



N° d'ordre :

N° de série :

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

**Etude de quelques paramètres biologiques chez
diabétiques**

Encadré par :

Mme HOUMRI Nawal

Présenter par : BASSI Abba

BELLAMOUCHE Mouna

RAHALI Meriém

Année universitaire 2012/2013



Remerciements

*Avant toute chose, nous tiens à remercier Dieu le tout puissant, pour m'avoir
Donner la force et la patience.*

Mes vifs remerciements s'adressent :

*Aux Meme . hounri Nawel, pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont
constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené
au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute
personnalité*

*Aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant
d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions
Aux Me Derouich Samir qui nous a permis de bénéficier de son encadrement*

*Aux Médecines: BAYA, ABBANE Djalloule, DOROUNI Rachid,
BOUTALEB Ahmed Tayeb pour leur soutien et d'avoir ouvrir les portes de
services pour me permettre la réalisation De ce travail.*

*Mes remerciements: LOUNIS Walid, MASTOUR Ali, ZEGUEB Djebbari,
TAHRAOUI Mouhamed Elhabib.*

*Enfin, nous adressons mes plus sincères remerciements à tous mes familles et amis
Et à tous ceux dont la mémoire sont toujours présents dans mon cœur.*



*Merci infiniment à tous. Et à bientôt dans autres travaux
qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce
mémoire.*

Merci à tous et à toutes.

Listes de figures

Figure	Titre	Page
1	Position de pancréas dans le corps humain(Anonyme, 2002)	5
2	Structure de ilot de langerhans (Anonyme, 1972)	6
3	Structure de l'insuline (Auberval N., 2005)	7
4	Biosynthèse de l'insuline (Roynal R et <i>al</i> , 2005)	8
5	Structure de glucagon (Auberval N., 2005)	9
6	Taux de glycémie à jeun chez les diabétiques par rapport aux sains	20
7	Taux de HbA1c chez les diabétiques par rapport aux sains	21
8	Taux de triglycéride chez les diabétiques par rapport aux sains	22
9	Taux de cholestérol chez les diabétiques par rapport aux sains	23

Listes de tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Préparation d'échantillon de glycémie	13
2	Préparation d'échantillon de triglycéride	16
3	Préparation d'échantillon de cholestérol	18
4	Taux de glycémie à jeun chez les diabétiques par rapport aux sains	20
5	Taux de HbA1c chez les diabétiques par rapport aux sains	21
6	Taux de triglycéride chez les diabétiques par rapport aux sains	22
7	Taux de cholestérol chez les diabétiques par rapport aux sains	22

Table de matière

Introduction générale	
Partie Bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur le diabète	
I.1.Définition du diabète	1
I.2.Historique du diabète	1
I.3.Critères de diagnostic.....	1
I.4.Classification du diabète	2
I.5.Complication du diabète	3
I.5.1.Complication aigue	3
I.5.2.Complication chronique.....	4
Chapitre II: Pancréas et le diabète	
I. Le pancréas.....	6
I.1.Définition.....	6
I.2.Structure du pancréas.....	6
I.3.Role du pancréas.....	7
II.Lediabète et la fonction endocrine du pancréas.....	8
II.1.La fonction endocrine du pancréas.....	8
II.1.1.Insuline.....	8
II.1.1.1.Définition et structure.....	8
II.1.1.2.Biosynthèse de l'insuline.....	8
II.1.1.3.Fonction de l'insuline.....	9
II.1.2.Glucagon.....	10
II.1.2.1.définition et structure.....	10
II.1.2.2.Biosynthèse de glucagon.....	10
II.1.2.3.Fonction de glucagon.....	10
II.2.Effet du diabète sur la fonction endocrine du pancreas.....	11
Partie pratique	
Chapitre I: Matériels et méthodes	
I.1.Materiel.....	12
I.1.1.Materiel biologique.....	12
I.1.2.Materiel de laboratoire.....	12
I.2.Methodes.....	13
I.2.1.Méthode de prélèvement sanguin.....	13
I.2.2.Méthodes de dosage des paramètres biochimiques.....	13
I.2.2.1.Dosage de glycémie	13
I.2.2.2.Dosage de HbA _{1c}	14
I.2.2.5.Dosage de triglycéride.....	16
I.2.2.6.Dosage de cholestérol.....	18
Chapitre II: Résultats et discussion	
II.1.Résultat.....	20

II.1.1.Taux de glycémie à jeun.....	20
II.1.2.Taux de HbA1c.....	22
II.1.3.Taux de triglycéride.....	23
II.1.4.Taux de cholestérol.....	23
II.2.Discussion.....	25
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	

Liste d'abréviations

ARNm : acide ribonucléique messenger

ATP : adénosine triphosphate

DID : diabète insulino-dépendant

DNID : diabète non insulino-dépendant

DT 01 : diabète type 01

DT 02 : diabète type 02

HbA_{1c} : hemoglobine glyquée

HGPO: hyperglycémie par voie orale

IP : peptides intermédiaire

LDL: low density lipoproteins

PH : potentiel hydrogène

RE : réticulum endoplasmique

TG : triglycérides

VLDL: very low density lipoproteins

INTRODUCTION

Introduction générale:

Le diabète est un problème de santé publique dans tous les pays du monde(khalfa S., 2001), elle provoque des complications aiguës ou chroniques qui conduit à la mort. Actuellement, près de 285 millions de personnes sont atteintes de diabète. C'est une maladie potentiellement mortelle responsable chaque année dans le monde de près de 4 millions de décès. De plus, un mauvais équilibre du diabète est responsable de l'appariation des complications(Auberval N., 2010)

Il est fondé sur le seuil glycémique à risque de microangiopathie. Se définit par une hyperglycémie chronique (Grimaldi A., 2000)

En effet, la destruction des cellules β dans le diabète de type 1 et 2 diminue et inhibe la production d'insuline et il en résulte une non pénétration du glucose dans les cellules et par conséquent une hyperglycémie (Auberval N., 2010)

En ce qui concerne notre travail de recherche, on s'est basé pour cette année sur l'étude des effets diabétiques exprimé en taux de glycémie et HbA1c durant trois mois pour connaître la relation entre elles.

Notre document est structuré en deux grandes parties:

- partie bibliographie: généralité sur le diabète, diabète et pancréas;
- partie pratique: matériels et méthodes, résultats et discussion.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

1^{ere} partie : synthèse bibliogaphique

CHAPITRE I

GENERALITE SUR DIABETE

I.1.Définition du diabète :

Le diabète sucré est une pathologie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique , en relation avec un défaut de sécrétion et/ou d'action de l'insuline .(William J.M.;Stephen K.B.,2005)

I.2.Historique:

Les diabète sucré est une vieille maladie, il était connu chez les Egyptiens 3000 ans avant Jésus-Christ. Au VI^e siècle, les chinois savent déjà le distinguer grâce à la saveur sucrée des urines. Un siècle plus tard , Sechrona, médecin Indou, décrit une affection associant saveur sucrée des urines, soif polyphagie, mauvaise haleine et asthénie. Ce n'est que deux siècle plus tard que le mot diabète semble apparaitre pour la première.

La maladie était également connue des arabes sous l'appellation de "Boula" pour désigner les personnes présentant une polyurie mais également "d'urine sucrée " comme le rapportent les encyclopédies "Lissan EL-Arab" et " EL-Kamous EL-Mouhit". Au V^e siècle de l'Hégire (XI^e siècle après J-C.)Ibnou Sina puis Ibnou E'Rhazi décrivent la maladie de façon remarquable et énoncent les premières règle diététique .

La conception moderne de la maladie commence avec P? Langhérans qui dans sa thèse de doctorat en 1869,à Berlin, soutient l'existence d'amas de cellule sécrétantes au niveau du pancréas, bien distinctes du reste de la glande. Ces cellules ne déversent leur sécrétion dans aucun canal relie au tube digestif. En1893, Von Merinj puis Minkowski démontrent que le pancréas est un organe indispensable au métabolisme normal du sucre.

