig17: Protéinogramme des protéines sériques dans le cas normale (Weill B., Batteux F., 2003).

I.6.1.1. Albumine

C'est la fraction protéique la plus importante du point de vue pondéral dans le sérum mais sa principale caractéristique est sa grande mobilité électrophorétique. Elle est synthétisée exclusivement par le foie, son poids moléculaire est d'environ 66 KDa. Elle représente 60% des protéines du sérum (Ibrahim M., 2003). Elle intervient dans le maintien de la pression oncotique des liquides internes, dans le transport de nombreuses molécules et ions tels que bilirubine, sels biliaires...etc (Bossuyt X., Boeynaems J.M., 2001).

I.6.1.2. Globulines

C'est un groupe hétérogène, comprennent les protéines de transport spécifique, les protéines du complément, anticorps, les facteurs de l'hémostase et des précurseurs inactifs de certaines hormones...ect (Giraud N. *et al.*, 2010).

a. Globuline α ✓ **Globuline α_1**

Comprenant principalement: α_1 l'anti-trypsine, l'orosomucoïde, l' α_1 l'antichymotrypsine...etc. Qui représente 4% des protéines sériques (**Belaouar H., 2009**).

✓ **Globuline α_2**

Comprenant principalement: l' α_2 macroglobuline, haptoglobine, la céruléoplasmine ...etc, il représente 7% des protéines sériques (**Faye B., 1986**).

b. Globuline β

Les bêta globulines constituent les plus grosses protéines du sérum, groupe hétérogène représentant 12% des protéines sériques (**Faye B., 1986**). Leur rôle est primordial dans le transport des lipides, du fer, des vitamines, des hormones stéroïdes. Cette fraction a deux origines: soit elle est synthétisée par le foie, soit elle est synthétisée par le système réticulo-endothélial (**Langlois W.I., Lepersole I., 2001**).

c. Globulines γ ou immunoglobulines

C'est un groupe le moins mobile à l'électrophorèse, représentent environ 17% des protéines sériques, revêt une homogénéité structurale remarquable. comprenant l'ensemble des immunoglobulines (**Ibrahim M., 2003**).

I.6.1.3. Le fibrinogène

C'est un facteur de coagulation, fabriqué dans le foie. Il est converti en fibrine au cours de la coagulation (**Langlois W.I., Lepersole I., 2001**).

I.6.2. Les Variations physiopathologiques

Les valeurs physiologiques de référence des protéines (**Tangara E., 2005**):

- Chez l'adulte la valeur est de 72 ± 4 g/l dans le sérum et 75 ± 4 g/l dans le plasma.
- Chez le nouveau-né la valeur est de 50g/l.

I.6.2.1. Les hyperprotéïnemies

Les hyperprotéïnemies résultent soit d'une augmentation en quantité des immunoglobulines ou du fibrinogène (à l'exclusion de l'albumine), soit d'une hémococoncentration (l'albuminémie est augmentée dans ce cas) (**Vaubourdolle M., 2007**). Ils sont rares. On les observe dans deux groupes de circonstances:

- ✓ **Hémococoncentration par perte d'eau (état de déshydratation):** par sudation excessive, diarrhée prolongée ou vomissements répétés par exemple (**Ibrahim M., 2003**).
- ✓ **Hyperprotéïnémie isolée:** Toutefois, les hyperprotéïnemies à l'IgA (de mobilité moyenne β_2) pourront aussi affecter, selon les clones concernés, les zones de mobilité β ou α_2 . Dysprotéïnemie est en effet trop restrictif car toute modification importante du rapport

albumine/globulines (A/G) est aussi assimilable à une dysprotéinémie. L'hyperprotéinémie, généralement supérieure à 90 g/l, résulte d'une prolifération polyclonale ou monoclonale plasmocytaire ou lymphoplasmocytaire associée à une synthèse accrue d'immunoglobuline (Vaubourdolle M., 2007).

I.6.2.2. Les hypoprotéinémies

L'hypoprotéinémie se rencontre dans les états de dénutrition, défaut de synthèse (l'insuffisance hépatique), la fruite rénale massive et la cirrhose (Alajati K.S. *et al.*, 2006; Carre I.M., 2001).

✓ **les causes d'hypoprotéinémie:** Ils sont nombreuses Parmi ceux-ci, l'hémodilution, défaut de synthèse protéique (de carences alimentaires très importantes ou d'alimentations déséquilibrées, altération hépatique), augmentation du catabolisme des protéines, élimination urinaire ou digestive très importante de protéines, des ponctions d'ascite répétées peuvent entraîner une hypoprotéinémie (Ibrahim M., 2003).

✓ **On distingue**

- **Syndrome de malnutrition ou d'insuffisance hépatique:** Ce syndrome est caractérisé par une diminution du taux de l'albumine, des alpha globulines et des bêta globulines. Les gammaglobulines sont normale. L'hypoprotéinémie est rencontrée dans les cas de kwashiorkor, dénutrition, insuffisance hépatique (Tangara E., 2005).
- **Syndrome néphrotique chronique:** Ce syndrome est caractérisé par une diminution des taux d'albumine, d'alpha 1 et de gamma globulines. Les alphas 2 globulines sont par contre élevées (Ibrahim M., 2003).
- **Hypogammaglobulinémie:** L'albumine, l'alpha1, l'alpha2, les bêta globulines sont normales, par contre les gammaglobulines sont diminuées. On la rencontre dans les cas de déficit immunitaire (agammaglobulinémie héréditaire) (Tangara E., 2005).

DEUXIEME PARTIE

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

Matériels et Méthodes

I. Matériels

I.1. Matériel animal

I.1.1. Entretien des animaux

L'étude est réalisée sur dix (10) rats (males et femelle) Wistar Albinos, âgés de 2 à 3 mois et pesant entre 149 et 212g au début de l'expérimentation, ces animaux amenés de l'institut pasteur d'Algérie, sont mis à l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université d'EL-OUED, pendant la durée de l'expérimentation.

I.1.2. Elevage et mesure du poids

Les rats sont logés dans des cages plastiques, chaque cage regroupe cinq rats. Ces cages contiennent de Sciure de bois. Elle est changée deux fois chaque semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation. Et on a mesuré le poids de chaque rat à l'état de jeûne, de façon régulière, deux fois chaque semaine. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture «type d'aliment synthétique selon tableau 01 ».

Tableau01: Composition des aliments (Southon. *et al.*, 1984):

Substance primaire	Quantité (g/Kg)	Pourcentage (%)
Amidon	326	32.6
Saccharose	326	32.6
Protéine	168	16.8
Cellulose	40	4
Minéraux	40	4
Vitamine	20	2
Huile de maïs	80	8

I.1.3. Traitement des animaux

L'ensemble des rats ont été divisé en deux groupes de Cinq rats chacun et gardés dans des mêmes conditions. Le premier est le groupe témoin, et le deuxième c'est le groupe rendu diabétique par l'injection abdominal de l'Alloxane.

❖ Les lots des animaux

Lot témoin: contient 5 Rats normaux.

Lot étudié: contient 5 Rats diabétiques.

I.1.4. Prélèvement de sang et des organes

Le Prélèvement sanguin ce fait au moment de sacrifie des rats, ces derniers sont mis à jeûne pendant 16 heures, le sang prélevé est récolté dans deux tubes: tube sec et tube contenant de l'EDTA contre la coagulation pour chaque rat.

Après chaque prélèvement sanguin, le sang qui mis dans des tubes secs est centrifugé à 3000 tours/minute pendant 15 minutes puis on récupère le sérum et utilisé pour le dosage des paramètres biochimiques (l'acide urique, la glycémie, l'urée, protéine), et le sang mis dans des tubes contenant l'EDTA utilisé pour le dosage de l'hémoglobine.

Après le prélèvement sanguin, on passe à la dissection et on récupère les organes (les foies, les pancréas, les reins) qui sont utilisés pour mesurer l'humidité et le dosage des paramètres biochimiques hépatiques (protéines, glutathion et glutathion peroxydase).

I.2. Réactifs

EDTA, Tris, Ethanol, Méthanol, Acide salicylique, DTNB, trompons phosphate de potassium (ph= 6.5), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), Bleu de Comassie, Acide phosphorique (H_3PO_4), TCA, GSH.

Le kit de réactif de Glucose, le kit de réactif de l'urée, le kit de réactif de l'acide urique, le kit de réactif de Protéine totale sérique sont achetés du SPINREACT, le kit de réactif de l'hémoglobine est acheté du BIOMAGHREB.

I.3. Les Appareils

bouton de réglage File d'aliment électrique orifice de tube

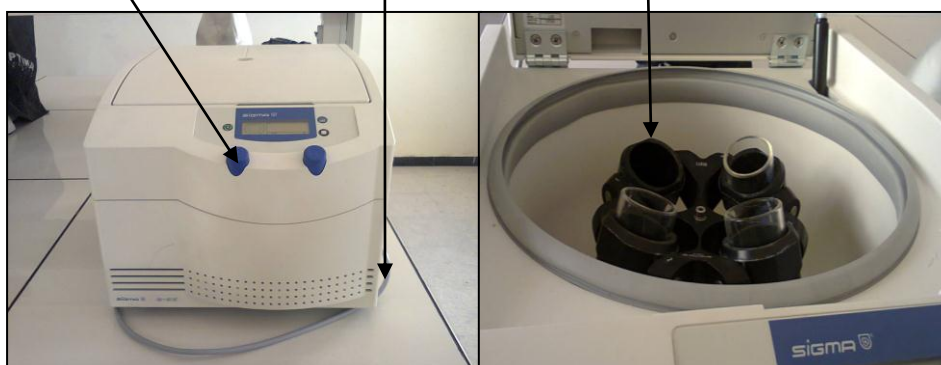


Fig18: Centrifugeuse horizontale de type SIGMA (photo originale).

File d'aliment électrique

Bain d'eau

**Fig19:** Bain-marie de type MEMMERT (photo originale).

Porte cuve

File d'alimentation électrique

lecteur de longueur d'onde

**Fig20:** Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS - 1240 (photo originale).

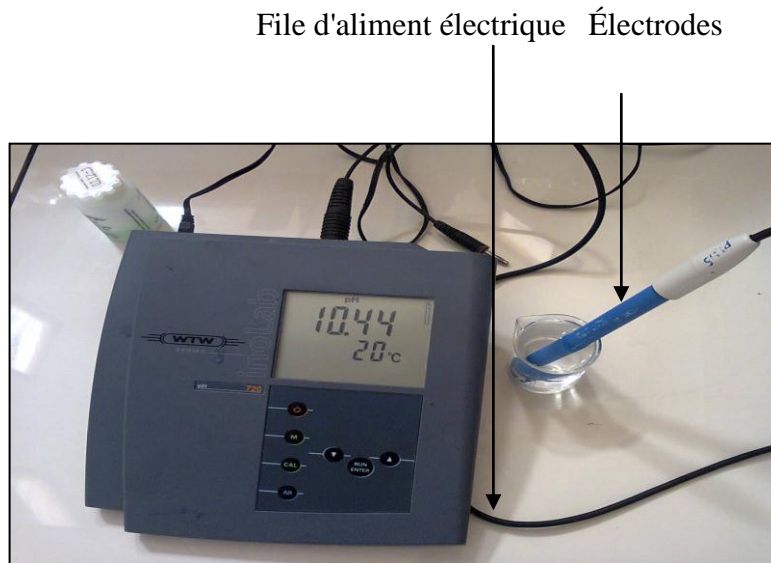


Fig21: PH- mètre de type WTW (photo originale).

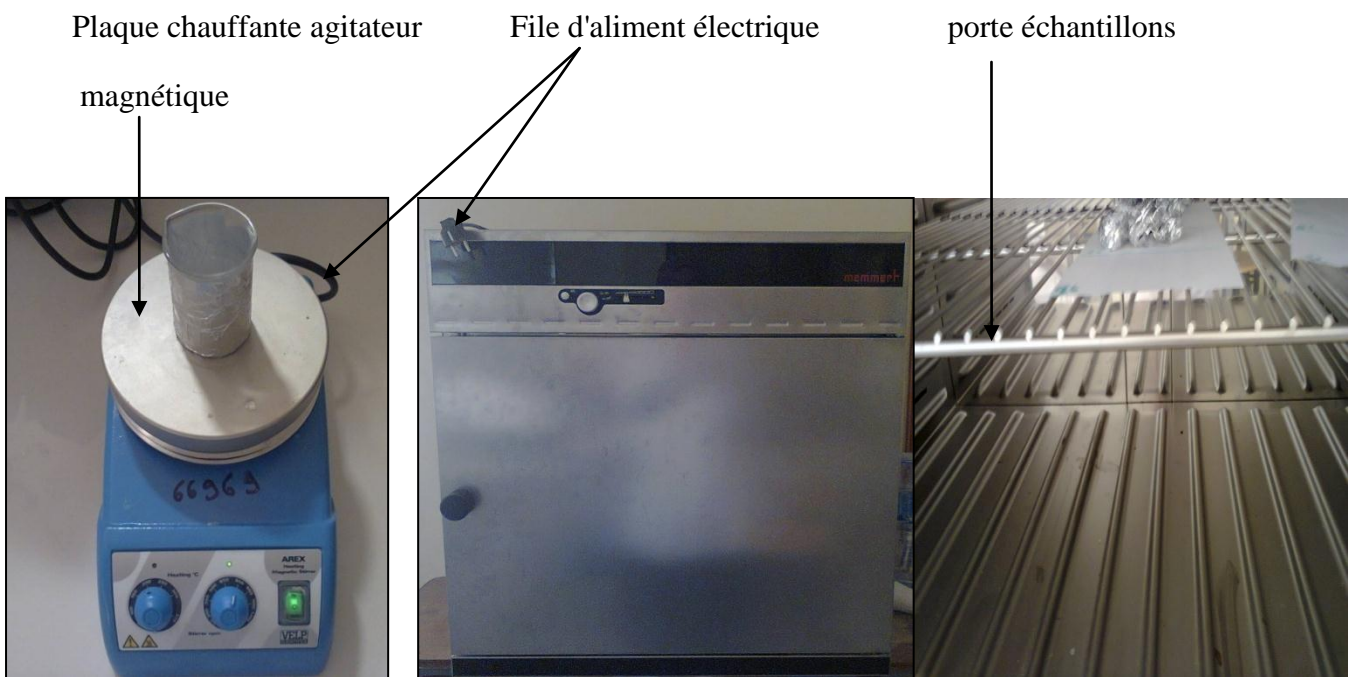


Fig22: Agitateur de type AREX (photo originale).

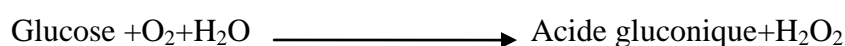
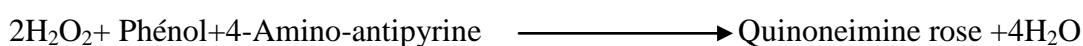
Fig23: Etuve de type MEMMERT (photo originale).