Depuis 1980, les travaux s'orientent vers l'obtention d'une insuline humaine grâce au genre génétique (production à partir des bactéries d'Escherichia Coli)et qui est déjà commercialisée et vers la mise au point d'un pancréas artificiel miniaturisé portable, ainsi que vers la transplantation d'ilots de langhérans chez les sujets malades.(Khaiti M., 1991)

I.3.Les critères de diagnostic :

Il reposent seulement sur les concentration du glucose a jeun et 2 h après la charge en glucose . (William J.M.;Stephen K.B., 2005)

I.3.1. La glycémie à jeun

Sujet normale : (0.70-1.26) g/l.

Sujet diabétique : > 1.40

I.4. Classification du diabète:

Le diabète est classé en trois types:

I.4.1. Le diabète de type 01:

Le diabète de type 01 ou diabète insulino-dépendant = diabète juvénile ,représente 10% des diabète. Il survient habituellement chez le sujet jeune avant l' âge de 20 ans , (Tournant F.*et al.*,2004) . Il est caractérisé par la destruction progressive des cellules β des îlots de Langerhans produisant l'insuline .(Mimouni Zerguini S., 2001)

I.4.2. Diabète de type 02:

Le diabète de type 02 ou diabète non insulino-dépendant est une affection multifactorielle résultant à la fois d'une prédisposition génétique et des facteurs environnementaux (obésité , sédentarité) , il survient habituellement chez le sujet plus de 40 ans .(Tournant F.*etal.*,2004)

Dans ce type de diabète la production d'insuline peu fonctionnelle ou une non-fixation de l'insuline sur ses récepteurs périphériques , le glucose n'est ainsi pas capté par les cellules , aggravant l'hyperglycémie et nécessitant plus d'insuline (Tournant F.*et al.*,2004.)

I.4.3. Diabète gestationnel:

Le diabète gestationnel est un diabète transitoire survenant pendant la grossesse , Il apparaît au cours de troisième trimestre de la grossesse et se caractérise par une hyperglycémie modérée (Morino J.,2004).

I.5.Les complication du diabète :

L'hyperglycémie joué un rôle majeur dans la survenue des complications aiguës et chroniques(Corodonnier .D *et al.*,1994) .

I.5.1.Les complications aiguës :

Les complications aiguës se caractérisent par la possibilité d'apparition des séquelles à long terme grevées d'une mortalité (Domard A.;Rinsudo M.,1976).

I.5.1.1.L'hyperglycémie :

Elle est caractérisé par une augmentation importante du glucose dans le sang .En effet, le diabète de type 01 et 02 provoque la diminution ou l'inhibition de la production d'insuline et il en résulte un non pénétration du glucose dans les cellule et par conséquence une hyperglycémie (Stocker R.*et al.*,1997) .

I.5.1.2.L'hypoglycémie :

C'est l'accident le plus redouté par les diabétique traités par l'insuline (Khalifa S. ,2001) .L'hypoglycémie c'est l'abaissement du taux de la glycémie au-dessous de 0.70 g/l et qui conduit à des signer digestifs et neurologique , des troubles cardiovasculaire (Damard A.*et al* , 1976) .

I.5.1.3.Coma hyper-osmolaire :

C'est une complication rare du diabète non insulino-dépendant chez les personnes âgées (Morino J.*et al.*, 2004) .Le coma hyper-osmolaire représente 5 à 10% des coma métaboliques des diabétique , il se caractérise par une déshydrations massive et une osmolarité supérieure à 350 mmol/l due à une hyperglycémie majeure et à une hypernatrémie .Le coma hyper-osmolarité responsable d'une polyurie dite "osmotique" (Grimaldi A. ,2000)

I.5.1.4. Acidocétose diabétique :

Elle est définie de façon arbitraire par un $\text{pH} \leq 7.2$ et une hyperglycémie $\geq 3\text{g/l}$ en rapport avec une accumulation excessive de corps cétoniques, c'est la conséquence d'une carence absolue ou relative en insuline (Khalifa S., 2001).

I.5.2. Complication chronique :**I.5.2.1. Néphropathie :**

C'est une maladie rénale progressive (Forlance M.C. *et al.*, 2003), elle se définit par une atteinte glomérulaire spécifique du diabète qui se caractérise par une destruction progressive de celle-ci par sclérose (Collart F., 2003).

I.5.2.2. Neuropathie :

Cette complication est caractérisée par une atteinte du système nerveux périphérique. Elle prédomine au niveau des membres inférieurs en raison de la plus grande fragilité des fibres longues sensibles aux myélinisations (Goudi P., 2008).

I.5.2.3. Rétinopathie :

C'est la conséquence d'une hyperglycémie chronique. Sa survenue est corrélée à la durée du diabète et au degré d'équilibre glycémique. La rétinopathie menace donc les patients diabétiques après quelques années d'hyperglycémie mal maîtrisée.

La rétinopathie diabétique se développe à bas bruit sans que le malade ne perçoive pendant longtemps aucun symptôme. La 1^{ère} angiopathie rétinienne étant réalisée après sans d'évolution de la maladie. Elle se développe sur 02 modes.

L'ischémie :

Elle se traduit par la présence d'hémorragies intrarétiniennes, de territoires non perfusés vus à l'angiographie.

L'œdème :

Il peut être responsable d'exsudats durs prédominant un pôle postérieur .
la maculopathie œdémateuse La rétinopathie est une des causes de perte de l'acuité visuelle du diabétique . son développement est corrélé à l'équilibre glycémique jugé sur HBANC et la pression artérielle diastolique (A. Grimadli ,2000) .

CHAPITRE II

PANCREAS ET LE DIABETE

I. Le pancréas:

I.1. Définition :

Le pancréas est un organe plat qui a une longueur de 12.5 à 15 cm, situé dans la courbe du duodénum (Tortora D.,2002) en avant de l'aorte , de la veine cave et des veines rénales mais en arrière de l'estomac et du côlon transverse , il s'étend transversalement du duodénum à la rate ,et vascularisé notamment par les veines splénique et mésentérique inférieure (Auberval N., 2010).

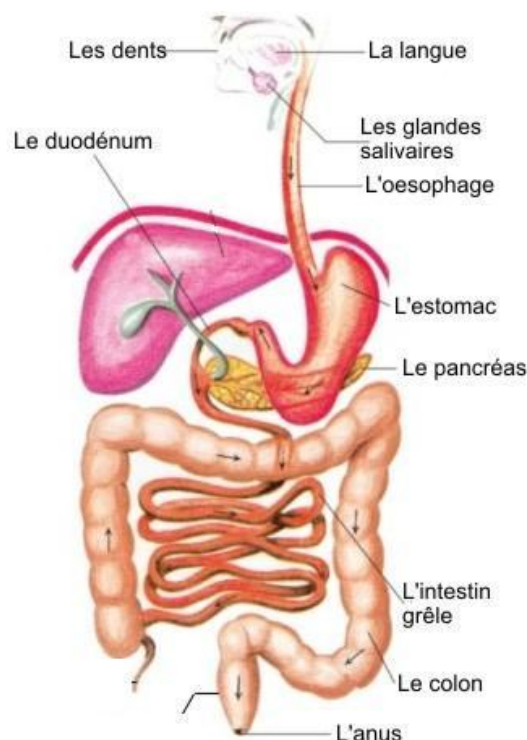


Figure 1: Position de pancréas dans le corps humain (Anonyme.,2002).

I.2. Structure du pancréas

Le pancréas est constitué de quatre parties : la tête , l'isthme , le corps et la queue . Il s'agit d'une glande mixte à la fois exocrine et endocrine (Auberval N. , 2010) .

Environ 99% des cellules pancréatiques forment des amas appelés les acinus ,ces cellules produisent les enzymes digestives qui sont acheminées par un réseau de conduits vers l'intestin grêle . Disséminés parmi les acinus exocrine se trouve de 1 à 2 million de petits

amas des cellules endocrines appelés îlots pancréatique ou îlots de langerhans (Tortora D., 2002) .

Les îlots de Langerhans sont des amas de cellules ovoïdes mesurant 76x175 μm , il sont disséminés dans le pancréas avec une plus forte concentration dans la queue de cet organe Les cellules du îlots peuvent être divisées en plusieurs types chez l'être humain , il y en au moins quatre : α . β . D. et F. (William F.G.,2005) .

Les cellules α sécrètent le glucagon , les cellules β sécrètent l'insuline , les cellules D sécrètent la somatostatine et enfin les cellules F sécrètent le polypeptide pancréatique (William F. G., juin 2005) .

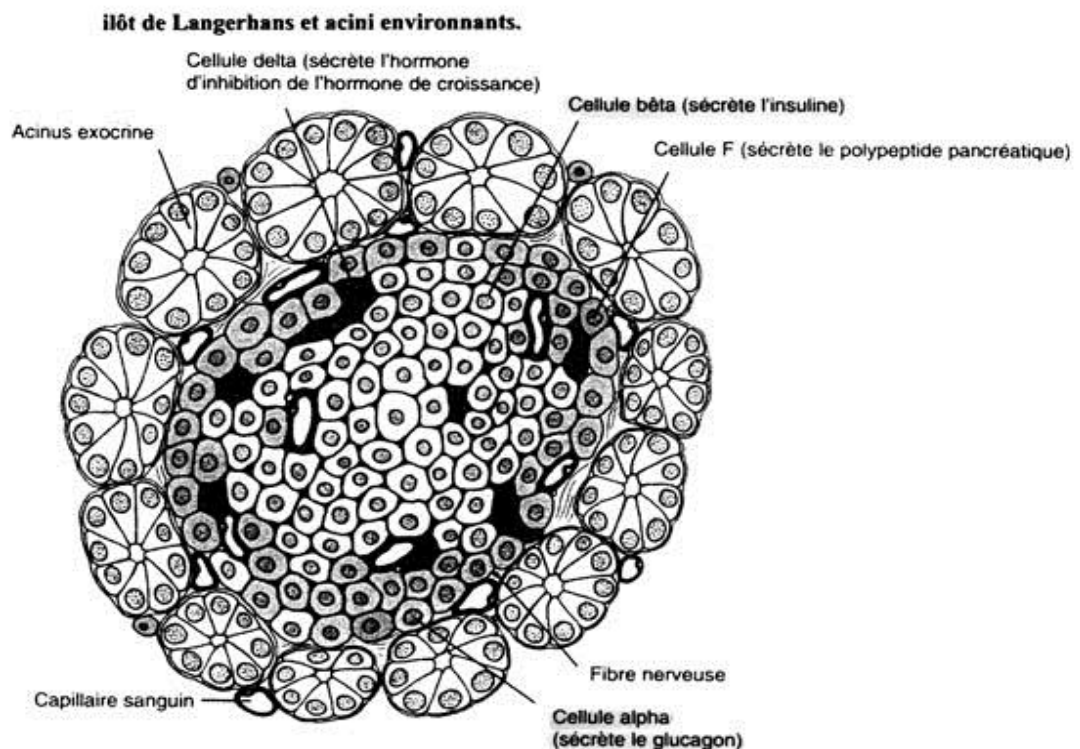


Figure 2: Structure de îlot de langerhans (Anonyme.,1972).

I.3. Rôle du pancréas :

Le pancréas possède 2 fonctions principales :

a- Le pancréas exocrine a pour fonction de synthétiser le suc pancréatique (Quesada I. et al.,2008) .

b- Le pancréas endocrine synthétise des hormones (insuline , glucagon) qui sont libérées dans la circulation sanguine ou elles vont agir à distance vers des tissus ou des cellules cibles (Quesada *J.et al.* , 2008) .

II. Le diabète et la fonction endocrine du pancréas

II.1. La fonction endocrine du pancréas :

II.1.1. L'insuline

II.1.1.1. Définition et structure :

L'insuline est un polypeptide de petite taille , de poids moléculaire de 6 K D a ,c'est un hétéro dimère constitué de deux chaînes polypeptidiques , la chaîne A et la chaîne B. La chaîne A comporte 21 aa et la chaîne B en comporte 30 acides aminés , Les deux chaînes sont reliées entre elles par deux ponts disulfures (Auberval N.,2010) .

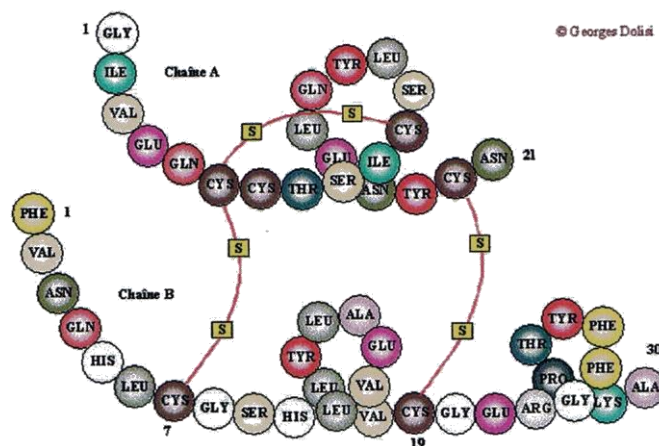


Figure 3: Structure de l'insuline.(Auberval N., 2005).

II.1.1.2. Biosynthèse de l'insuline :

L'insuline est synthétisée dans les cellules B sous forme de pré pro insuline inactive chez l'être humain , elle est codée par un gène se trouve sur le chromosome 11 , après la transcription en ARNm du gène codant la prépro insuline , l'ARNm est exporté du noyau vers le cytoplasme pour atteindre les ribosomes qui se trouve à la surface du réticulum endoplasmique (RE) . La traduction de la prépro insuline se réalise à l'entrée du RE. La pro

insuline ainsi obtenue est constituée de 86 acides aminés ayant un poids moléculaire de 9 KDa , dans l'appareil de Golgi , sous l'action d'une protéase spécifique , la pro insuline est clivée pour donner le peptide C(31 acides aminés ayant un poids moléculaire de 3 KDa et un peptide bi caténaire, l'insuline d'une taille finale de 51 acides aminés et de poids moléculaire de 6KDa ces deux peptides sont stockés dans des granules jusqu'à sécrétion (AubervalN.,2010) .