❖ **Autres matériels de laboratoire**

- | | |
|---------------------------|--------------------|
| ✓ Balance analytique. | ✓ pipette graduée. |
| ✓ Balance électrique. | ✓ Mortier. |
| ✓ Micropipette. | ✓ papier filtre. |
| ✓ Tube à essai+ portoirs. | ✓ Entonnoir. |

II. Méthodes**II.1. Méthode de dosage des paramètres hématobiochimiques****II.1.1. Méthode de dosage de la glycémie (Ann T.P., 1969)****II.1.1.1. Principe**

Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes:

Glucose oxydase**Peroxydase****II.1.1.2. Réactifs**

Réactif 1	Tampon Tris pH=7	100 m mol/l
Solution tampon	phénol	0,3 m mol/l
Réactif 2	Glucose oxydase	10 000 U/ L
Enzymes	Péroxydase	1000 U/L
	Amino-4-antipyrine	2,6 m mol/l
Réactif 3	Glucose	100 mg/dl
Standard		1g/l
		5,56 mmol/l

II.1.1.3. Préparation et stabilité

- Dissoudre le R2 dans le tampon R1.
- Protéger de la lumière.
- Stabilité du réactif de travail : 8 semaines à 20-25°C, 8 mois à 2-8°C.

II.1.1.4. Mode opératoire

- Longueur d'onde : 505 nm (490-550)
- Température : 37°C (20-25°C)
- Cuve : 1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml
Standard	--	10µl	--
Echantillon	--	--	10µl

Mélanger selon le tableau au dessus. à la suit, lire les DO après une incubation de 10 minutes à 37°C ou 30 mn à 20-25 °C la coloration est stable 30 minutes.

II.1.1.5. Calcule

$$\text{Glucose} = \frac{\text{D. O Echantillon}}{\text{D. O Standard}} \times n$$

g/l n = 1

II.1.2. Méthode de dosage des Protéines totales sériques (Tietz N.W., 1995)**II.1.2.1. Principe**

Les ions cuivriques, dans un milieu alcalin, interagissent avec les liaisons peptidiques des protéines formant un complexe bleu violet ou l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité des protéines plasmatiques.

II.1.2.2. Réactifs

Réactif de Biuret	Tartrate au sodium-potassium Iodure de sodium Iodure de potassium Sulfate de cuivre Sulfate de l'en cuivre (ii)	15 mmol/L 100 mmol/L 5 mmol/L 5 mmol/L
Etalon	Potéines totales	7 g/dl

II.1.2.3. Mode opératoires

	Blanc	Standard	Échantillon
R (ml)	1.0	1.0	1.0
Norme (µL)	--	25	--
Échantillon (µL)	--	--	25

1. Mélanger et incuber 5 minute à 37°C ou 10 min à la température ambiante.
2. Lire l'absorbance (DO) des échantillons et standard, contre le blanc à 540nm.
3. La couleur est stable pendant ou moins 30 minutes.

II.1.2.4. Calcule

$$\text{Protéines sérique} = \frac{\Delta D. O \text{ Echantillon}}{\Delta D. O \text{ Standard}} \times 7$$

(conc. standard)=g/dl de protéine totale dans l'échantillon.

II.1.3. Méthode de Dosage des protéines hépatiques (Bradford M.M., 1976)

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de Bradford M.M., 1976 qui utilise le bleu de Comassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

II.1.3.1. Préparation de la solution du bleu de Comassie

Mélangé 25 ml de méthanol (95%) et 50mg du bleu de Comassie, puis mettre la mélange sur l'agitateur pendant 2 heures et ajouté 50ml de H₃PO₄ et complète le volume jusqu'à 500ml avec d'eau distillé.

II.1.3.2. Mode d'opérateur

- Prélever 0.1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du bleu de Comassie.
- Agiter et laisser reposer 5 minutes.
- Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions.

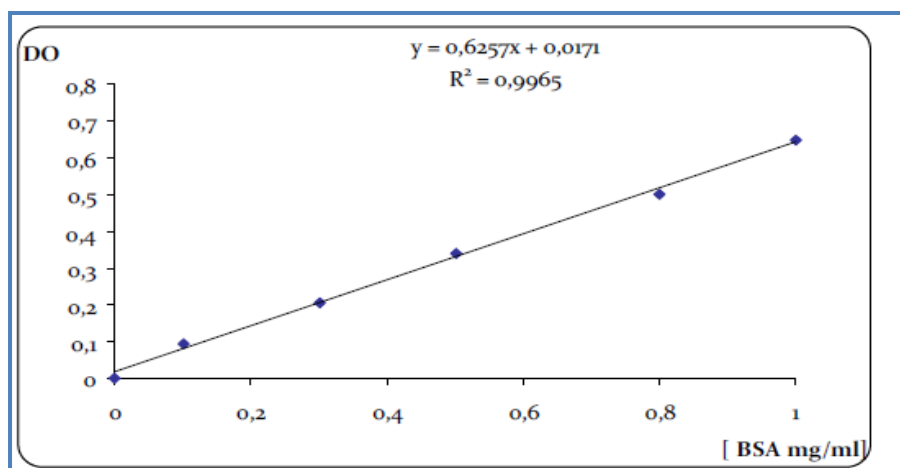
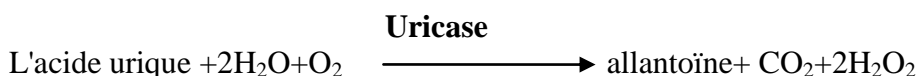


Fig24: Courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.

II.1.4. Méthode de Dosage de l'acide urique (Fossati P., 1980)

II.1.4.1.Principe

L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et de peroxyde d'hydrogène ($2H_2O_2$), ce dernier en présence de peroxydase (POD) 4-aminophenazone (4-AP) et le 2-4 dichlorophéno-sulfonâtes (DCPS) forme un composé rose.



II.1.4.2. Réactifs

R 1 tompon	Phosphate pH 7.4 2-4 dichlorophénol-sulfonate (DCPS)	50 mmol/L 4 mmol/L
R 2 Enzymes	Uricase Peroxydase (POD) Ascorbate Oxydase 4 - Aminophenazone (4-AP)	60 U/L 660 U/L 200 U/L 1 mmol/L
Étalon	d'acide urique	6 mg/dl

II.1.4.3. Préparation et stabilité

1. dissoudre le contenant du réactif R2 dans le réactif 1.
2. mélanger jusqu'à la dissolution complète. Le réactif de travail est stable pendant 01 mois à 28 °C ou 10 jours à 15-20 °C.

II.1.4.4. Échantillon: Sérum ou plasma**II.1.4.5. Mode opératoire**

	Blanc	Etalon	Échantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	--	25	--
Échantillon (µl)	--	--	25

1. Mélanger et incubé 5 minute à 37°C ou 10 à 15-25°C.
2. Lire l'absorbance (A) des échantillons et standard, contre le blanc à 520nm. La couleur est stable pendant au moins 30 minutes.

II.1.4.6. Calcule

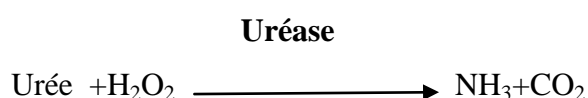
$$\frac{\Delta D. O \text{ Echantillon}}{\Delta D. O \text{ Standard}} \times 6$$

(conc. standard) = mg/dl acide urique dan l'échantillon □

Facteur de conversion: mg/dl x 59.5 = µmole/l.

II.1.5. Méthode de dosage de l'urée sérique (Kaplan A. et al., 1984)**II.1.5.1. Principe**

L'urée est dosée par méthode cinétique selon la réaction suivante:



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

II.1.5.2. Réactifs

Réactif 1	Tampon	
Réactif 2	EDTA	2mmol/l
	Salicylate de sodium	60mmol/l
	Nitroprussiate de sodium	32mmol/l
	Uréase	30000U/l
	Phosphate pH6,7	60mmol/l
Réactif 3	Etalon urée	0,50 g/l
	8.325mmol/l	
Réactif 4	hypochlorite de sodium	40mmol/l
10×[]	hydroxyde de sodium	150mmol/l

II.1.5.3. Préparation et stabilité

Le réactif 4 à compléter avec 90ml d'eau distillée. Dissoudre le flacon R2 dans le tampon R1: réactif A. Les réactifs de travail sont stables : 6 mois à 2-8°C, 14 jours à 20-25°C.

II.1.5.4. Mode opératoire

- Longueur d'onde: 590 nm.
- Température: 25, 30, 37°C.
- Cuve: 1 cm d'épaisseur.

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail A	1ml	1ml	1ml
Etalon	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl

- Mélanger selon le tableau au dessus, puis incuber 5 min à 37 °C ou 10 min à 20-25°C.
- Ajouter ensuite 1ml de Réactif 4 dans les trois tubes.
- Mélanger la solution, puis incuber 5 min à 37°C ou 10 min à 20-25 °C.
- Lire contre le blanc.
- Stabilité de la coloration 2 heures à l'abri de la lumière.

II.1.5.5. Calcule

$$\text{Urée} = \frac{\Delta D. O \text{ Echantillon}}{\Delta D. O \text{ Etalon}} \times n$$

g/l n=0.50.

II.1.6. Méthode de dosage de l'hémoglobine (Drabkin D.L. *et al.*, 1932)

II.1.6.1. Principe

Dosage de l'hémoglobine par transformation en cyanméthémoglobine sous l'action du ferricyanure de potassium et de cyanure de potassium.

II.1.6.2. Réactifs

Réactif 1	Ferricyanure de potassium	30 mmol/l
de Drabkin	Cyanure de potassium phosphore	38 mmol/l
50 fois Concentré	monopotassique	50 mmol/l
	Stérox	25 ml/l

Réactif toxique: Utiliser une pipette automatique.

II.1.6.3. Mode opératoire

❖ Solution de travail:

- Réactif concentré de Drabkin R1: 1 volume
- Eau distillée: 49 volumes
- Longueur d'onde: 540 nm.
- Zéro de l'appareil : Solution de travail.

❖ Dosage

Echantillon	20µl
Solution de travail de Drabkin	5 ml

- Homogénéiser et photomètre.
- Stabilité de la coloration: 1 heure
- (Éviter d'exposer le milieu réactionnel à une lumière trop vive).

II.1.6.4. Calcule

$$[\text{Hb}] \text{ g/l} = \text{DO échantillon} \times 376$$

II.2. Méthode de dosage des paramètres antioxydants

II.2.1. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH) hépatique

II.2.1.1. Principe

Le dosage de la concentration de glutathion est spectrophotométrique par la méthode de Weak., Cory J.G., 1988 la mesure de la densité optique résulte de la formation de l'acide 2-nitro-5 mercocapturique à partir de la réduction de l'acide dithio-bis2-nitrobenzoïque ce qu'on appelle réactif de d'Ellman avec les groupements SH existent dans le GSH.

II.2.1.2. L'échantillon: Le foie.

II.2.1.3. Les Réactifs

Solution1 : Solution tampon de tris (0.4 mol) + EDTA (0.02 mol).

Dissoudre 12.114g de tris et 1.8612 d'EDTA dans 250 ml de l'eau distillé (ph=9.6).

Solution2 : Solution acide salicylique (0.25%).

Dissoudre 0.25g de poudre d'acide salicylique dans 100ml d'eau distillé

Solution3 : Solution DTNB (0.01mol).

Dissoudre 79 mg de poudre dans 20ml de méthanol.

II.2.1.4. Mode opératoire

- Peser 250mg de tissus hépatique.
- Broyer le tissu avec 10 ml d'EDTA à (0.02mol) jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.
- Prendre 0.8 ml de solution homogène et 0.2ml de l'acide salicylique (0.25%) solution2.
- Mélanger avec l'agitateur et laisser 15 minute dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5 minutes et le surnagent utiliser pour le dosage de glutathion comme suite.

✓ **Mélanger:**

- 0.5 ml de surnagent.
- 1ml de solution tampon tris avec 0.02 EDTA solution 1.
- 0.025 ml de DTNB (0.01mol) méthanol solution 3.

Laisser le mélange 5min de température de chambre puis lire l'absorbance avec spectrophotomètre d'absorption moléculaire à 412 nm contre le blanc (eau distillé).

II.2.1.5. Calcule

$$(\text{GSH})(\text{nM/mg de prot}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \text{ xmg de protéine}}$$

13133: constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.

DO: la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

1.525ml: volume total de mélange.

0.5ml: volume de solution surnagent.

1: volume de mélange de protéine.

0.8ml: volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.

(GSH): concentration de glutathion.

II.2.2. Mesure de l'activité du glutathion peroxydase (GPx) hépatique

II.2.2.1. Principe

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe., Gunzler 1984. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante (Pinto R.E., Bartley W., 1969):



II.2.2.2. Mode opératoire

- Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant).
- Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
- Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- Ajouter 0.2ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- Prélever 0.48 ml du surnageant.
- Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS.
- Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM).
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

II.2.2.3. Calcule

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante:

$$\text{GPx } (\mu\text{mol GSH/mg protéine}) = \frac{\text{DO échantillon} \times \text{DO étalon} \times 0.04}{\text{DO étalon}}$$

- DO échantillon: Densité optique de l'échantillon.
- DO étalon: Densité optique de l'étalon.
- 0.04: Concentration de substrat (GSH).

III. Méthode d'analyse statistique

L'évaluation statistique est effectuée par le test T de student et test de corrélation. Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types (ES) pour 10 rats répartie en deux groupes diabétique et groupe non diabétique, n=5.

Alors, on utilise des logiciels **MINITAB** et **EXCEL** qui nous aident pour faire les tests.

NS : Différence / corrélation non significative $P > 0.05$.

* : Différence / corrélation significative $p < \alpha = 0.05$.

** : Différences / corrélation hautement significative $p < \alpha = 0.01$.

***: Différences / corrélation très hautement significative $p < \alpha = 0.001$.

CHAPITRE II

Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. L'effet du diabète sur l'humidité des organes et l'évolution du poids corporelle chez les rats.

Tableau 02: Effet de diabète sur l'humidité (%) des organes (foie, reins, pancréas) chez les rats.

Les lots	Les organes	Poids frais	Poids sec	Humidité%
		Moyenne ±Es	Moyenne ±Es	Moyenne ±Es
Lot normal	foie	3.16±0.24	1.12 ±0.15	65.03 ±2.18
	rein	0.38±0.06	0.15±0.03	55.0 ±11.3
	pancréas	1.76±0.27	0.63±0.16	63.03±6.94
Lot diabétique	foie	2.96±0.48	1.59±0.31	47.09 ±2.75**
	rein	0.59±0.04	0.18±0.01	69.38 ±2.52 ^{Ns}
	pancréas	1.43 ±0.15	0.33±0.048	77.13 ±1.46 ^{Ns}

Tableau 03: Poids initiale (g) et l'évolution du poids corporelle (g) chez les rats diabétiques et Normaux.

Paramètre	Lot normal	Lot diabétique
	Moyenne± Es	Moyenne± Es
Poids initial	207.4± 13.1	229.8± 12.3
évolution du poids	22.4±2.75	15±8.73

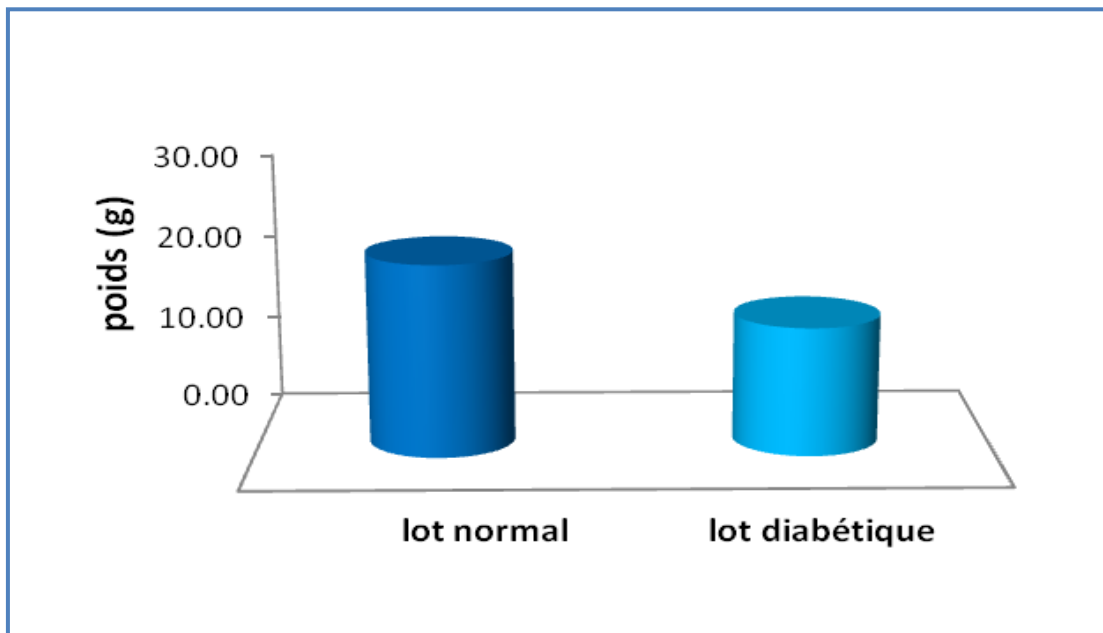
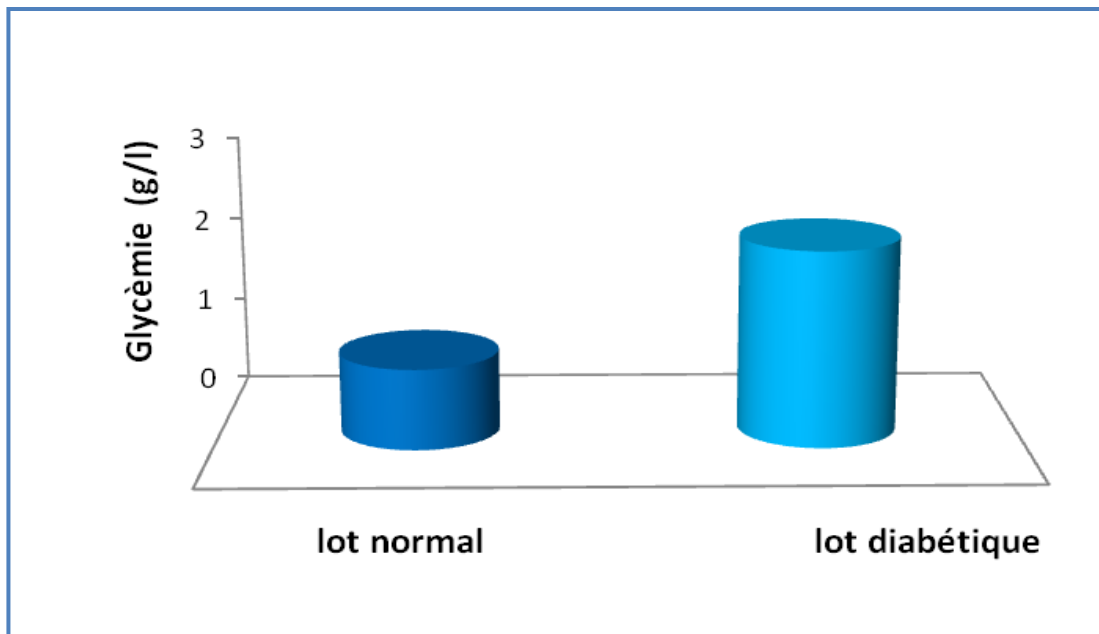


Fig25: Effet de diabète sur l'évolution du poids corporelle (g) chez les rats.

L'analyse statistique de la différence entre les résultats (**Tableau 03** et **figure 25**) présente une diminution d'évolution du poids corporelle mais non significative chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux.

I.2. L'effet du diabète sur des paramètres hémato-biochimiques chez les rats.**Tableau 04:** La concentration de Glycémie (g/l) chez les rats diabétiques et normaux

Paramètre	Lot normal	Lot diabétique
	Moyenne± Es	Moyenne± Es
Glycémie	0.93± 0.05	2.26±0.13***

**Fig26:** Effet de diabète sur la concentration de Glycémie (g/l) chez les rats.

Notre résultats (**Tableau 04 et figure 26**) montrent que la concentration de la glycémie (g/l) est augmentée de façon très hautement significatif ($p < 0.001$) chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux.

Tableau 05: La concentration de Protéines totales sérique (g/dl) chez les rats diabétiques et normaux.

Paramètre	Lot normal	Lot diabétique
	Moyenne± Es	Moyenne± Es
Protéines sériques	8.11±0.46	6.45±0.09*

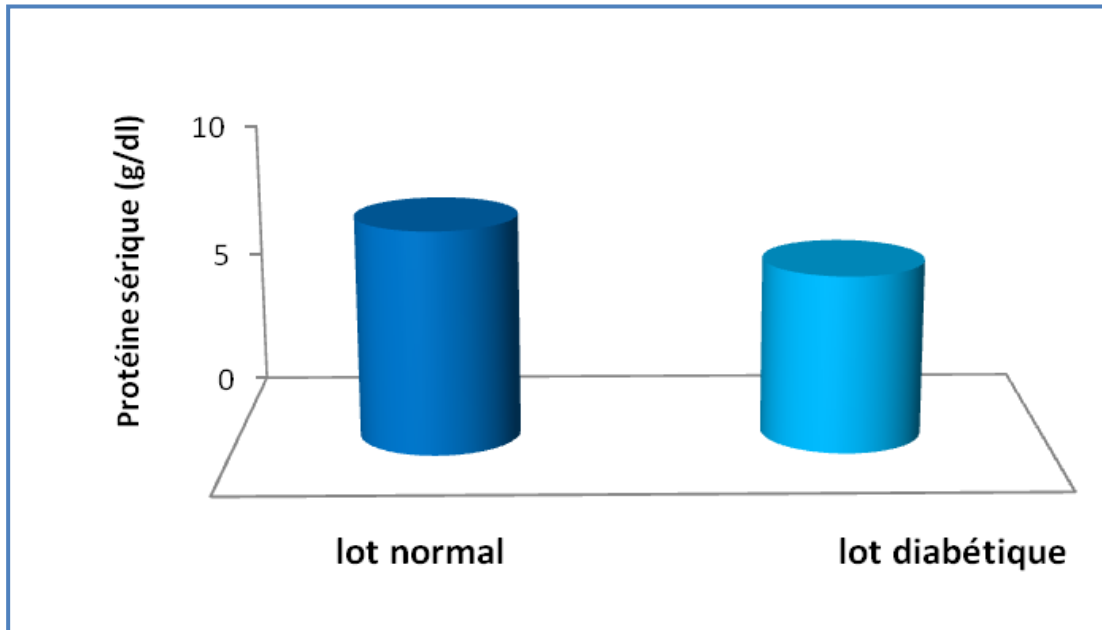


Fig27: Effet de diabète sur la concentration des protéines sériques (g/dl) chez les rats

On a marquée d'après nos résultats (**Tableau 05 et figure27**) une diminution de façon significatif ($p < 0.05$) de la concentration des protéines sériques (g/dl) chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins.

Tableau 06: La concentration des Protéines hépatiques (mg/g tissus) chez les rats diabétiques et normaux.

Paramètre	Lot normal	Lot diabétique
	Moyenne± Es	Moyenne± Es
Protéines hépatiques	26.93±1.07	22.60± 0.11***

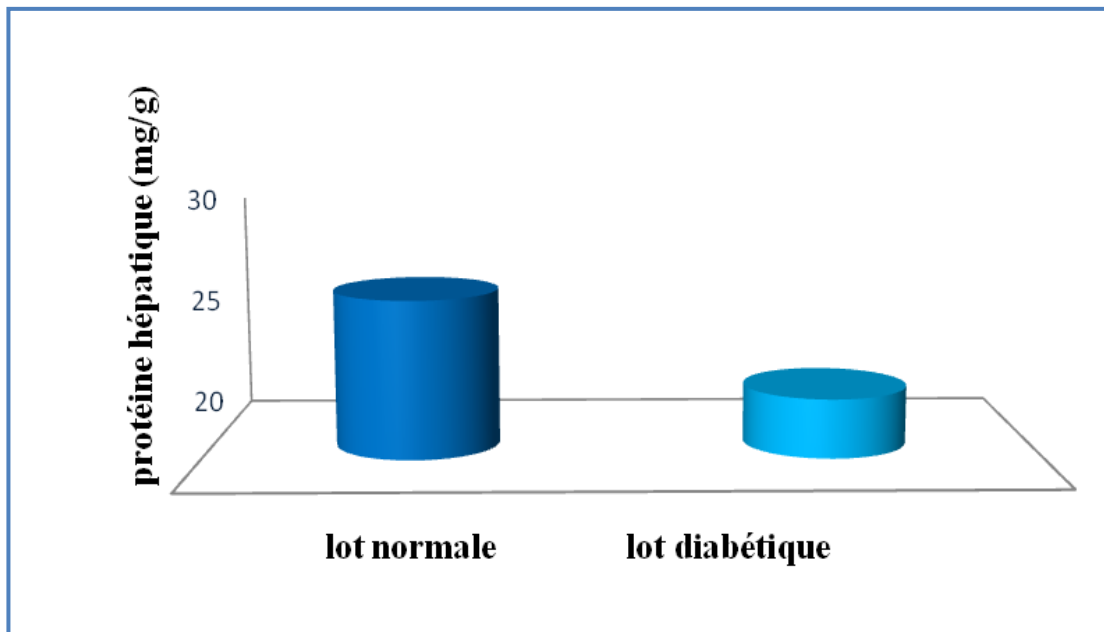


Fig28: Effet de diabète sur la concentration des Protéines hépatiques (mg/g tissus) chez les rats.

Notre résultats (**Tableau 06 et figure28**) montrent la concentration des Protéines hépatiques (mg/g) est diminuée de façon Très hautement significatif ($p < 0.001$) chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux.

Tableau 07: La concentration de l'acide urique (mg/dl) chez les rats diabétiques et normaux.

Paramètre	Lot normal	Lot diabétique
	Moyenne± Es	Moyenne± Es
Acide urique	5.03±0.62	10.42±0.73**

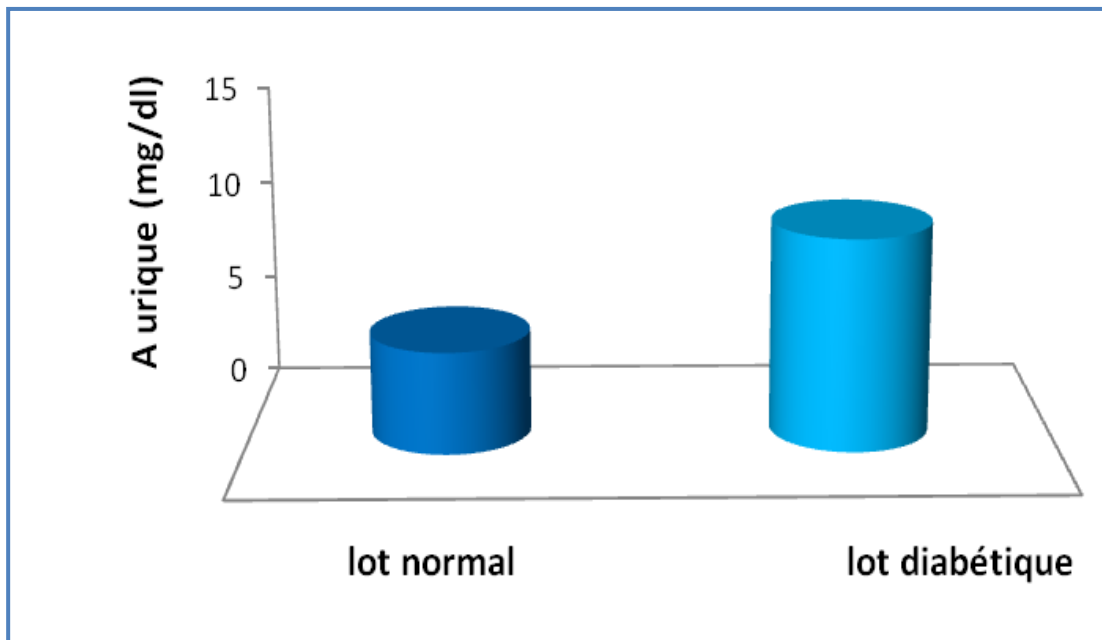
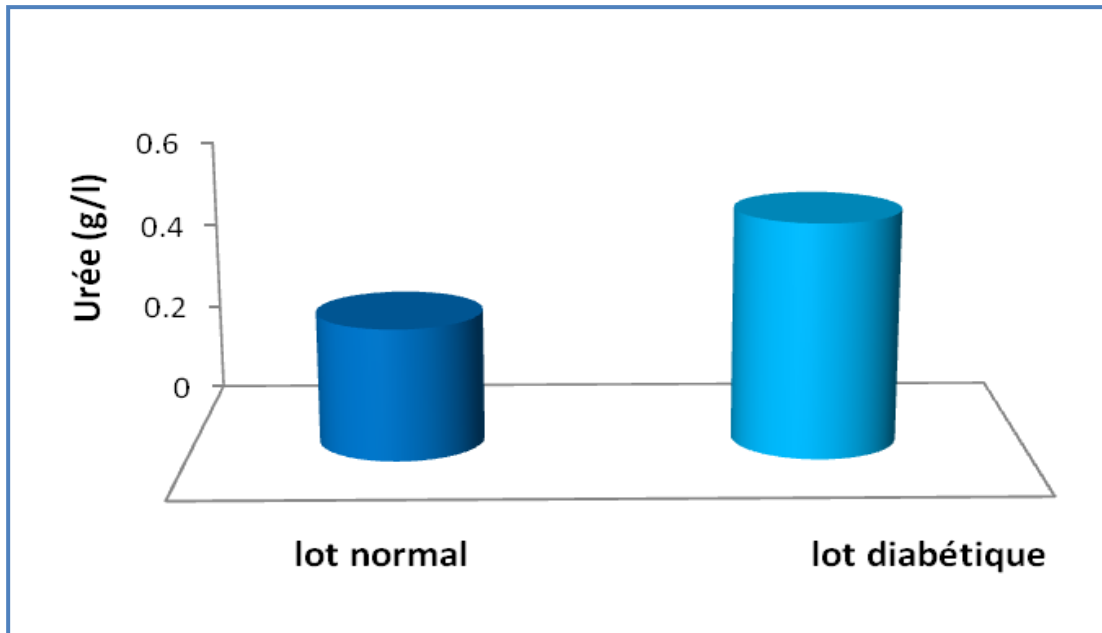


Fig29: Effet de diabète sur la concentration d'acide urique (mg/dl) chez les rats.

Notre résultats (**Tableau 07 et figure29**) montrent une augmentation de façon hautement significative ($p < 0.01$) de la concentration d'acide urique chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins.

Tableau 08: La concentration de l'urée (g/l) chez les rats diabétiques et normaux.