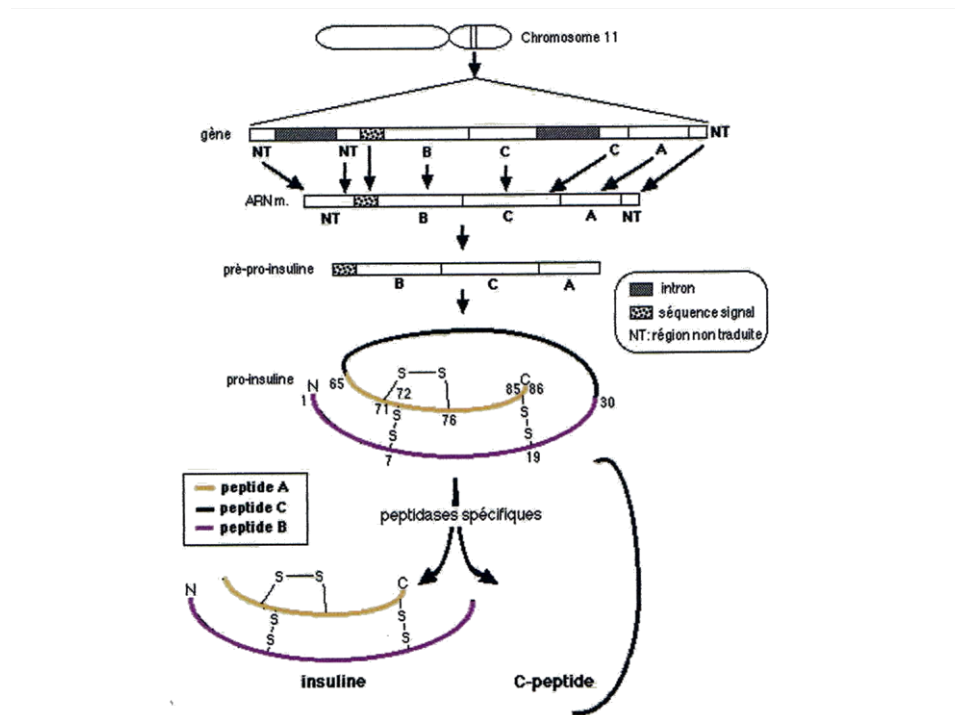


Figure 4:Biosynthèse de l'insuline (Raynal R.;Cortie C.,2005).

II.1.1.3. Fonction de l'insuline

L'insuline facilite l'entrée du glucose dans la cellule en augmentant le nombre de transporteurs de glucose dans les membranes des cellules , donc grâce à l'insuline le taux du glucose dans le sang est diminué(William F.G.,2005).

II.1.2. Le glucagon:

II.1.2.1. Définition et structure :

Le glucagon est un poly peptide de faible poids moléculaire de 3.5 KDa , composé de 29 acides aminés (Lefèvre P.,1995) , produit par les cellules alpha de ilots de langerhans du pancréas (Auberval N. , 2010) .

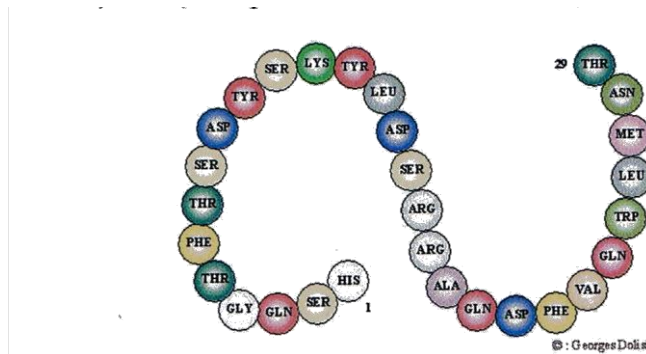


Figure 5: Structure du glucagon. (Auberval N.,2010).

II.1.2.2. Biosynthèse de glucagon:

La biosynthèse du glucagon débute par la transcription de son gène situé sur le chromosome 2 , chez l'etre humain d'une séquence de 9.4Kb(lefévre P., 1995) en un ARNm codant pour le pro glucagon , un peptide de 160 acides aminés .

Dans les cellules α , le pro glucagon est clivé au niveau des 2 peptides intermédiaires (IP) par la pro hormone pro convertase 2 (Rouillé Y.*et al.*,1995) pour donner trois peptides de plus petite taille (Auberval N.,2010) .

II.1.2.3.Fonction de glucagon:

La sécrétion du glucagon est diminuée sous l'influence d'une augmentation de la glycémie sanguin. En générale, ses effets sont opposés à ceux de l'insuline: il stimule la glycogénolyse hépatique (mais pas musculaire) par activation de la glycogène phosphorylase, la lipolyse et la cétogenèse.(William J.M. *et al.*,2005).

II.2.Effet du diabète sur la fonction endocrine du pancréas:

Dans DT1 il ya une destruction des cellules pancréatiques, qui conduit à une diminution et finalement à un arrêt de la sécrétion d'insuline. Dans DT2 la sécrétion d'insuline ne suffit pas à prévenir l'hyperglycémie, parce qu'il ya le plus souvent un phénomène de résistance à l'insuline(William J.M. *et al.*,2005).

La production hépatique de glucose est fréquemment diminuée, bien que la réponse glycogénique au glucagon soit normale.(William J.M. *et al.*,2005).

PARTIE

PRATIQUE

CHAPITRE I MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

MATERIEELS ET METHODES

Le but d'étude:

Notre but, dans cette partie du travail était d'établir une étude comparative de quelques paramètres biologiques chez des 16 patients hospitalisés souffrants du diabète et 16 sains pour essayer d'expliquer ces variations.

I-1-Matériels :

I-1-1- Matériel biologique :

Nous avons réalisé notre étude au sein de laboratoire des analyses médicale de l'hôpital Ben Omor Djilanie, Bachir Ben Nasser et Clinique Dr Rokh, les sujets suivis sont composés de 16 malades hospitalisés diabétique et 16 sains.

I-1-2- Matériel de laboratoire:

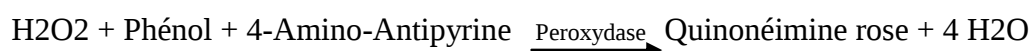
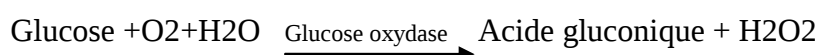
- Une centrifugeuse .
- Un spectrophotomètre .
- Des réactifs chimiques.
- Des tubes à essais.
- Micropipettes.
- Des portoirs.
- Des tubes avec ou sans anticoagulant et tubes secs.
- L'eau distillé.
- Des compresses.
- Un bain marie.
- Seringue.
- Coton secs et coton alcoolé(désinfectants).
- Garrot.
- Les gants.

I-2-Méthodes :**I-2-1-Méthode de prélèvement sanguin :**

Le prélèvement a été fait le matin à jeun au niveau de pli du coude, le sang prélevé est mis directement dans: Un tube en présence ou absence d'anticoagulant, héparine qui permet la conservation des cellules sanguines.(Claude M.,2007) et EDTA pour HbA1c.

I-2-2-Méthode de dosage des paramètres biochimiques:**I-2-2-1-Dosage de glycémie:****I-2-2-1-1-Principe :**

Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes :

**I-2-2-1-2-Réactifs :**

Réactif 1: Tampon Tris pH= 7 100 mmol/l

Solution tampon Phénol0,3 mmol/l

Réactif 2: Glucose oxydase10 000 U/l

Enzymes Péroxydase1000 U/l

Amino 4 -Antipyrine2,6 mmol/l

Réactif 3: Glucose..... 100 mg/dl

Standard1g/l

.....5,56 mmol/l

I-2-2-1-3-Mode opératoire :

Longueur d'onde :505 nm (492-550)

Température :37° C (20-25°C)

Cuve :1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

Tableau 1:Préparation d'échantillon de glycémie.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard		10 µL	
Echantillon			10 µL
Réactif de travail	1 mL	1 mL	1 mL

Mélanger, lire les DO après une incubation de 10 min à 37 °C ou 30 min à 20-25°C. La coloration est stable 30 min.

Calcule :

$$(A) \text{ Echantillon} / (A) \text{ Standard} \times 100 (\text{Standard conc.}) = \text{mg/dl. glycémie dans échantillon.}$$

Valeur usuelle: $\text{mg/dl} \times 0.0555 = \text{mmol/l.}$

I-2-2-2-Dosage de HbA_{1c}:**I-2-2-2-1-Principe:**

Après avoir préparé un hémolysat, dont la fraction labile est éliminée, les hémoglobines sont retenues par une résine d'échange cationique. HbA_{1c} est éluée de façon spécifique, après élimination par lavage de HbA_{1a+b}, et est quantifiée par lecture photométrique à 415 nm. L' estimation de la concentration relative de HbA_{1c} est réalisée par rapport à la concentration d'hémoglobine totale, déterminée également par lecture photométrique à 415 nm.