Paramètre	Lot normal	Lot diabétique
	Moyenne± Es	Moyenne± Es
Urée	0.29±0.05	0.52± 0.04*

**Fig30:** Effet de diabète sur la concentration de l'urée (g/l) chez les rats.

Ces résultats (**Tableau 08 et figure 30**) illustrent une augmentation de façon significative ($p < 0.05$) de la concentration de l'urée chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux.

Tableau 09: La concentration de l'hémoglobine (g/l) chez les rats diabétiques et normaux.

Paramètre	Lot normal	Lot diabétique
	Moyenne± Es	Moyenne± Es
Hémoglobine	156.94 ± 8.08	125.32± 3.85*

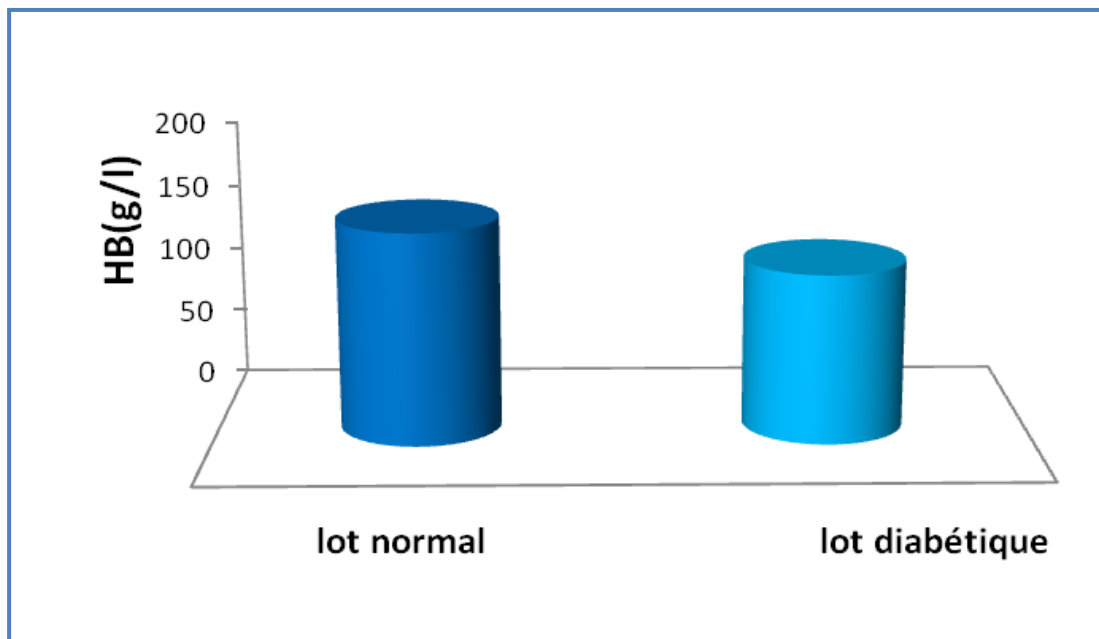


Fig31: Effet de diabète sur la concentration de l'hémoglobine (g/l) chez les rats.

Nos résultats (**Tableau 09 et figure 31**) présentent une diminution significative ($p < 0.05$) de la concentration d'hémoglobine chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins.

I.3. Etude de la Corrélation entre la variation de la concentration des protéines (sériques et hépatiques) et la concentration de l'urée chez les rats diabétiques

Tableau 10: Coefficients de la corrélation entre les protéines sériques et l'urée chez les rats diabétiques.

Corrélation	Coefficient
Protéine sérique/ urée	R= - 0,537 ^{NS}



Fig32: Corrélation entre la variation de concentration des protéine sérique et la concentration de l'urée chez les rats diabétiques.

Notre résultats (**Tableau 10 et figure 32**) montrent une corrélation négative mais pas significative ($p > 0.05$) entre la variation de concentration des protéines sériques et la concentration de l'urée chez les rats diabétiques.

Tableau11: Coefficients de la corrélation entre les protéines hépatiques et l'urée chez les rats diabétiques.

Corrélation	Coefficient
Protéine hépatique / urée	R= -0,012 ^{NS}

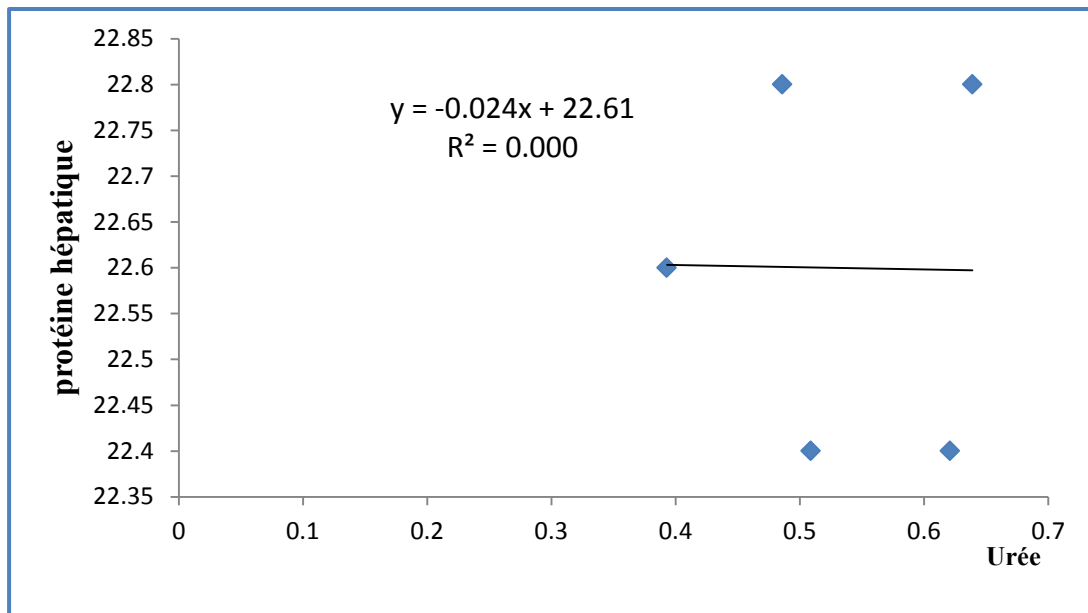


Fig33: Corrélation entre la variation de concentration des protéines hépatiques et la concentration de l'urée chez les rats diabétiques

Notre résultats (**Tableau 11 et figure 33**) montrent une corrélation négative mais pas significative ($p > 0.05$) entre la variation de concentration des protéines hépatiques et la concentration de l'urée chez les rats diabétiques.

I.4. Effet du diabète sur des paramètres antioxydants

Tableau 12: La concentration de GSH hépatique (nM/mg protéine) chez les rats diabétiques et normaux.

Paramètre	Lot normal	Lot diabétique
	Moyenne± Es	Moyenne± Es
GSH hépatique	55.37 ± 2.14	46.20 ± 1.46 **

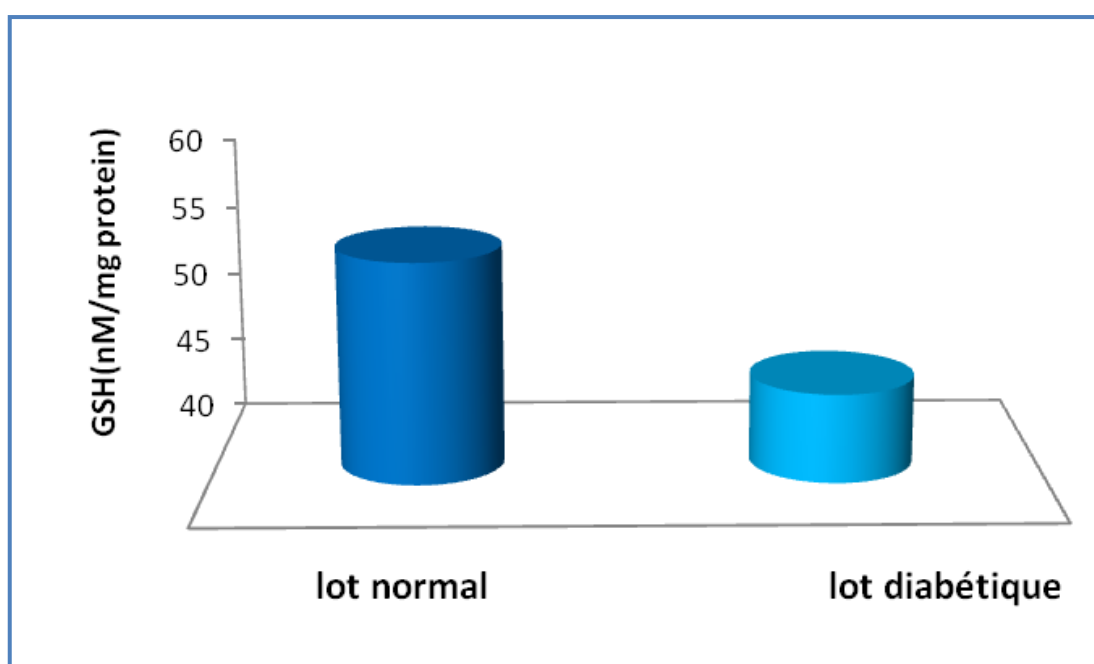


Fig34: Effet de diabète sur la concentration de GSH hépatique (nM/mg protéine) chez les rats.

Les résultats (**Tableau 10 et figure 34**) illustrent que la concentration de glutathion (GSH) hépatique est diminuée de façon hautement significatif ($p < 0.01$) chez les rats diabétique par rapport aux rats normaux.

Tableau 13: L'activité de glutathion peroxydase hépatique (mUI/g protéines) chez les rats diabétiques et normaux.

Paramètre	Lot normal	Lot diabétique
	Moyenne± Es	Moyenne± Es
GPx hépatique	34.08±1.77	43.82±1.73*

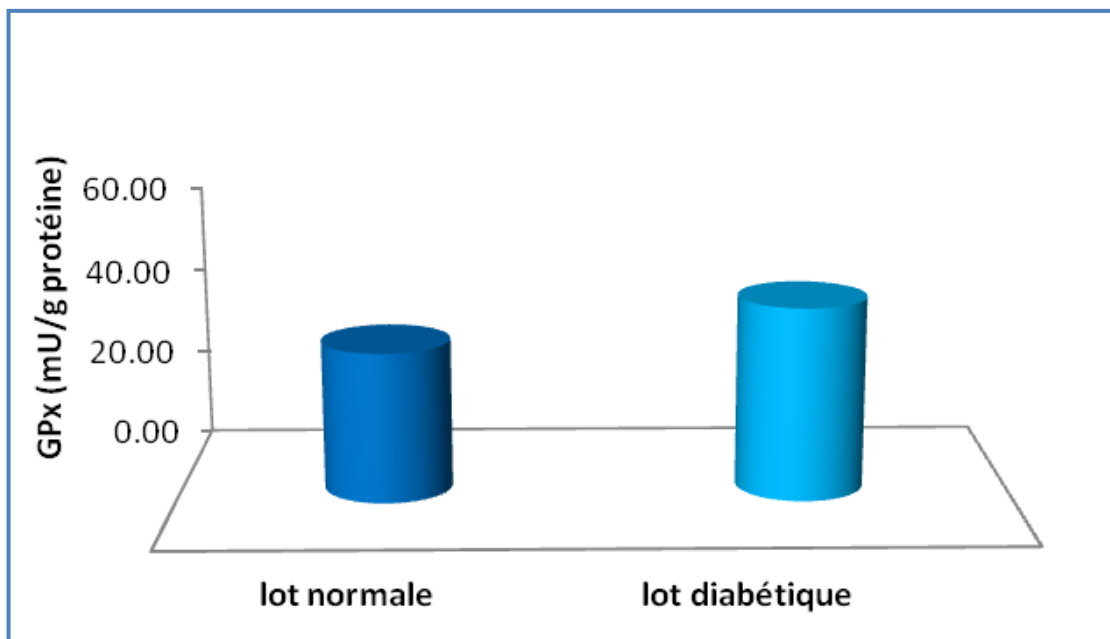


Fig35: Effet de diabète sur l'activité de GPx hépatique (mU/g protéines) chez les rats.

D'après nos résultats (**Tableau 11et figure 35**) on note que l'activité de glutathion peroxydase (GPx) hépatique est augmentée de façon significative ($p<0.05$) chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux.

II. Discussion

Le diabète sucré est un syndrome métabolique chronique résultant d'une Variété d'interactions entre des facteurs héréditaires et environnementaux. Il est caractérisé par une perturbation de la sécrétion de l'insuline ou de l'action des récepteurs ou des postrécepteurs de l'insuline ce qui affecte, par conséquent, le métabolisme des carbohydrates et des protéines (**Boynes J.W., 1991**).

Le but de cette étude est de mettre en évidence l'effet du diabète sur la synthèse protéiques d'une part, et d'autre part sur le statut antioxydant, chez les rats de type Wistar Albinos rendus diabétiques par injection d'Alloxane.

L'Alloxane est un agent oxydant fort excentre une activité cytotoxique (**Grankvist K. et al., 1981**), capable d'induire un diabète insulino dépendant de type 1 par destruction des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (**Szkudelski T., 2001**).

Dans cette étude les rats rendus diabétique par l'injection d'une dose de 150 mg/kg d'Alloxane (**Awadallah R., 1977**).

Cet effet est expliqué par la cytotoxicité d'Alloxane aux cellules β de Langerhans pancréatique par l'injection intra péritonéale (**Diatewa M. et al., 2004**), Il établit un cycle d'oxydoréduction et détruire rapidement les cellules β (**Ammon H.P. et al., 1983**).

Après trois semaines de traitement, on a signalé une diminution de poids corporel mais pas significatif. On peut être expliquée cette perte du poids corporel chez les rats diabétiques probablement par l'augmentation du catabolisme des lipides et des protéines dûe par le manque des carbohydrates utilisées comme source d'énergie (**Bouldjadj R., 2009**). L'étude de (**Pari L., Latha M., 2005**) ont constaté que, chez des rats mâles Wistar albinos, l'injection de la streptozotocine (STZ) par voie orale provoquait en trois semaines une diminution significative de poids corporel.

Le diabète qui est provoqué dans notre étude chez les rats induit une diminution remarquable d'humidité dans les cellules hépatique. Probablement, on expliqué cette diminution lorsque l'osmolalité sont modérément élevées. D'une part, elle est la conséquence d'une carence aigue en insuline, à laquelle s'ajoute une élévation de la production de glucagon (**Pourriat J. L. et al., 2005**). L'hyperglycémie augmente l'osmolarité des liquides extracellulaires, elle attire ainsi l'eau du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire entraînant une déshydratation intracellulaire (**Leguerrier A.M., 2012**). De plus,

l'accumulation de sorbitol qui issue de voie polyols induit un stress osmotique provoque la baisse de l'entrée dans les cellules d'osmolytes physiologiques dont la myo-inositol et la taurine (**Mohora. et al., 2007**).

Dans notre étude, on a trouvé une augmentation bien remarquable de taux de glycémies chez les rats diabétique. On peut expliquer ce résultat par une carence aiguë en insuline (**Benahmed M., 2011**), que l'insuline stimule les voies métaboliques responsables de l'augmentation de l'utilisation du glucose et du stockage des glucides à laquelle s'ajoute une élévation de la production de glucagon (**Sherwood L., 2006**). Ce déséquilibre hormonal s'accompagne d'une augmentation de production et d'une diminution de l'utilisation périphérique du glucose. Au cours des états d'agression, les hormones hyperglycémiantes de contre-régulation (catécholamines, cortisol, hormone de croissance, hormone thyroïdiennes) jouent un rôle important (**Pourriat J.L., Martin C., 2005**).

Nos résultats montrent une diminution claire des protéines sériques et hépatiques ceci peut être interprété par un déficit en insuline (**Potemkine V., 1989**). Par le mécanisme suivant: l'insuline plasmatique, l'IGF-1 et l'apport en acides aminés agissent sur plusieurs circuits d'enzymes de régulation du type phosphatase ou kinase qui réactivent des facteurs de régulation de la synthèse protéique (mTOR, MEF2, NFAT, PGC-1 α). la traduction des ARNm est ainsi activée via les facteurs d'élongation eEF4, 4E-BP1, favorisant une synthèse protéique. Donc, la diminution de la synthèse protéique probablement due de l'insulinopénie qui agit sur différents facteurs (**Poortmans J.R., Boisseau N., 2009**).

Au cours du diabète, les cellules doivent trouver un autre substrat biologique pour produire de l'énergie. Elles vont alors utiliser les acides gras et les acides aminés glycoformateurs (**Auberval N., 2010**). Ainsi, les acides aminés peuvent être formés des glucides par gluconéogenèse qui est intensifiée considérablement, ces derniers vraisemblablement déclinent la synthèse protéiques (**Moller N., Nair K.S., 2008**).

Les constituants azotés ou non protéiques sont au nombre d'une quinzaine environ dans le sérum, mais en pratique courante, seul quatre d'entre eux sont d'une importance capitale en néphrologie: l'urée, l'acide urique, la créatinine et l'ammoniaque (**Boubchir M.A., 2002**). Pour la présente étude, on s'intéresse aux deux premiers paramètres.

La synthèse protéique se fait à partir l'opération de transcription d'ADN de gène en ARNm, ces dernier contient des nucléotides à bases purique et des nucléotides à bases pyrimidique dans leur structure (**Audigie C.L., Zonszain F., 1995**). Ces nucléotides sont les substrats de la synthèse des acides nucléiques et de divers coenzymes (**Raisonnier A., 2004**). L'acide urique est le produit final de la dégradation des bases puriques (**Ganong W., 2005**) et les acides nucléique constitutifs de l'ADN et de l'ARN(**Gal M., 2010**). Dans notre étude on a signalé une augmentation de la concentration d'acide urique, on peut expliquer cette augmentation soit par la production accélérée de l'acide urique, soit par la diminution de sa sécrétion (**Modan M. et al., 1987**).

Autrement, le taux élevé de l'acide urique circulant, peut être interprété lors d'une lésion cellulaire, une dégradation rapide des acides nucléiques libérant en grande quantité des purines qui seront par la suite transformées en acide urique est observée (**Chebbabi R., 2012**). Cette explication peut être confirmer par la diminution de concentration de protéine qui existe dans nos résultats.

L'urée est le produit final ultime du catabolisme des protéines dans le corps, est excrétée par les reins (**Brunner L.S., Suddarth D.S., 2006**). Pour la présente étude, une accumulation remarquable de l'urée a été notée dans le diabète expérimental, Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par (**Almdal T.P. et al., 1986**) qui ont constaté que, chez des rats Wistar, l'injection de 75 mg/kg de la streptozotocine (STZ) provoquait en deux semaines une augmentation de l'urée. Ça peut être expliqué soit par la dégradation accélérée des protéines (**Brunner L.S. et al., 2006**), soit par la transformation de protéine en glucide (**Potemkine V., 1989**), ou par l'altération de l'homéostasie du nitrogène qui conduit à l'augmentation de l'élimination hépatique du nitrogène sous forme d'urée. Donc, la balance négative observée du nitrogène peut être partiellement causée par les changements qu'ont subis les hépatocytes. Ces résultats en accord avec l'étude de (**Almdal T.P. et al., 1986**). La corrélation entre la variation de la concentration des protéines sériques et hépatiques et la concentration de l'urée, peut être confirmé l'augmentation de l'urée par la diminution des protéines. Malgré, cette corrélation n'est pas significative.

Dans nos résultats on a observé une diminution de la concentration d'hémoglobine. Probablement cette diminution résulte d'une dégradation ou perturbation de leur synthèse, car l'hémoglobine est une molécule comprend 4 chaîne de globine et 4 molécule de l'hème (**Bernanrd J. et al., 1981**). La synthèse de la globine elle se fait selon du schéma générale de la synthèse des protéines (**Coujard R., Poirier J., 1980**).

Nos résultats de l'effet de diabète sur le système glutathion montrent une baisse de la concentration de GSH qui est en corrélation avec l'hyperglycémie, entraînant une élévation du stress oxydatif par l'intermédiaire de la formation des ERO (**Benammar C.E., 2011**), à partir des nombreuses voies, tels que l'autoxydation de glucose, la voie des polyols (**Prakasam A. et al., 2005**) et la glycation des protéines (**Ramasamy R. et al., 2006**) ce dernier est résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines, Cette liaison donne naissance à des produits dits d'Amadori qui présentent la particularité de posséder un groupement cétole (fonction cétole et fonction alcool secondaire portées par deux carbones adjacents). Cette fonction cétole peut, en présence de métaux de transition, céder un électron à l'oxygène moléculaire, conduisant à la formation d'anions superoxyde (**Delattre J. et al., 1999**). De plus, l'élévation de la concentration de glucose peut entraîner une augmentation de l'oxydation GSH ainsi qu'une diminution de sa régénération (**Baynes J.W., Thorpe S.R., 1999**). Ces résultats sont en accord avec ceux apportés par (**Prakasam A. et al., 2005**) qui ont constaté que, chez des rats mâles Wistar, l'injection de la streptozotocine (STZ) provoquait une diminution de glutathion (GSH). On peut aussi expliquer cette diminution d'une part, par un accroissement de son utilisation par les cellules hépatiques, et d'autre part, par une diminution de la synthèse du GSH ou une augmentation de sa dégradation au cours du stress oxydant causé par le diabète (**Loven D. et al., 1986**). Dans le diabète, lorsque le taux du glucose augmente, l'héxokinase est alors saturée et le glucose en excès est en partie métabolisé par la voie des polyols dans les tissus insulino-indépendants. L'aldose réductase, réduit le glucose en sorbitol en utilisant comme cofacteur le NADPH, H⁺ provenant de la voie des pentose-phosphates et qui sera oxydée en NADP⁺. L'expression de cette enzyme semble augmentée dans le diabète (**Yabe-Nishimura., 1998**). Puis le sorbitol déshydrogénase oxyde une partie du sorbitol formé en fructose en utilisant comme cofacteur NAD⁺. L'activation de la voie des polyols induit également une altération du potentiel redox des cellules. La formation du sorbitol s'accompagne d'une baisse des ressources en NADPH au détriment d'autres réactions qui nécessitent également ce cofacteur. Parmi lequel la glutathion réductase requiert des niveaux élevés de NADPH pour réduire le glutathion oxydé (GSSG) et restaurer ainsi les niveaux endogènes du glutathion réduit (GSH). La diminution en NADPH entrave le cycle redox de régénération de GSH et aboutit ainsi à la génération du stress oxydant dans de nombreux tissus et contribue ainsi à la pathogenèse des complications diabétiques (**Bravi M.C. et al., 1997**).

Dans notre résultat on a signalé une augmentation de l'activité de la GSH-Px dans les cellules de foie des rats diabétiques, On peut expliquer cette augmentation probablement par l'effet de ce derniers comme un protecteur de ces cellule contre le stress oxydatif qui induit par l'hyperglycémie (**Tanaka Y. et al., 2002**). Ces enzymes capables de réduire des composés hydroperoxides en leurs composés hydroxyles correspondants en utilisant du glutathion ou des agents réducteurs équivalents comme Co-substrats (**Bouldjadj R., 2009**), et comme donneur d'électron (**Chaborry E., 2009**). L'augmentation de l'activité de GPx est en accord. Avec la régulation de la diminution de glutathion qui est une substance de cette enzyme. Autrement, Au cours du diabète, il y a non seulement une augmentation des radicaux libres mais en plus une altération des défenses. Probablement, ceci due à la glycation des enzymes antioxydants en particulièrement glutathion peroxydase, et à la perturbation de la concentration de leurs cofacteurs (Zn, Se, Cu) (**Strain J., 1991**).

Conclusion

La présente étude est réalisée pour visualiser l'effet de diabète sur la synthèse protéique, alors sur le taux générale des protéines tissulaire et plasmatique et aussi l'évaluation de l'activité de système glutathion chez les diabétiques.

Les résultats obtenus ont montré clairement que l'Alloxane à dose 150mg/kg induit chez les rats un diabète caractérisé par une augmentation bien plus élevée de taux de la glycémie dans le sang qui conduisent à la déshydratation des cellules hépatiques d'une part, et d'autre part par une perte de poids corporel.

Autrement, ces résultats montrent que le diabète est un facteur pathologique agit négativement sur l'activité de la synthèse protéique, en diminuant la concentration des protéines tissulaire et plasmatique, et favorise leur dégradation, ce qui permet d'apparition un risque de complication en plusieurs maladies comme les cirrhoses.

De plus, nous observons aussi d'après notre résultat que le diabète entrainé à une augmentation bien défini de la concentration de l'urée et l'acide urique qui augment le risque de complication de ce diabète en autres maladies comme la goutte et néphropathique.

Dans la deuxième partie de notre étude, nous avons évalué l'activité antioxydant de système glutathion au cours de diabète, en effet la diminution de la concentration du glutathion réduit (GSH) et l'augmentation de l'activité de glutathion peroxydase (GPx) dans le foie montrent clairement l'effet perturbateur de diabète de ces paramètres sous l'action d'une augmentation de stress oxydatif caractérisant de cette cas pathologique.

Au vu de ce travail, nous pouvons confirmer l'effet de diabète comme un facteur perturbateur agissant en particulièrement sur la synthèse des protéines ce qui induit un déséquilibre dans le développement de l'organisme. De plus, le diabète affecte négativement l'activité de système antioxydant, donc réduire leur effet bénéfique sur les différent statut. Cette étude a pour nous d'ouvrir dans les futurs grands domaines de recherche et l'exploration en particulier en ce qui concerne l'activité des enzymes et donc des différentes réactions dans le corps chez les patients atteints de diabète.

Résumé

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune grave, liée à la destruction des cellules β pancréatiques d'où une insulinopénie, cette maladie peut entraîner à moyen et à long terme plusieurs maladies (complications). L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de diabète sur la synthèse protéique et l'évaluation de l'activité de système antioxydant au cours de l'état de stress oxydatif. Notre expérimentation a été réalisée chez des rats Wistar Albinos âgés de 10 semaines ont été divisés en deux groupes. Le premier groupe rendu diabétique par l'injection d'une dose 150mg/Kg d'Alloxane, et le deuxième groupe les témoins. Le gain de poids corporel de tous les rats a été enregistré régulièrement pendant 21 jours. Après cette période, nous avons dosé quelques paramètres hématobiochimiques et antioxydatifs sériques et hépatique chez les rats.

Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que l'Alloxane (150mg/kg) induit chez l'animal un diabète caractérisé par une diminution de la prise de poids (33.03%) et une augmentation bien plus élevée du taux de la glycémie (142.18%). Les résultats obtenus montrent aussi une diminution de la concentration des protéines sériques (20.45%), protéines hépatiques (16.07%) et de l'hémoglobine (20.14%) chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins, par contre et d'après nos résultats le diabète induit une augmentation significatif de la concentration sérique de l'urée (77.12%) et de l'acide urique (107.42%) chez les rats. D'autre part, le diabète a également entraîné une augmentation de l'activité de glutathion peroxydase (28.57%) avec une baisse de la concentration de glutathion réduit (16.56%) chez les rats. En conclusion, la présente étude révèle que le diabète a un effet négatif sur le métabolisme général notamment sur la synthèse protéique et sur l'activité de système antioxydant ce qui permet le développement des complications associées au diabète. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les protéines endommagées notamment les enzymes et les réactions biochimique affectés pour donner avec précision à la fin les mécanismes d'obtenir une réduction possible des complications diabétiques.

Mots clés: Diabète, Alloxane, Protéines, Stress oxydant, Glutathion peroxydases, Glutathion réduit.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Alajati K.S., Hakawati I et Kubab N. (2006).** Guide des examens biologiques. Ed. Lamarre, Paris. 543p.
2. **Benhaddou A.A. (2009).** Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa* sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse doctorat: Pharmacologie. Montréal: UDM. 249p.
3. **Alkalaeva E.Z., Pisarev A.V., Frolova L.Y., Kisselev L.L et Pestova T.V. (2006).** In vitro reconstitution of eukaryotic translation reveals cooperativity between release factors eRF1 and eRF3. Vol. 125 (2): 1125-1136. Cité par Charbonneau J. (2012).
4. **Almdal T.P., Petersen K.F., Hanses B.A et Vilstrup H. (1986).** Increased capacity of urea synthesis in STZ diabetes in rats. *Diabetologia*. Vol. 29 (6):812-6. cité par Boumaza A. (2009).
5. **Amiour D. (2009).** Etude Quantitative des Composés Phenoliques des Extraits de Trois Variétés de Dattes (*Phoenix dactylifera* L) et Evaluation in Vitro de LEUR Activite Biologique. Thèse magister: Biochimie appliqué. Batna: UHL. 159p.
6. **Ammon H.P., Hagele R et Youssif N. (1983).** A possible role of intracellulaire and membrane thiols of rat pancreatic islets in calcium uptake and insulin release. *Endocrinology*. vol.112 (10): 720-6. Cité par Kebieche M. (2009).
7. **Andaloussi A.B. (2009).** Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa*: sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse doctorat: pharmacologie. Montréal: UM. 249p.
8. **Ann T.P. (1969).** *Clin Biochem*. vol. 6 (1): 24-33. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 41010.
9. **Arbouche L.Z. (2007).** Les effets du traitement substitutif post ménopausique chez la diabétique de type 2, sur le métabolisme des lipoprotéines et le métabolisme glucidique. Thèse doctorat: science médicale. Alger: UDA. 241p.
10. **Astrid P.M., Hebuterne X. (2007).** Nutrition en pathologie digestive. Ed. Doin Editeurs, Paris. 420p.
11. **Atta N.F., El-Kady M.F. (2010).** Novel poly (3-methylthiophene)/Pd, Pt nanoparticle sensor: Synthesis, characterization and its application to the simultaneous analysis of dopamine and ascorbic acid in biological fluids. *Sens. Actuators B*. vol. 145(5): 299-310. Cité par Sekli-belaidi F. (2011).
12. **Attia M. (2008).** Gestion du diabète au travail. Thèse doctorat: médecine. Paris: UPD. 163 p.
13. **Auberval N. (2010).** prévention de stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse doctorat: physiologie et biologie des organismes-populations-interaction. Strasbourg: UDS. 244p.
14. **Audigé C., Zonszain F. (1991).** Biochimie structurale. Ed. Wolters Kluwer, France. 266p.
15. **Audigé C.L., Zonszain F. (1995).** Biochimie métabolique. Ed. Doin, France. 259p.
16. **Awadallah R., Dessoukey E.A. (1977).** Serum enzymes changes in experimental diabetes before and after treatment with some hypoglycemic drug. *Z. Ernährungs-wiss.* vol. 16 (6):235-240.
17. **Ayoub M.H. (2011).** Caractérisation électrochimique de matériaux d'électrodes d'un dispositif capteur pour le diagnostic clinique du dysfonctionnement sudomoteur. Thèse doctorat: Génie des procédés et technologies avancées. Paris: UPMC. 158p.