I-2-2-2-Réactifs:

Réactif 1: Phtalate de potassium.....50mmol/L

Détergent.....5g/L

Azide de sodium.....0.95 g/L

PH.....5

Réactif 2: Tampon phosphate.....30mmol/L

PH.....6.5

Azide de sodium.....0.95 g/L

Réactif 3: Tampon phosphate.....72 mmol/L

Microcolonnes: Elles contiennent de la résine d'échange ionique équilibrée avec :

Tampon phosphate72 mmol/L

PH.....6.5

Azide de sodium.....0.95 g/L

Mode d'opérateur:**Préparation de l'hémolysat et élimination de la fraction labile**

1. Attendre quelques minutes que les réactifs et les colonnes atteignent la température ambiante (21-26°C).

2. Pipeter dans un tube à essai:

Sang.....50µL

Réactif (1).....200µL

3. Agiter et laisser à température ambiante pendant 10-15 min. Cet hémolysat sera utilisé dans les étapes 6 et 11.

Préparation de la colonne

4. Déboucher la partie supérieure de la colonne et casser ensuite la languette inférieure.

5. A l'aide de l'extrémité plate d'une pipette, descendre le disque supérieur jusqu'au niveau de la résine, en évitant de la comprimer. Laisser goutter jusqu'à ce que le liquide atteigne le niveau du disque, éliminer l'éluat.

Séparation et lecture de la HbA_{1c}:

6. Appliquer avec précaution sur le disque supérieur: Eliminer l'éluat

Hémolysat.....50µL

7. Quand l'hémolysat a entièrement pénétré ajouter: Eliminer l'éluat

Réactif (2).....200µL

8. Pipeter: Eliminer l'éluat

Réactif (2).....2 mL

9. Placer la colonne sur un tube à essai et ajouter : Récupérer l'éluat (fraction HbA_{1c})

Réactif (3).....4 mL

10. Bien agiter et lire l'absorbance de la fraction HbA_{1c} à 415 nm par rapport à de l'eau distillée (A_{HbA_{1c}}).

L'absorbance est stable pendant au moins une heure.

Lecture de la HbTOTAL:

11. Pipeter dans un tube à essai:

Réactif (3).....12mL

Hémolysat.....50μL

12. Bien agiter et lire l'absorbance de la HbTOTAL à 415 nm face à de l'eau distillé. L'absorbance est stable pendant au moins une heure.

Calculs:

La concentration relative de HbA_{1c} dans l'échantillon est calculée à partir de la formule générale suivante:

$$[(A_{HbA1c} \times V_{HbA1c}) / (A_{HbTOTAL} \times V_{HbTOTAL})] \times 100 = \%HbA1c$$

Le norme: < 6 %

I-2-2-3-Dosage de triglycéride:

I-2-2-3-1-Principe :

Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes :

Triglycérides $\xrightarrow{\text{Lipoprotéine Lipase}}$ Glycérol + Acides gras.

Glycerol + ATP $\xrightarrow{\text{Glycerol Kinase, Mg}^{++}}$ Glycérol-3-P + ATP

Glycérol-3-P + O₂ $\xrightarrow{\text{Glycérol -3-P Oxydase}}$ H₂O₂ + Dihydroxyacétone-P

H₂O₂ + Amino-4-Antipyrine + Chloro-4-Phénol $\xrightarrow{\text{Peroxydase}}$ Quinonéimine (rose) + H₂O

I-2-2-3-2-Réactifs :

Réactif 1: Tampon pipes pH..... 7,2 50 m mol/l

Solution tampon Chloro-4-phénol2 m mol/l

Réactif 2: Lipoprotéine lipase	150000 U/l
enzymes Glycéro kinase	800 U/l
Glycérol 3-P-Oxydase	4000 U/l
Péroxydase	440 U/l
Amino-4-antipyrine.....	0,7 m mo/l
ATP	0,3 m mol/l
Réactif 3 : Standard glycérol	200 mg/dl
Standard (en tri oléine).....	2 g/l
.....	2,28 m mol/l

I-2-2-3-3-Mode opératoire :

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

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

Tableau 2:Préparation d'échantillon de TG.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard		10 µL	
Echantillon			10 µL
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, incuber 5 min, à 37° C ou 10 min à 20-25° C. Lire contre le blanc.

Stabilité de la coloration 30 min à l'abri de la lumière.

Calcule:

(A)Echantillon/(A)Standard× 200 (Standard conc.) =mg/dl. TG dans échantillon.

Valeur usuelle: mg/dl× 0.0113= mmol/l.

I-2-2-4-Dosage de cholestérol:**I-2-2-4-1-Principe :**

Les esters de cholestérol sont hydrolysés enzymatiquement par le cholestérol estérase qui les décompose en cholestérol et en acides gras libres.

Cholestérol ester + H₂O $\xrightarrow{\text{Chol. Estérase}}$ Cholestérol + Acides gras.

Le cholestérol est ensuite oxydé par le cholestérol oxydase pour former du cholesténone et peroxyde d'hydrogène.

Cholestérol + 1/2 O₂ + H₂O $\xrightarrow{\text{Chol. Oxydase}}$ Cholesténone + H₂O₂

I-2-2-4-2-Réactifs:**Réactif 1:** Solution , tampon

Pipes PH 6.9.....90mmol/l

Phenol.....26 mmol/l

Réactif 2: Cholestérol.....300 U/l

Oxydase.....1250 U/l

Peroxydase.....300 U/l

Cholestérol estérase Amino-4- antipyrine.....0.4 mmol/l

Réactif 3: Standard

Nitrite de Sodium.....200 mg/dl

.....2 g/l

.....5.17 mmol/l

I-2-2-4-3-Mode opératoire :

Longueur d'onde :505 nm (500-550)

Température :37°C

Cuve :1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

Tableau 3: Préparation d'échantillon de cholestérole.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard		10 µL	
Echantillon			10 µL
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, incuber 5 min, à 37° C ou 10 min à 20-25° C. Lire contre le blanc.

Stabilité de la coloration 30 min à l'abri de la lumière.

Calcule: $(A)_{\text{Echantillon}} / (A)_{\text{Standard}} \times 200 \text{ (Standard conc.)} = \text{mg/dl. Cholestérol dans échantillon.}$ Valeur usuelle: $\text{mg/dl} \times 0.0258 = \text{mmol/l.}$

RESULTAS EST DISCUSSION

II.1. Résultats :

Nous avons réalisé une étude descriptive et statistique de quelques paramètres biochimiques de la maladie et ces complications qui incluent les moyennes et l'écarttype des variables quantitatives comme suite, en utilisant logiciel Excel 2007 :

La moyenne est calculée selon la formule :

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

L'écart type est calculé selon la formule :

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Dans notre étude à l'aide des éléments suivants:

NS: variation non significative $P > 0.05$

*****: variation significative $P < 0.05$

******: variation hautement significative $P < 0.01$

*******: variation très hautement significative $P < 0.001$

II.1.1. Taux du glycémie à jeun:

Le dosage s'effectue pour quantifier le glucose dans le sérum humain. Pour la réalisation du dosage, une prise de sang veineux du patient doit être faite à jeun. Le sang est prélevé sur l'anticoagulant (fluorure-héparine ou l'héparine-iodacétate). Il est conseillé d'éviter de traiter les échantillons hémolysés ou contaminés.

Tableau 4: Taux de glycémie à jeun chez les diabétiques par rapport les sujets sains.