18. **Badeau M. (2006).** Effets d'un Antioxydant, le Tempol sur les Actions Métaboliques et Vasculaires de l'insuline chez le Rat Insulinorésistant avec un Surplus de Poids. Effets de l'insuline sur le transport du glucose dans le muscle squelettique, la réactivité vasculaire, l'expression des protéines eNOS, le stress oxydatif et les effets hémodynamiques régionaux. Thèse magister: physiologie-endocrinologie. Québec: ULQ. 160 p.
19. **Barus C. (2008).** Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et biphasique -Application aux produits dermocosmétiques. Thèse Doctorat: Génie des procédés et environnement. Toulouse: UTPS. 205p.
20. **Baynes J.W., Thorpe S.R. (1999).** Rôle of Oxidative Stress in Diabetic Complications A New Perspective on an Old Paradigm. *Diabetes*. vol. 48 (9): 1-9.
21. **Beers M., Berkow R. (1999).** Mauel Merck. Ed. Centenaire, Paris. 2793p.
22. **Belaouar H. (2009).** Electrophorese sur Gel Polyacrylamide. Thèse magister: Biologie Animale Constantine: UMC. 124p.
23. **Belkheiri N. (2010).** Derives Phenoliques à Activites Antiatherogenes. Thèse Doctorat: Chimie-Biologie-Santé. Toulouse: UTIII. 205p.
24. **Benahmed M. (2011).** Etude de l'Effet d'un Régime Alimentaire à Base de la Telbina sur l'Hyperglycémie chez les Rats Wistar rendus Diabétiques par la STZ. Thèse magister: Nutrition. Tlemcen: UABBT. 71p.
25. **Benammar C.E. (2011).** Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une plante medicinale nord africaine, zizyphus lotus l. (sedra): étude des différents extraits. Thèse doctorat: Biologie Moléculaire et Cellulaire. Tlemcen: UABB. 98p.
26. **Benammar E. (2009).** L'Insulinotherapie Chez les Diabetiques de Type 2. Thèse doctorat: Pharmacie. Grenoble: UJF. 206p.
27. **Benaraba A. (2007).** Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique : Etude expérimentale des effets protecteurs de microconstituants nutritionnels (polyphénols du thé, de la cannelle et chrome III). Thèse doctorat: Environnement et Santé. France: UFG1. 246p.
28. **Bernard J., Levy J.P., Varet B., Clauvel J.P., Rain J.D et Sultan Y. (1981).** hématologie .Ed. Masson, Paris. 346p.
29. **Berruex J.C. (1996).** La forme à votre portée. Ed. fitline séminaires, Paris. 288p.
30. **Bigot A. (2009).** Identification et étude de l'expression de gènes de détoxication chez les bivalves d'eau douce *Unio tumidus* et *Corbicula fluminea*: Approches en laboratoire et en milieu naturel. Thèse doctorat: Toxicologie de l'Environnement. France : UPV. 138p.
31. **Blanchet J. (2006).** Effet neuroprotecteur du trans-resvératrol dans un modèle in vitro et in vivo de la maladie de parkinson. Mémoire de recherche: Biologie médicale. Québec: UQATR. 52p.
32. **Bloch D.A., Bashan N. (2005).** Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. vol. 7(2): 1553-1567. Cité par Benaraba A. (2007).
33. **Bossuyt X., Boeynaems J.M. (2001).** Repres en diagnostic de laboratoire.Ed. Garant, Belgique. 465p.
34. **Boubchir M.A. (2002).** Biochimie de Nephrologie . 320p. Cité par Boumaza A. (2009).
35. **Bouhours N.N., Coutant R. (2005).** Clinique et diagnostic du diabète de l'enfant. *Empédiatrie*. Vol. 2(3): 22042. Cité par Conceicao F.S. (2010).

36. **Bouldjadj R. (2009).** Etude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'artemisia herba alba asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. Thèse magister: Toxicologie Cellulaire. Constantine: UMC. 90p.
37. **Boumaza A. (2009).** Effet de l'extrait méthanoïque de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Thèse magister: Toxicologie Cellulaire et Moléculaire. Constantine: UMC. 125p.
38. **Bourgeois M. (2003).** Le pied diabétique. Ed. Ilya, Bruxelles. 99p.
39. **Bouysset M. (2004).** Pathologie ostéo-articulaire du pied et de la cheville .Ed. springer, France. 552p.
40. **Boynes J.W. (1991).** Perspectives in diabetes: role of oxidative stress on development of complication in diabetes. *Diabète*. Vol. 40 (2): 405-412. Cité par Boumaza A. (2009).
41. **Bradford M.M. (1976).** A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Academic Press*. Vol. 72 (57): 248-254.
42. **Bravi M.C., Pietrangeli P., Laurenti O., Basili S., Cassone Faldetta M., Ferri C et De Matti G. (1997).** Polyol pathway activation and glutathione redox status in non-insulindependent diabetic patients. *Metabolism*. Vol. 46 (10): 1194-1198. Cité par Bouldjadj R. (2009).
43. **Brink S.J., Wei-Rhen-Warren L., Kubendran P et Line K. (2011).** Le diabète de l'enfant et de l'adolescent. Ed. Novo Nordisk, Danemark. 195p.
44. **Brooker C. (2000).** Le corps humain: Etude structure et fonction .Ed. De Boeck, Italie. 592p.
45. **Brunner L.S., Suddarth D.S. (2006).** Soins infirmiers en médecine et en chirurgie: 2. Fonctions respiratoire, cardiovasculaire et hématologique. Ed. De Boeck, Canada. 680p.
46. **Buyschaert M. (2006).** Diabétologie Clinique. Ed. Boeck, Belgique. 180p.
47. **Buyschaert M., Vandeleene B., Parus I et Hermans M.P. (1999).** Le diabète sucré d'une réalité d'aujourd'hui à un défi de demain. *Louvain Med*.vol. 118(11): 189-195. Cité par Kebieche M. (2009).
48. **Callejas M. (2009).** Le selenium et la reproduction chez la vache diagnostic et prevention des carences. Thèse doctorat: Veterinaire. Alfort: ENVA. 85p.
49. **Capeau J., Desbois M.H., Magre J., Caron M., Vigouro C., Lascols O et Gisele C.H. (1996).** Mcanismes molculaires et cellulaires de l'action de l'insuline. *Nutrition clinique et métabolisme*. vol.10(4): 227-346.
50. **Capeau J. (2003).** Voies de signalisation de l'insuline : mécanismes affectés dans l'insulino-résistance. *médecine sciences*. vol. 19(8-9): 834-839p.
51. **Carre I.M. (2001).** La Transfusion Sanguine Chez le Chat. Thèse doctorat: vétérinaire. Toulouse: UPST. 123p.
52. **Chabory E. (2009).** Caractérisation fonctionnelle de la glutathion peroxydase 5 murine. Thèse doctorat: Physiologie et Génétique moléculaires. France: UBP. 129p.
53. **Chabrol B., Lonlay P. (2011).** Maladies métaboliques héréditaires. Ed. Wolters Kluwer, France. 800p.
54. **Chan A.C. (1993).** Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* vol. 71(9): 725-731. Cité par Prouillac C. (2006).

55. **Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M. H et El Ferjani. (1997).** Cadmium and Zinc induction of lipid peroxydation and effects on antioxydant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Plant Sci.* vol. 127(10): 139-147. Cité par Souguir D. (2009).
56. **Charbonneau J. (2012).** Influence de l'initiation de la traduction sur le changement programmé du cadre de lecture en -1 responsable de la synthèse des enzymes du virus de l'immunodéficience humaine de type 1. Thèse doctorat: Biochimie. Canada: UM. 193p.
57. **Chaumartin D. (2008).** Enquete aupres de quinze patients diabetiques de type 2: Etat de leurs connaissances et adhesion aux mesures hygieno-dietetiques: Thèse doctorat. USE. France. 37p.
58. **Chebbabi R. (2012).** Effet du VIP sur la Modulation des Réponses des Cellules Dendritiques. Thèse magistère : Microbiologie-Immunologie. France: ULQ. 77p.
59. **Claverie I., Panet M et Barbeau S. (2008).** Biochimie. Ed. Wolters Kluwer, France. 107p.
60. **Cleypssac E. (2011).** Mesure de l'insulino-résistance au cours du développement de l'obésité avec un traceur radioactif du transport du glucose: Le [125I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose Grenoble. Thèse Doctorat: Sciences de la Vie et de la Terre. Grenoble: ÉPHÉ, 35p.
61. **Comporti M. (1987).** *Chem. Phys. Lipids.* Vol. 45: 143-169. Cité par Le Roux A. (2010).
62. **Conceicao F.S. (2010).** Epidemiologie Du Diabete De Type 1 De L'Enfant en Limousin Entre 1995 et 2009. Thèse Doctorat: Médecine. Limoges: UL. 126p.
63. **Constantine S.M., Mrcpi M., Mrcpch D et Klip A. (2008).** L'obésité, l'insulinorésistance et le diabète de type 2 : l'interaction entre les cellules adipeuses et les cellules musculaires. *Hôpital St Michael.* Vol. 8(7): 1-6.
64. **Cornet M. (2009).** *Biologie 5e-Manuel: Sciences générales.* Ed. Boeck, Belgique. 304p.
65. **Cossette C. (1997).** Rôle de la glutathion peroxydase dans la réponse cellulaire aux rayons ultraviolets b. Thèse magister: Biologie cellulaire et moléculaire. Canada: UL. 60p.
66. **Coujard R., Poirier J. (1980).** *Précis d'histoire humaine.* Ed. Masson, paris. 752p.
67. **Crick F., Barnett L., Brenner S et Watts T.R. (1961).** General nature of the genetic code for proteins. *Nature.* Vol. 192(4): 1227-1232. Cité par Terrapon N. (2010).
68. **Cuatrecasa P. (1971).** Insulin-Receptor Interactions in Adipose Tissue Cells: Direct Measurement and properties. *Proc Natl Acad Sci US A.* vol. 68(7): 1264-1268. Cité par Ali Benhaddou A. (2009).
69. **De Meyts P. (2005).** The insuline receptor: structure and function. *Rev Med Liege.* Vol. 60(5-6): 286-290. Cité par Riant E. (2009).
70. **De Meyts P. (2004).** Insulin and its receptor: structure, function and evolution. *Bioessays.* Vol. 26(12): 1351-62. Cité par Badeau M. (2006).
71. **Delattre J., Bonnefont R.D., Bordas F.M et Jaudon M.C. (1999).** Diabète sucré et stress oxydant. *Annales de Biologie Clinique.* vol. 57(4): 437-444.
72. **Deleve L.D., kaplowitz N. (1991).** Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacology and therapeutics.* Vol. 52(10): 287-305. Cité par Gismondi E. (2012).
73. **Descamps M.C. (2010).** *Biologie: visa pour la 1re année santé.* Ed. IScience, Paris. 240p.
74. **Descheemaeker K., Provoost C. (2002).** L'impact de la nutrition sur la sante. *Développements récents-5.* Ed. Garant, Belgique. 213p.
75. **Diakite Y. (2007).** Complications Metaboliques Aigues du Diabete en Mileu de Reanimation au Point «G». Thèse doctorat: Médecine. Bamako: UB. 119p.

76. **Diatewa M., Samba C.B., Assah T.C., Abena A.A. (2004).** Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of diethyl ether fraction isolated from the aqueous extract of the leaves of *Cogniauxia podoleana* Baillon in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 92(2-3): 229-32. Cité par cité par Kebieche M. (2009).
77. **Dorrestijn J., Van Bussel F.J., Maassen J.A. et Gomes de Mequita D.S. (1998).** Early steps in insulin action. *Arch Physiol Biochem*. Vol. 106(90): 269-289. Cité par Benhaddou A. (2009).
78. **Drabkin D.L. (1932).** *J. Biol. Chem.* vol. 98: 719. Cité par fiche technique BIOMAGHREB. Réf. 30041.
79. **Drouin P., Blickle J.F., Charbonnel B., Eschwege E., Guillausseau P.J., Plouin P.F., Daninos J., Balarac N et Sauvanet J.P. (1999).** Diagnostic et classification du diabète sucre les nouveaux critères. *Diabétologie*. vol. 25(1): 72- 83.
80. **Dubois M., Kerr C.J. (2004).** Nonesterified fatty acids are deleterious for human pancreatic islet function at physiological glucose concentration. *Diabetologia*. Vol. 47(3): 463-9. Cité par Papin J. (2009).
81. **Dupin H., Cuq J.L., Malewiak M.I., Rouaud L et Berthier A.M. (1992).** Alimentation et nutrition humaines. Ed. ESF, France. 1533p.
82. **Duron F. (2006).** *Endocrinologie*. Ed. Université pierre et marie curie VI, Paris. 311p.
83. **Ebert U.B., Bommas U., Teubner P., Voss R. (2008).** *Cours d'anatomie*. Ed. De Boeck, Belgique. 514p.
84. **Evans J.L. (2007).** Antioxydants: do they have a role in the treatment of insulin resistance. *Indian Journal Medical Research*. Vol. 125(12): 355-372. Cité par Kebieche M. (2009).
85. **Fagherazzi G. (2011).** Facteurs alimentaires, composantes du syndrome métabolique et risques de cancer du sein et de diabète de type II dans la cohorte E3N. Thèse doctorat: Épidémiologie. Paris: UPXI. 256p.
86. **Farret A. (2010).** Effets et mécanisme de l'activation des récepteur d purinergiques p2y de la cellule β pancréatique. Thèse doctorat: Biologie santé. Paris: UMI. 160p.
87. **Favier A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Review. L'actualité chimique* novembre. Vol. 15(3): 108-115. Cité par Kebieche M. (2009).
88. **Faye B. (1986).** Contribution a la Connaissance des Valeurs de la Proteinémie Totale et de ses Différentes Fractions chez le Zebu Gobra du Senegal (Influence de l'âge et du sexe). Thèse doctorat: Médecine Vétérinaires. Dakar: EISMV. 71p.
89. **Fève B., Ferre P. (2008).** *Médecine Clinique Endocrinologie Diabète*. Ed. Médecine Diffusion, Paris. 32p.
90. **Fontaine A. (2009).** Classification d'ARN codants et d'ARN non -codants. Thèse doctorat: Informatique. Lille: USTL. 160p.
91. **Fossati P. (1980).** *Clin Chem*. Vol. 26:227-231. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001010.
92. **Frenot M., Vierling E. (2001).** *Biochimie des aliments : diététique du sujet bien portant*. Ed. Wolters Kluwer, France. 297p.
93. **Freychet P. (1990).** Pancreatic hormones. Dans: *Hormones: from molecules to disease*. Éd. Baulieu et P.A Kelly. Hermann, Paris. 491-501. Cité par Kevorkova O. (2006).