Groupes des patients	Sains	diabétiques
Taux de glycémie à jeun (mg/ L) Moy $\pm$ S	0.9131 $\pm$ 0.1231	1.729 $\pm$ 0.900**

** : variation hautement significative $P < 0.01$

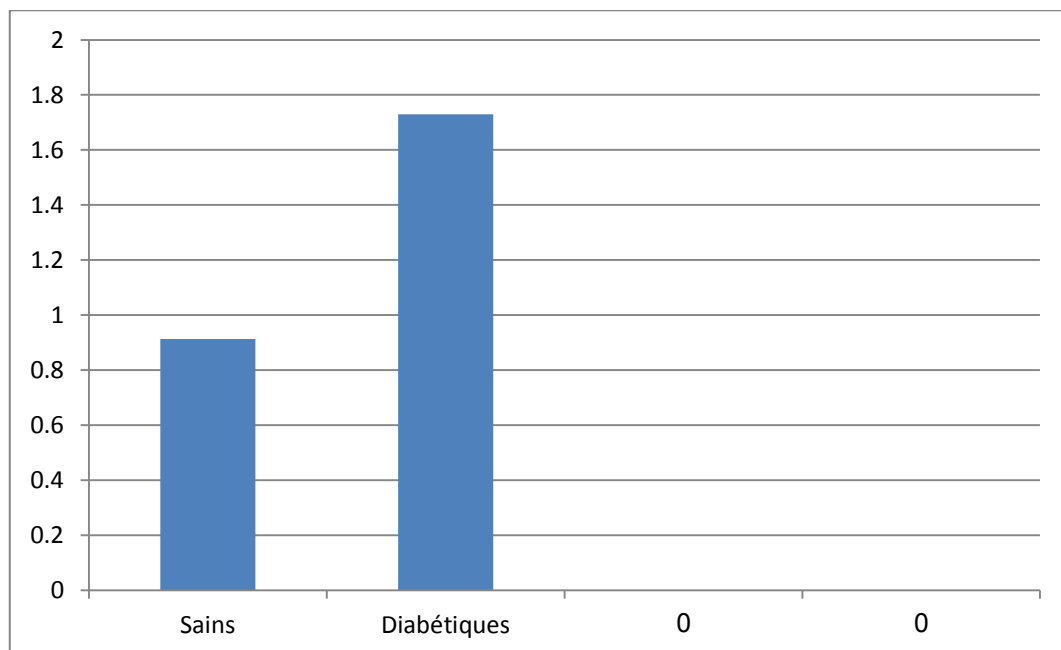


Figure 6: Taux de la glycémie à jeun chez les diabétiques par rapport les sujets sains.

Notre résultats (tableau 1et figure 7) montrent qu'il ya une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) chez les groupes de diabétiques par rapport aux groupes sains.

II.1.2.L'effet de variation de taux HbA_{1c} chez les diabétiques:

Tableau 5: Taux de l'hémoglobine glycosylée chez les diabétiques par rapport les sujets sains.

Groupes des patients	Sains	diabétiques
Taux de hémoglobine glycosylée (mg/ L) Moy±S	5.371±0.536	9.370±2.370***

***: variation très hautement significative P< 0.001

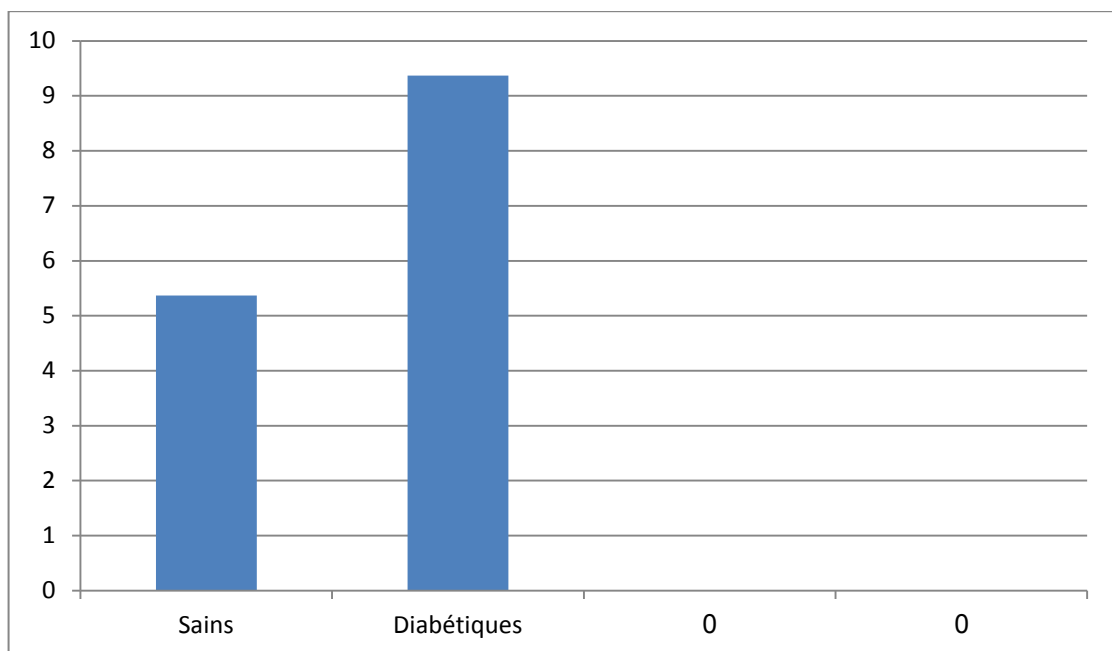


Figure 7: Taux de HbA_{1c} chez les diabétiques par rapport les sujets sains.

Notre résultats (tableau 2 et figure 8) montrent qu'il ya une augmentation très hautement significative (P< 0.001) chez groupes malades par rapport aux groupes sains.

II.1.3.L'effet de diabète sur triglycéride :

Tableau 6: Taux de la triglycéride chez les diabétiques par rapport les sujets sains.

Groupes des patients	Sains	Diabétiques
Taux de triglycéride (mg/L) Moy±S	1.0746±0.3261	1.070±0.587 NS

NS: variation non significative P> 0.05

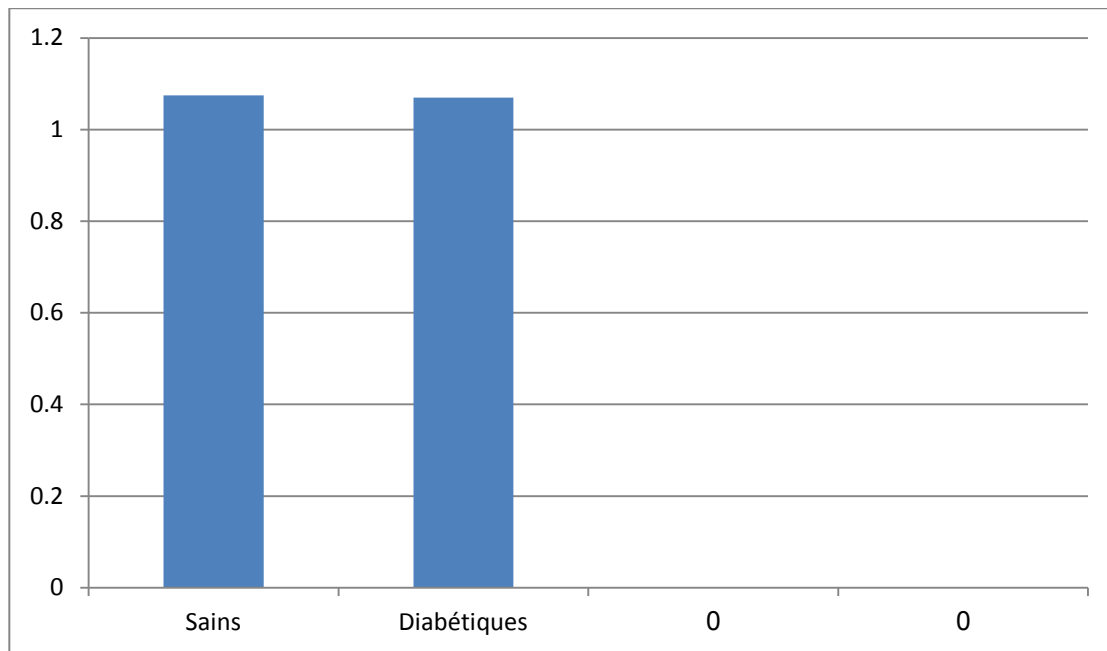


Figure 8: Taux de triglycéride chez les diabétiques par rapport les sujets sains.

Notre résultats (tableau 3 et figure 9) montrent qu'il n'y a pas une augmentation de la moyenne de triglycéride non significative ($P > 0.05$) chez groupes malades par rapport aux groupes sains.

II.1.4.L'effet du diabète sur cholestérol :

Tableau 7: Taux de la cholestérol chez les malades par rapport les sains.

Groupes des patients	Sains	diabétiques
Taux de cholestérol (mg/L) Moy $\pm$ S	1.8092 $\pm$ 0.2155	1.542 $\pm$ 0.465 NS

NS: variation non significative $P > 0.05$

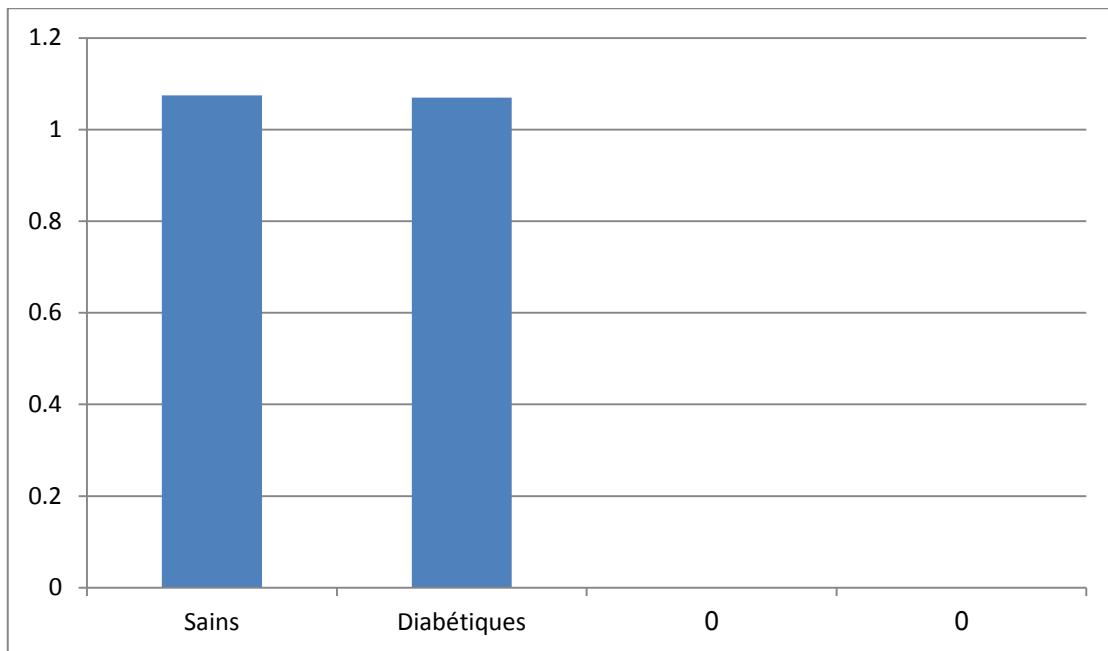


Figure 9: Taux de cholestérol chez les diabétiques par rapport les sujets sains.

Notre résultats (tableau 4 et figure 10) montrent qu'il n'y a pas une augmentation de la moyenne de cholestérol non significative ($P > 0.05$) chez groupe malades par rapport aux groupe sains.

II.2.Discussion :

D'après les résultats de l'analyse glycémique chez 16 patients diabétiques et 16 patients sains pendant la période d'étude , on a noté une glycémie non équilibrée chez les patients diabétiques par rapport les patients sains , avec une glycémie à jeun supérieur à 1.35 g/l ou moyenne de 1.729 ± 0.900 g/l (tableau 4; p:20). Le taux élevé est du à la dysfonction du pancréas qui est responsable de sécrétion des hormones(insuline, glucagon) l'augmentation du glucose est généralement à cause des résultats auto-immun on prédisposition génétique et des facteurs environnementaux. (William J.M. et *al.*2005)

Les résultats de HbA1c est très élevé, montre que HbA1c est influence par le taux de glucose et ça liaison à l'hémoglobine qui est liaison covalent donc irréversible de fait l'HbA1c reflète la glycémie du patients durant 03 mois qui président le prélèvement, c'est pour cela l'HbA1c est un paramètre excellent pour la suivi du diabète et le contrôle équilibre glycémique (William J.M. et *al.*2005)

le cholestérol est une composante biologique importante dans l'athérosclérose, un processus pathogénique qui progresse avec l'âge (Guebre E.F.et Fouque D., 2006). Le taux de cholestérol total chez nos patients, comme indiqué sur le Tableau 7, n'était pas corrélé avec le degré de la fonction rénale, alors que d'autres chercheurs ont observé un taux de $2,0 \pm 0,54$ g/L (Bouattar T. *et al.*, 2009) et de $2,22 \pm 0,50$ g/L (Kamoune F. *et al.*,2010)

La mesure de la concentration des triglycérides sanguins est importante dans le diagnostic et le suivi de l'hyperlipidémie, facteur de risque vasculaire notamment chez les diabétiques (Oulahiane P. *et al.*, 2011). Dans notre étude, le taux de triglycéride est normale chez les deux groupes de patients (tableau 6). D'autres études menées sur des diabétiques de type 2 ont enregistré différents résultats; enTunisie : $1,95 \pm 1,02$ g/L (Kamoune F. *et al.*, 2010) et au Congo : $1,18 \pm 0,94$ g/L(Katchunga P. *et al.*,2010). Plusieurs d'autres études ont montré que les triglycérides ne sont plus des marqueurs de risque indépendants(Tolenen N.*et al.*, 2009 ; Goudi, 2008) L'hyper triglycéridémie serait en rapport avec une accumulation des VLDL et IDL, due à une diminution des activités lipolytiques de la lipoprotéine lipase et de la lipase hépatique (Jamoussi K. *et al.*, 2005).

Dans notre étude on a noté que 62.5% des diabétiques sans complication, dans l'étude de Bouattar et *al* 2009, il a été noté que 78.4% des diabétiques sans complication ont une glycémie déséquilibré (Bouattar T. et *al*, 2009)

CONCLUSION

Conclusion

Le diabète sucré est une pathologie humaine plus fréquente est considéré comme un problème de santé, c'est pour ça, nous avons réalisé une étude de l'effet de diabète sur quelques paramètres biochimiques.

Les résultats obtenus à travers notre étude, ont montré que la glycémie qui est souvent utilisée comme biomarqueur de dysfonction du pancréas dans le milieu hospitalier, est un test simple et efficace mais il doit être associé à d'autres tests biologiques classiques tels que les dosages d'hémoglobine glyquée et le TG et cholestérol à temps précoce.

Notant finalement que le contrôle de la glycémie est insuffisant dans notre population, car ce sont des facteurs de risque primordiaux. Nous avons constaté que certains patients sont loin des normes pour un équilibre glycémique et les chiffres restent trop élevés par rapport à d'autres études étrangères. Il est clair que le mauvais contrôle d'hygiène de vie ainsi que le manque de connaissances des risques liés au diabète sont responsables de l'état de santé de nos diabétiques. Un contrôle régulier et permanent de la glycémie, du régime alimentaire ainsi qu'une prise en charge thérapeutique adéquate est une solution pour mieux vivre avec le diabète.