94. **Freychet P., Roth J et Neville D.M. (1971).** Insulin Receptors in the Liver: Specific Binding of [125I] insulin to the Plasma Membrane and Its. Proc Nat Acad Sci US A.vol. 68(6): 1833-1837. Cité par Ali Benhaddou A. (2009).
95. **Gal M. (2010).** Comprendre une situation clinique par l'anatomie-physiologie. Ed. Estem, France. 536p.
96. **Ganong W. (2005).** Physiologie médicale. Ed. De Boeck, Canada. 849 p.
97. **Garabedian C.H., Deruelle P.H., Borson C.F., Boumaud C., Brac A., Crand A., Cugnet C.H., Moret M., Moulin P.H., Peretti N., Raverot G., Simone C.H et Villar-Fimbel S. (2010).** Gynécologie endocrinologie nutrition. Ed. Pradel. France, 243 p.
98. **Garneau A. (2009).** Januviamd: Un nouveau venu dans le traitement du diabète de type 2. Département de pharmacie du CSSS de Laval. Vol. 12(2): 1-11.
99. **Gaudreault N. (1999).** Caractérisation des effets vasculaires de l'insuline. Thèse magistère: Physiologie. Laval: UL. 135p.
100. **Gendron K. (2012).** Étude de la traduction IRES-dépendante du VIH-1. Thèse doctorat: Biochimie. Canada: UK. 241p.
101. **Georges H. (1996).** Biochimie humaine: introduction biochimique à la médecine interne. Ed. Boeck, Paris. 784p.
102. **Girard J. (2003).** Rôle des acides gras libres dans la sécrétion et l'action de l'insuline: mécanismes de la lipotoxicité. Médecine sciences. vol. 19(8-9): 831.
103. **Giraud N., Pradere F., Chevalet P., Soubaya T. (2010).** Biologie Licence. Ed. Dunod, Paris. 696p.
104. **Gismondi É. (2012).** Étude des systèmes de défenses antitoxiques chez l'amphipode *Gammarus roeseli*: Effets du parasitisme et d'une exposition au cadmium. Thèse Doctorat: Ecotoxicologie et Biodiversité. France: UL. 282p.
105. **Gottsater A., Landin O.M., Lemmark A., Fernlund P., Sundkvist G. (1994).** Islet cell antibodies are associated with beta-cell failure also in obese adult onset diabetic patients. Acta Diabetol.vol. 31(3): 226-231. Cité par Pochet M. (2009).
106. **Goudet P., Yindoula P.J. (2008).** matière et énergie dans les systèmes: manuel de chimie - biochimie. Ed. Educagri, paris. 225p.
107. **Grankvist K., Marklund S.L., Taljedal I.B. (1981).** Cu Zn-superoxide dismutase, Mnsuperoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. Biochem. J. vol. 199(6): 393-398. Cité par Kebieche M. (2009).
108. **Grimaldi A. (2000).** Diabétologie. Ed. Université pierre et marie curie, Pari. 142p.
109. **Grimaldi A. (2001).** Guide pratique du diabète. Ed. Masson, Paris. 415p. Cité par Bouldjadj R. (2009).
110. **Grimaldi A. (2000).** Diabétologie Questions d'internat Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie. Faculté de médecine pitie Salpêtrière. 92p. Cité par Diakite Y. (2007).
111. **Guillausseau P.J. (2003).** Diabète sucré de type 1 et 2, 2ème partie : diabète de type 2. In: Rev Prat. Vol. 53(5): 1463-1471. Cité par Diakite Y. (2007).
112. **Gutteridge J. (1994).** Antioxydants in nutrition, health, and disease: 142p. Cité par Blanchet J. (2006).
113. **Halliwell B. (1999).** How to characterize a biological antioxidant. Free Radic Res Commun. Vol. 9(6): 1-32. Cité par Pastre C. (2005).

114. **Hamadi N. (2010)**. Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine. Thèse magistère: Toxicologie Cellulaire. Constantine: UMC. 58p.
115. **Harley J.P., Klein D.A., Prescott L.M., Sherwood L.M., Willey J. M et Woolverton C.J. (2010)**. Microbiologie. Ed. De Boeck, Italie. 1216p.
116. **Hellsten Y., Svensson M., Sjödin B., Smith S., Christensen A., Richter EA et Bangsbo J. (2001)**. Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radic Biol Med.* 31(11): 2-1313. Cité par Massart A. (2011).
117. **Hennen G. (2001)**. Endocrinologie. Ed. Boeck, Espagne. 520p.
118. **Hopkins W. G. (2003)**. Physiologie végétale. Ed. De Boeck, Espagne. 532p.
119. **Housset C., Raisonnier A. (2009)**. Biologie Moléculaire Objectifs au cours de Biochimie. UPMC, paris. 207p.
120. **Huang X.F. Arvan P. (1995)**. Intracellular transport of proinsulin in pancreatic betacells. Structural maturation probed by disulfide accessibility. *J. Biol. Chem.* Vol. 270(5): 20417-20423. Cité par Monterrat C. (2004).
121. **Ibrahim M. (2003)**. Le Protidogramme chez Les Donneurs de Sang a Bamako. Thèse Doctorat: Pharmacie. Bamako: UB. 74p.
122. **Pierre I. (2006)**. Etude des glutathion peroxydases dans le placenta de femmes atteintes de prééclampsie. Mémoire pour obtenir du grade de Maître es sciences: physiologie-Endocrinologie. Canada: ULQ. 136p.
123. **Jacob C., Knight I., Winyard P.G. (2006)**. Aspects of the biological redox chemistry of cysteine: from simple redox responses to sophisticated signalling pathways. *Biol Chem.* Vol. 387(7): 1385-97. Cité par Nzengue Y. (2008).
124. **Jadot G. (1994)**. Antioxydants et vieillissement. Ed. John Libbey Eurotext, paris. 300p.
125. **Januel C. (2003)**. Stress oxydant au niveau des plaquettes sanguines humaines dans le contexte du diabète etude du glutathion et de la glutathion peroxydase 4. Thèse doctorat: Biochimie. Lyon : INSAL. 200p.
126. **Jelen G. (1999)**. Progrès en dermato-allergologie. 1999. Ed. John Libbey Eurotext, Paris. 261p.
127. **Kahn C.R., Folli F. (1993)**. Molecular determinants of insulin action, *Horm Res.* Vol. 39(9): 93-101. Cité par Benhaddou A. (2009).
128. **Kahn M.F. (1994)**. The insulin signaling system. *J Biol Chem.* Vol. 48(8): 122-128. Cité par Gaudreault N. (1999).
129. **Kaplan A., Kaplan A. (1984)**. *Clin Chem The C.V.* Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton Urea. 1257-1260 and 437 and 418. cite par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001331.
130. **Karaa A., Labayle D. (2008)**. Pathologies digestives et soins infirmiers. Ed. Wolters Kluwer, France. 223p.
131. **Katbab A., Ogunbanjo G. (1985)**. Scott Mechanisms of antioxidant action: Antidegradant activities of phenols and quinones derived from phenolic sulphides in a peroxide vulcanisate; *Polym. Degrad. Stabil.* Vol. 12(4): 333-347. Cité par Barus C. (2008).
132. **Kebieche M. (2009)**. Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens L*: Effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse doctorat: Biochimie. Constantine: UMC. 124p.

133. **Kevorkova O. (2006)**. Effet d'une diète enrichie en cholestérol sur le métabolisme du glucose chez les lapines gestantes et ses rejetons. Thèse magister: Biologie. Canada: UQM. 98p.
134. **Kanoun K. (2011)**. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Thèse Magister : Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse. Tlemcen: UABT. 118p.
135. **Kirschvink N., De Moffarts B., Lekeux P. (2008)**. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*. Vol. 177(6): 178-191. Cité par Massart A. (2011).
136. **Klein F. (2009)**. Relations entre le diabète sucre de type 2 et l'amyloïdose chez le chat étude bibliographique. Thèse doctorat: Vétérinaire. Toulouse: UPST. 116p.
137. **Koceir E.A. (2003)**. Etude du Métabolisme Glucidique et Lipidique de L'hépatocyte Isolé de rat Des Sables (*Psammomys Obesus*) au Cours du Développement du Syndrome Diabétique Influences nutritionnelle, hormonale et pharmacologique. Thèse doctorat: Nutrition et Métabolisme. Alger: USTHB. 241p.
138. **Kraft G. (2009)**. Régulation nutritionnelle du métabolisme hépatique des acides aminés chez le ruminant en croissance. Thèse doctorat: Sciences de la Vie et Santé. Paris: ABIES. 353p.
139. **Kruidenier L., Verspaget H.W. (2002)**. Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease - radicals or ridiculous? *Aliment Pharmacol Ther*. Vol. 16(5): 1997-2015. Cité par Lenoir L. (2011).
140. **Lacolley P. (2007)**. Biologie Et Pathologie Du Cœur Et Des Vaisseaux. Ed. John Libbey Eurotext, paris. 677p.
141. **Lacombe M. (2006)**. Abrégé d'anatomie et de physiologie humaines: les fondamentaux. Ed. De Boeck, Paris. 229p.
142. **Lacroix M. (2008)**. Variations qualitatives et quantitatives de l'apport en protéines laitières chez l'animal & l'homme : implications métaboliques. Thèse doctorat : Physiologie de la Nutrition et du Comportement Alimentaire. paris: APT. 183p.
143. **Langlois W.I., Lepersole I. (2001)**. Le corps humain: Étude, structure et fonction. Ed. Boeck, Italie. 592 p.
144. **Larbier M., Leclercq B. (1992)**. Nutrition et Alimentation des volailles. Ed. Quae, Paris. 355p.
145. **Le Roux A. (2010)**. Synthèse et activité biologique de dérivés et analogues de l'acide pulvinique pour une application en protection contre les rayonnements ionisants. Thèse doctorat: chimie organique. Strasbourg: UDS. 321p.
146. **Lebaron S. (2008)**. Etude Fonctionnelle de l'hélicase à ARN Prp43p chez *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse doctorat: Biologie Moléculaire. Toulouse: UTIII. 112p.
147. **Leger L. (1978)**. Pathologie Chirurgicale. Ed. Masson, paris. 1520p.
148. **Leguerrier A.M. (2012)**. Endocrinologie métabolisme nutrition. Ed. Heures, paris. 160p.
149. **Leibowitz G., Yuli M., Donath M.Y., Neshet R., Melloul D., Cerasi E., Gross D.J et Kaise R.N. (2001)**. Beta-cell glucotoxicity in the *Psammomys obesus* model of type 2 diabetes. *Diabetes*. Vol. 50(1): 113-7. Cité par Koceir E.A. (2003).
150. **Lenoir L. (2011)**. Effet Protecteur des Polyphénols de la Verveine Odorante dans un Modèle D'Inflammation Colique chez le Rat. Thèse Doctorat: Nutrition. Auvergne: UBP. 263p.
151. **Leroux C., Tosser K.G. (2000)**. Génétique moléculaire: principes et application aux populations animales. Ed. Quae, paris. 622p.

152. **Lescuyer P. (2002).** Etude de l'expression Des Gènes Nucléaires Codant Pour Les Sous-Unités Du Complexe I Mitochondrial Humain. Thèse doctorat: Biologie. Grenoble: UJFG. 159p.
153. **Leyral G., Vierling E. (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et sécurité alimentaires. Ed. Wolters Kluwer, France. 287p.
154. **Li Y., Cao Z., Zhu H et Michael T.A. (2005).** Differential roles of 3H-1,2-dithiole-3-thione-induced glutathione, glutathione s-transferase and aldose reductase in protecting against 4-hydroxy-2-nonenal toxicity in cultured cardiomyocytes . Archives of Biochemistry and Biophysics. Vol. 439(1): 80-90. Cité par Pillon N. (2010).
155. **Lillioja S.D., Mott B.V., Howard P.H., Bennett H., Yki J.D., Freymond B.L., Nyomba F., Zurlo B et Swinburn C. (1988).** Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action. Longitudinal and cross-sectional studies in Pima Indians. N Engl J Med. Vol. 318(19): 1217-1225. Cité par Riant E. (2009).
156. **Lodish H., Berk A., Matsudaira P., Kaiser C.A et Darnell J. (2005).** Biologie moléculaire de la cellule. Ed. De Boeck, Espagne. 1096p.
157. **Loven D., Schedl H., Wilson H et Diekus M. (1986).** Effect of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin induced diabetes. Diabète. vol. 35(5): 503-514.
158. **Magnan C., Ktorza A. (2005).** Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique. Ed. Elsevier SAS, France. 264p.
159. **Margaritis I., Palazzetti S., Rousseau A.S., Richard M.J., Favier A. (2003).** Antioxydant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. J Am Coll Nutr. Vol. 22(2): 147-156. Cité par Massart A. (2011).
160. **Massart A. (2011).** Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo. Thèse Doctorat: Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives. France: UO. 191p.
161. **McMurry J., Begley T. (2006).** Chimie organique des processus biologiques. Ed. De Boeck, Belgique. 520p.
162. **Mcquarrie D.A., Rock P.A., Mcquarrie C. (2000).** Chimie générale. Ed. De Boeck, Belgique. 1174p.
163. **Medart J. (2009).** Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative. Ed. Boeck, Belgique. 314p.
164. **Meister A. (1988).** Glutathione metabolism and its selective modification. j biol chem . vol. 263(18): 17205-17208. Cité par Gismondi É. (2012).
165. **Melloul D., Marshak S., et Cerasi E. (2002).** Regulation of insulin gene transcription. Diabetologia. vol. 45(3): 309-326.
166. **Meyer A., Deiana J et Bernard A. (2004).** Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés. Ed. Wolters Kluwer, France. 430p.
167. **Miladi N. (2012).** Production de protéines recombinantes en système acellulaire: Industrialisation et réglementation. Thèse doctorat: pharmacie. France: UJF. 91p.
168. **Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat: Pharmacochimie. Strasbourg: ULP. 155p.

169. **Milcent R., Chau F. (2003).** Chimie organique hétérocyclique: chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed. EDP science, France. 846p.
170. **Mlange G. (2004).** L'âge moyen de découverte du diabète de type 2 diffère significativement selon la catégorie sociale. Thèse doctorat: Médecine. Paris: UP7DD. 61p.
171. **Modan M., Halkin H., Karasik A et Lusky A. (1987).** Elevated serum uric acid-a facet of hyperinsulinaemia. *Diabetologia*. Vol.75(3): 713-8.
172. **Mohora M., Greabu M., Muscurel C., Duta C et Totan A. (2007).** The sources and the targets of oxidative stress in the etiology of diabetic complications. *Romanian J. Biophys.* Vol. 17(2): 63-84.
173. **Moller N., Nair KS. (2008).** Diabetes and protein metabolism. *Diabetes*. American Diabetes association. vol. 57(1): 3-4.
174. **Montserrat C. (2004).** Les Synaptotagmines et le Transport Vésiculaire dans les Cellules β Pancréatiques : une Isoforme pour Chaque Tape. Thèse Doctorat: Sciences des Aliments et Nutrition. Bordeaux: UBI. 211p.
175. **Moore K.L., Dalley A.F. (2001).** Anatomie médicale. Ed. De Boeck, Italie. 1177p.
176. **Morel C. (2007).** Etude de régulation oxydase QSOX1 et son implication dans l'apoptose induite par les stress oxydants. Thèse doctorat: Science de la Vie et de la Santé. France: UFC. 214p.
177. **Moussard C. (2006).** Biochimie structurale et métabolique. Ed. Boeck, Belgique. 368p.
178. **Mugesh G., Panda A., Singh H.B., Punekar N.S et Butcher R.J. (2001).** Glutathione peroxidase-like antioxidant activity of diaryl diselenides: a mechanistic study. *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 123(20): 839-50. Cité par Bigot A. (2009).
179. **Nguyen H., Bourouina R. (2008).** Manuel d'anatomie et de physiologie. Ed. Wolters Kluwer, France. 421p.
180. **Nzengue Y. (2008).** Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallothionéines et de p53. Thèse doctorat: Biologie. Grenoble: UJG1 .297p.
181. **Opara E.S. (2002).** Oxidative stress, micronutriments, diabetes mellitus and its complications. *J of the Royal Soc for the promotion of Health*. Vol. 122(12): 28-34. Cité par Pastre C. (2005).
182. **Papin J. (2009).** Bases moléculaires des défauts sécrétoires des cellules β -pancréatiques lors de la glucotoxicité. Thèse doctorat: Biologie cellulaire et Physiopathologie. Paris: UB. 192p.
183. **Pari L., Latha M. (2005).** Antidiabetic effect of *Scoparia dulcis*: Effect on lipid peroxidation in streptozotocin diabetes. *General Physiology and Biophysics An International Journal*. Vol. 24(1): 13-26. Cité par Bouldjadj R. (2009).
184. **Pastre C. (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse doctorat: vétérinaire. Toulouse: UPS. 116p.
185. **Pelletier E., Campbell P et Denizeau F. (2004).** Écotoxicologie moléculaire: principes fondamentaux et perspectives de développement. Ed .PDUQ, Canada. 502p.
186. **Perutz M.F. (1996).** Structures des protéines: pathologie et approches thérapeutiques. Ed. John Libbey Eurotext, Italie. 300p.
187. **Petsko G.A., Ringe D. (2008).** Structure et fonction des protéines .Ed. De boeck, Belgique. 212p.