Cette étude reste préliminaire et superficielle, elle nécessite d'autres études approfondies. Dans ce contexte, et comme perspectives de notre travail, il serait intéressant de poursuivre la recherche sur un modèle animal afin de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces événements.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

1. Anonyme (2000). Human Anatomy. 4^{ème} édition by J.A.Gosling.C.P12.
2. Anonyme(1972). Revue roumaine d'embryologie et de cytologie. Académie de la république socialiste de roumanie.P25.
- 3.Auberval N.(2010). Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse magister: Physiologie et biologie des organismes- populations – interactions. Ecole doctorales des sciences de la vie et de la santé. Université de StrasBourg.P45-50.
- 4.Bouattar T., Ahid S., Benasila S., Mattous M., Rhoo H. ,et al., (2009) : .Les facteurs de progression de la néphropathie diabétique : prise en charge et évolution. Néphropathie et Thérapeutique. 5 :181-87.
5. Collart F.(2003). Insuffisance rénale. protéinurie et néphropathie diabétique .REV. Burx. P33.
6. Cordonnier D.,Amaud J .; Jurkovitz C.,Hachache T. (1994). complications of dialysés.P
7. Domard A.; Rinsudo M.(1976). Biopolymers.P
8. Farlance M.C. *Sachanc* .,Bosquet F.(2003). Néphropathie. Association canadienne du diabète. Lignes directrices de pratiques clinique. P
9. Goudi P.(2008). Diabète de type2 et insuffisance rénale. une situation a haut risque cardiovasculaire. Médecine des maladies métabolique.P
10. Grimaldi A.(2000). Diabétologie. questions d'internat université. Faculté de médecine. p87-94.PARRIS.P42.
- 11.Guebre E.F., Fonque D. (2004) : Altérations métaboliques au cours de l'insuffisance rénale chronique. Nutrition clinique et métabolisme. 18: 3-6.
- 12.Jamoussi K., Ayedi F., AbidaN., Kamoun K., et al. (2005) : Profil lipidique dans l'insuffisance rénale chronique au state d'hémodialyse. Pathologie Biologie. 53 : 217-20.
- 13.Kamoune F., Benalaya N., Idriss S., Sayem N., et al. (2010) : Appréciation du profil tensionnel par la mesure ambulatoire de la pression artérielle chez les diabétiques hypertendus traités : La Tunisie Médicale. Vol. 88. No.12 : 885-889.

- 14.Katchunga P., Hermans M.P., Manwa B., Lepira F., et al. (2010) : Hypertension artérielle, insulinoresistance et maladies rénales chroniques dans un groupe de diabétiques de type 2 du Sud- Kivu.R.D. Congo : Néphrologie et Thérapeutique .6 : 520-25.
- 15.Khiati M.(1991). Le diabète sucré chez l'enfant. Office des publications universitaires. p16.centrale de Ben Aknoun (Alger). P160.
16. Khalfa S. (2001). Le diabète sucre.Office des publications universitaires.p8-9 Inssem d'Alger.P145.
17. Lefèvre P.(1995). Glucagon and its family revisited. P
- 18.Mimouni Zerguini S.(2001). Le diabète sucré. Endocrinologie. Diabétologie et maladie métabolique .P200.
- 19.Mourino J.*Cornella I*.,Suqrew R.(2004).Steroid biochimie Mol.p 40-41.Biol.p89.
- 20.Oulahiane A., El hadad N., El mazouni Z., Iraqui H., et al. (2011) : Dyslipidémie et risque cardio-vasculaire chez les diabétiques de type 2. Diabetes & Metabolism vol.37.Iss.1 : p, A78.
21. Qesada I.,Tuduri E.,Ripoll C. (2008). physiology of the pancreatic alpha. cell and glucagon secretion, role in glucose homeostasis and diabetes .p5-19. Endocrinol . P199.
22. Raynal R.; Cortie C.(2005). Le diabete de type 02. P29-31. aspect fondamentaux. P70.
- 23.RouilleY.*Martin S, Steiner C*.(1995). Differential processing of proglucagon by the subtilisin-like. prohormone convertases Pc2 and PC3 to generate either glucagon or glucagon-like peptide. P .111.
- 24.Stocker., *Grimaldi A, Steiner C*. (1997) .Biochemistry and pathology of radical. mediated protein oxidation.p201.
- 25.Talonen N., Forsblom C., Thom L., Waden J., et al. (2009): Lipid abnormalities predict progression of renal disease in patients with type 1 diabetes. Diabetologia. 52 (25-22): 25-30.
- 26.Tortora D.(2002). Principes d'anatomie et de physiologie.13-50. De Boeck.4ème édition. P270.
- 27.Tournont F.,*Heurtier A, Posquet F*.(2004). Diabète de type 02. classification du diabète sucré critères diagnostiques et dépistage.48-49. Elsevier.p70.

28. William F. G. (2005). Physiologie médicale . sciences médicales . série Claude Bernard. p313-314 . de Boeck. 2^{ème} édition. p340 .

29. William J.M.; Stephen K.B. (2005). Biochimie médicale. Physiopathologie et diagnostic. P188-191. Elsevier. P260.

ANNEX



Photos 1: Appareil de mesure glycémie



Photos 2: spectrophotomètre



Photos 3: Centrifugées



Photos 4: Bain marie



Photos 5 : Appareil mesure triglycérade



Photos 6: Appareil mesure cholestérol

RESUME

Résumé

Le diabète est une maladie métabolique qui affecte des millions des personnes.

Certain paramètres biochimiques pourront diagnostiquer cette maladie comme la glycémie à jeun, HbA1c, cholestérol et triglycéride.

Nous avons réalisé une étude sur 16 personnes diabétique et 16 personnes sains au sein de laboratoire d'analyse médicale de l'hôpital Ben Omor Djilani et l'hôpital Bachir Ben Nassar et clinique de Dr Rokh.

Les résultats obtenus montrent que le diabète à un effet sur quelques paramètres biochimiques tels que l'augmentation du taux de glycémie à jeun, HbA1c. A cause du traitement au sein de l'hôpital on a remarqué que le taux de cholestérol et du triglycéride est normale chez ces diabétiques hospitalisés. D'après les résultats obtenus on peut dire que l'HbA1c c'est le bon marqueur de cette maladie car il représente le glucose liée à l'hémoglobine durant 03 mois.

Mots clés : Diabète, DID, DNID, HbA1c, glycémie, cholestérol, triglycéride.

المخلص:

مرض السكري هو مرض استقلابي يؤثر على الملايين من الناس .

يمكن لبعض القياسات البيوكيميائية تشخيص هذا المرض مثل السكر الصائم, الهيموغلوبين السكري, الكولسترول و الدهون الثلاثية.

أجرينا دراسة على 16 شخص سكري و 16 شخص سليم في مختبرات التحاليل الطبية من مستشفى بن عمر الجيلاني و مستشفى بشير بن ناصر و عيادة الدكتور الرخ.

أظهرت النتائج أن مرض السكري له تأثير على بعض المعالم البيوكيميائية كارتفاع السكر الصائم, الهيموغلوبين السكري. ذلك بسبب العلاج في المستشفى فنسجل أن معدل الكولسترول و الدهون الثلاثية عادي عند مرضى السكري الموجودون في المستشفى، بحسب هذه النتائج يمكن القول أن الهيموغلوبين السكري هو علامة جيدة لهذا المرض لأنه يمثل الجلوكوز مرتبط بالهيموغلوبين مدة ثلاثة أشهر.

الكلمات المفتاحية : مرض السكري, مرض السكري المعتمد على الأنسولين, غير السكري المعتمد على الأنسولين, الهيموغلوبين السكري, نسبة السكر في الدم, الكولسترول, الدهون الثلاثية.