- 188. Pillon N. (2010).** Rôle des hydroxy-alkénals, dérivés de peroxydation lipidique, dans la physiopathologie de l'insulino-résistance, Effets du 4-hydroxy-2-hexénal et du 4-hydroxy-2-nonénal sur les voies de signalisation et la fonction biologique de l'insuline. Thèse Doctorat: Biochimie. Lyon: ISAL. 133p.
- 189. Pinto R.E., Bartley W. (1969).** The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase and on an aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochem J.* vol.112(11): 109-115.
- 190. Pochet M. (2009).** Expérience d'un médecin généraliste au sein d'une étude d'épidémiologie en milieu tropical : à propos de l'étude « maydia » sur la prévalence du diabète à Mayotte. Thèse doctorat: Sciences Médicales. Bordeaux: UBVS. 96p.
- 191. Poirier N. (2007).** diabète de type 1: thérapie familiale et de groupe vers l'approche intégratrice Thèse Doctorat: Psychologie. Québec: UQM. p: 59.
- 192. Pollard T.D., Earnshaw W.C. (2004).** Biologie cellulaire. Ed. Elsevier Masson, Espagne. 853p.
- 193. Poortmans J.R., Boisseau N. (2009).** Biochimie des activités physiques et sportives. Ed. De Boeck, Belgique. 592p.
- 194. Potemkine V. (1989).** Endocrinologie. Ed. Mir Mouscou, Paris. 383p.
- 195. Pourriat J.L., Martin C. (2005).** Principes de réanimation chirurgicale. Ed. Arnette, France. 1430p.
- 196. Prakasam A., Sethupathy S et Pugalendi K.V. (2005).** Antiperoxydative and Antioxidant Effects of Casearia Esculenta Root Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *yale journal of biology and medicine.* vol. 7(1): 15-23.
- 197. Prouillac C. (2006).** Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse Doctorat: Chimie-Biologie-Santé. Toulouse: UPSTIII. 290p.
- 198. Raccach D., Janand D.B et Vague P. (1999).** Diabète non insulino-dépendant. *La Revue du Praticien.* vol. 49(8): 629-634. Cité par Mlange G. (2004).
- 199. Raisonnier A. (2004).** Composés Azotés. Ed. Université Pierre et Marie Curie, Paris. 139p.
- 200. Ramasamy R., Yan S.F et Schmidt A.M. (2006).** Glycation and RAGE: Common Links in the Pathogenesis of Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes, *Canadian Journal of Diabetes.* vol. 30(4): 422-429.
- 201. Randoux A., Gillery P., Bellon G., Maquart F.X., Le Peuch C et Monboisse J.C. (1997).** Biochimie dynamique. Ed. Boeck, Belgique. 784p.
- 202. Redouane S.A. (2011).** Etude de quelques paramètres biologiques et physiologiques de la Néphropathie Diabétique. Thèse magistère: Biologie et Physiopathologie Cellulaire. Constantine: UMC. 83p.
- 203. Riant E. (2009).** Effets protecteurs des oestrogènes sur l'insulino-résistance et le diabète de type 2. Thèse doctorat: Physiopathologie cellulaire, moléculaire et intégrée. Toulouse: UTIII-PS. 165p.
- 204. Rigalleau V., Lang J et Gin H. (2007).** Etiologie et physiopathologie du diabète de type 2, In: *Encyclopédie Médico-Chirurgicale: Endocrinologie-Nutrition.* Ed. Masson SAS, Paris. 366p.
- 205. Robert D., Vian B. (2004).** Éléments de biologie cellulaire. Ed. Doin, France. 428p.

- 206. Rochiccoli P., Roger M et Maïte T. (2001).** Actualités en endocrinologie. Ed. Elsevier Masson, France. 446p.
- 207. Rodier M. (2001).** Le diabète de type 1. Endocrinologie. vol. 25(2): 95-101.
- 208. Rodriguez L.I. (2011).** Évaluation d'un prototype de détecteur de glucose dans le tissu interstitiel sans aiguille, le PGS (Photonic Glucose Sensor).Thèse doctorat: Sciences Biomédicales. Canada: UM. 103p.
- 209. Sekli B.F. (2011).** Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3,4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguine. Thèse doctorat: Génie des Procédés et de l'Environnement. Toulouse: UTIII. 172p.
- 210. Sherwood L. (2006).** Physiologie humaine: A Human Perspective. Ed. De Boeck, Espagne. 768p.
- 211. Simon D. (2008).** Définition, dépistage et épidémiologie du diabète de type 2. Ed. Elsevier Masson SAS, Paris. 67p.
- 212. Souguir D. (2009).** Modification Métabolique, Moléculaires et Gènotoxicité Induites par le Cadmium chez Vicia Faba. Thèse Doctorat: science biologique. Auvergne: UBP. 207p.
- 213. Southon S., Gee J et Johnson I.T. (1984).** Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. Brit J Nutr. Vol. 52(5): 371.
- 214. Stevens A., Lowe J. (1997).** Anatomie pathologique générale et spéciale. Ed. Boeck, Paris. 536p.
- 215. Strain J. (1991).** Disturbances of micronutrient and antioxidant status in diabetes. Proc Nutr Soc. Vol. 50: 591-604. Cité par Benammar C.E. (2011).
- 216. Szkudelski T. (2001).** The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res. Vol. 50(6): 536-546.
- 217. Tanaka Y., Tranb P., Harmon J et Robertson R.P. (2002).** A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic B cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity. Medical Science. vol. 99(19): 12363-12368.
- 218. Tangara E. (2005).** Protidogramme et Immunoelectrophorese Chez les Personnes Vivant avec le VIH au CNTS en 2004. Thèse doctorat: Pharmacie. Bamako: UB. 90p.
- 219. Tazairt C.B. (2002).** Qu'est ce que le diabète. Ed. El Maarifa, Alger. 110p.
- 220. Terrapon N. (2010).** Recherche de domaines protéiques divergents à l'aide de modèles de Markov cachés : application à Plasmodium falciparum. Thèse doctorat: Informatique. Languedoc: UMII. 186p.
- 221. Théron P., Bonnefont R.D. (2005).** Systèmes antioxydants endogènes. Radicaux libres et stress oxydant. Ed. Lavoisier, Paris. 111p. Cité par Lenoir L. (2011).
- 222. Thiebault C.M., Sprumont P. (2005).** Le sport après 50 ans. Ed. De Boeck, Espagne. 432p.
- 223. Tietz N.W., Amerson A.B. (1995).** Clinical guide to laboratory tests .E d. Saunders, Michigan. 931p. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001290.
- 224. Tournant F., Heurtier A., Bosquet F et Grimaldi A. (1998).** Classification du diabète sucre. Criteres diagnostiques et depistage. Encycl. Méd Chir (Elsevier, Paris), Endocrinologie -Nutrition. Vol. 366(10): 13. Cité par Pochet M. (2009).
- 225. Vaubourdolle M. (2007).** Biochimie, Hématologie. Ed. Wolters Kluwer SA, France. 1116p.
- 226. Vierling É., Frénot M. (2001).** Biochimie des aliments: diététique du sujet bien portant. Ed. Doin, Bordeaux. 297p.

- 227. Vignais P. (2001).** La biologie, des origines à nos jours: une histoire des idées et des hommes. Ed. EDP Science, France. 478p.
- 228. Voet D., Voet J.G. (2005).** Biochimie. Ed. Boeck, Espagne. 1600p.
- 229. Wang Q. (2008).** L'insulinorésistance due à la dysfonction des cellules bêta contribue à l'apparition du diabète. Hôpital St. Michael. Vol. 8(5): 1-5.
- 230. Wang Y., Thiele C et Huttner W.B. (2000).** Cholesterol is required for the formation of regulated and constitutive secretory vesicles from the trans-Golgi network. Traffic. Vol. 1(9): 952-962. Cité par Monterrat C. (2004).
- 231. Weber M.N. (2010).** Rôle et Intervention du Pharmacien dans le Cadre du Maintien a Domicile Face a Trois Pathologies Rencontrees a L'Officine en Milieu Urbain Parisien. Thèse doctorat: Pharmacie. Nancy: UHPN1. 151p.
- 232. Weill B., Batteux F. (2003).** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Ed. Boeck, Belgique. 314p.
- 233. Weinman S., Méhul P. (2004).** Toute la biochimie. Ed. Dunod, Paris. 452p.
- 234. Wheater P.R., Young B et Heath J.W. (2001).** Histologie fonctionnelle. Ed. De Boeck, Espagne. 413p.
- 235. Woo M. (2004).** Nouveaux avancements dans le diabète de type 1: Espoirs pour l'avenir. Endocrinologie. Vol. 4(3): 1-6.
- 236. Yabe N.C. (1998).** Aldose reductase in glucose toxicity: a potential target for the prevention of diabetic complications. Pharmacological Reviews. Vol. 50(1): 21-33. Cité par Bouldjadj R. (2009).
- 237. You H.J., Kim J.Y et Jeong H.G. (2003).** 17 beta-estradiol increases inducible nitric oxide synthase expression in macrophages. Biochem Biophys Res Commun. Vol. 303(17): 1129-34. Cité par Pierre I. (2006).

Résumé

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune grave, liée à la destruction des cellules β pancréatiques d'où une insulino-pénie, cette maladie peut entraîner à moyen et à long terme plusieurs maladies (complications). L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de diabète sur la synthèse protéique et l'évaluation du statut antioxydant au cours de l'état de stress oxydatif. Notre expérimentation a été réalisée chez des rats Wistar Albino âgés de 10 semaines ont été divisés en deux groupes. Le premier groupe rendu diabétique par l'injection d'une dose 150mg/Kg d'Alloxane, et le deuxième groupe les témoins. Le gain de poids corporel de tous les rats a été enregistré régulièrement pendant 21 jours. Après cette période, nous avons dosé quelques paramètres hématobiochimiques et antioxydatifs sériques et tissulaires chez les rats. Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que l'Alloxane (150mg/kg) induit chez l'animal un diabète caractérisé par une diminution de la prise de poids (33.03%) et une augmentation bien plus élevée du taux de la glycémie (142.18%). Les résultats obtenus montrent aussi une diminution de la concentration des protéines sériques (20.45%), protéines hépatiques (16.07%) et de l'hémoglobine (20.14%) chez les rats diabétiques par rapport aux rats témoins, par contre et d'après nos résultats le diabète induit une augmentation significative de la concentration sérique de l'urée (77.12%) et de l'acide urique (107.42%) chez les rats. D'autre part, le diabète a également entraîné une augmentation de l'activité de glutathion peroxydase (28.57%) avec une baisse de la concentration de glutathion réduit (16.56%) chez les rats. En conclusion, la présente étude révèle que le diabète a un effet négatif sur le métabolisme général notamment sur la synthèse protéique et sur l'activité de système antioxydant ce qui permet le développement des complications associées au diabète. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires afin d'identifier les protéines endommagées notamment les enzymes et les réactions biochimique affectés pour donner avec précision à la fin les mécanismes afin d'obtenir une réduction possible des complications diabétiques.

Mots clés: Diabète, Alloxane, Protéines, Stress oxydant, Glutathion peroxydase, Glutathion réduit.

الملخص

داء السكري من النوع الأول هو مرض مناعي خطير، متعلق أساساً بتحطيم خلايا بيتا البنكرياسية والتي ينجر عنها النقص الجسيم في الأنسولين. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم مدى تأثير داء السكري على عملية تخليق البروتينات إضافة إلى تقييم فعالية مضادات الأكسدة أثناء الإجهاد التأكسدي. تجاربنا كانت قد أجريت على مجموعة من الجرذان من نوع ويستار، تتراوح أعمارها في حدود 10 أسابيع، موزعة على مجموعتين. المجموعة الأولى أصبحت مصابة بالسكري بعد حقنها بكمية قدرها 150 ملغ/كغ من الألوكان، أما المجموعة الثانية فهي عبارة عن جرذان شاهدة. تم متابعة تطور الوزن لجميع الجرذان بانتظام خلال فترة 21 يوم. فيما بعد قمنا بتقدير نسبة بعض المعايير البيوكيميائية و مضادات الأكسدة في المصل وخلايا الكبد. النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسة تبين بوضوح بأن الألوكان المحقون (150 ملغ/كغ) للجرذان أدى إلى تحريض ظهور مرض السكري لديهم بحيث يتميز حامله بانخفاض في الوزن (33.03%)، وكذا الإرتفاع الشديد لمستويات الجلوكوز في المصل (142.18%)، أيضاً لاحظنا نقصاً كبيراً في تركيز البروتينات المصلية (20.45%) والبروتينات الكبدية (16.07%)، إضافة إلى النقص الملاحظ في تركيز الهيموغلوبين (20.14%) مقارنة بالجرذان الشاهدة. من جهة أخرى فإن نتائجنا كانت قد أظهرت ارتفاعاً ملحوظاً في تركيز كل من اليوريا (77.12%) وحمض اليوريك (107.42%) لدى هذه الجرذان. من ناحية أخرى، أدى مرض السكري أيضاً إلى الزيادة في نشاطية الغلوتاثيونبيروكسيداز (28.57%) مع نقص كبير في تركيز الغلوتاثيون المختزل (16.56%) لدى الجرذان المصابة مقارنة بالجرذان السليمة. وفي الختام، فإن هذه الدراسة قد أثبتت أن مرض السكري له تأثير سلبي على عملية الأيض العامة بما في ذلك تخليق البروتين ونشاط النظام المضاد للأكسدة الذي يسمح بظهور المضاعفات المرتبطة بمرض السكري. ومع ذلك، فإن هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتحديد نوع البروتينات التالفة بما في ذلك الإنزيمات والتفاعلات البيوكيميائية المتضررة لإعطاء بدقة في النهاية آليات الحصول على احتمالية التخفيف أو الحد من مضاعفات مرض السكري.

الكلمات المفتاحية: مرض السكري، بروتينات، الألوكان، الإجهاد التأكسدي، الغلوتاثيون بيروكسيداز، الغلوتاثيون المختزل.