

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (D04)

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

M<sup>elle</sup> BAKHTI Kheira

M<sup>elle</sup> BELAMARI Nour Elhouda Imen

M<sup>me</sup> BEGHALIA Soumia

## Thème

**Evaluation du statut oxydatif chez les personnes  
hypertendues de la wilaya de Tiaret**

Soutenu publiquement le .....

**Jury:**

**Président : Mr ACEM K.**

**Encadreur: Mme BENARABA R.**

**Co-encadreur: Mme BENGUIAR R.**

**Examineur : Mme BOUDALI S.**

**Grade**

**MCA**

**MCA**

**MAA**

**MAA**

**Année universitaire 2018-2019**

## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude vont particulièrement à notre encadreur le Docteur **BENARABA RACHIDA**, qui a dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses précieux conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et sans lui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nous remercions chaleureusement Madame **BENGUIAR RACHIDA**, pour nous avoir fait l'honneur d'être notre Co-promotrice. Mille mercis Madame pour votre soutien, vos précieux conseils, vos encouragements, votre rigueur, votre enseignement et votre confiance inébranlable.*

*Nous tenons à remercier profondément Monsieur **ACEM K** pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.*

*Aussi, nous tenons à remercier profondément Madame **BOUDALI S.** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous exprimons notre reconnaissance, nos haute considération et notre profond respect au chef de spécialité **M<sup>r</sup> HOCINE** pour ses efforts inlassables sa gentillesse, sa disponibilité et sa patience, merci monsieur.*

*Aucun mot ne serait exprimé notre gratitude et nos sincères formules de respect et de politesse spéciales aux cher professeurs **M<sup>r</sup> BENAICHATA** et **M<sup>r</sup> BENAÏSSA** pour leur aide précieuse en matière de statistiques et de méthodologie de travail à la fois unique.*

*Nous remercions également l'ingénieur de laboratoire Madame **Fatiha** et les laborantines : **Zineb, Sonia, kheira** et **Imene** pour nous avoir accueilli dans son laboratoire, pour sa disponibilité, ses nombreux conseils, son aide précieuse et surtout pour ses qualités humaines et scientifiques....*

*Nos immenses remerciements s'adressent aux doctorantes **M<sup>elle</sup> Noura** et **Halima** pour nos prodiguant tout aide possible, et en nos consacrant son temps précieux*

*Nous exprimons Nos vifs et sincères remerciements à tous les patients et volontaires qui ont participé à cette étude .....*

## Dédicaces

*Nous commençons par remercier «ALLAH» tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et l'amour du savoir pour pouvoir réaliser ce modeste travail.*

*A mes CHERS parents **AEK** et **GHEZALA** je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Vos prière, vos encouragements et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours, puisse dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

*A mes chers frères: **DJAMEL, OMAR, MOHAMMED***

*A mes chers sœur: **HAYET ET SABHA***

*Merci de m'avoir accueilli parmi vous puisse ce travail témoigné de ma profonde affection et de ma sincère estime*

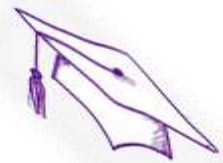
*A mon cher ami **Fayçal** qu'Allah vous protégé et qu'il vous accorde santé et longévité*

*A mes très chers amies **Marwa , ASMA ,Anouar , Manel , Amel ,KHALDIA ET FATIHA .***

*A mon binôme **Imen et Soumia***

*A toute la promotion de Master II **Microbiologie Appliquée 2018/2019***

*Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements.*



**BAKHITI kheira**

## ***Dédicaces***

*Avant toute chose, Je remercie « ALLAH » qui m'a donné la force, le courage et la patience afin de réaliser ce modeste travail.*

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce modeste travail :*

*A la mémoire de mon cher papa ABDEL KADER « Allah Yerahmou » Décédée trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. Et su guider nos pas et nous montrer le droit chemin Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, si je n'ai pas toujours su te le dire, aujourd'hui j'ai envie de te l'écrire.... Papa je t'aime. Que Dieu, le miséricordieux, l'accueil dans son éternel paradis!*

### ***A Ma chère mère : NACERA***

*Mon Deuxième Souffle, qui m'a mis au monde, veillé sur moi, et qui a su me transmettre ses valeurs et son chaleureux amour durant toutes ces années qui m'a encouragé et qui a veillé à ce que je réussisse à mes études, qui m'a permis de donner le meilleur de moi-même et me surpasser. Je t'aime aujourd'hui plus qu'hier mais bien moins que demain. Que Dieu te Garde pour nous.*

### ***A mon frère HOCINE***

*Mon épaules solides, mes yeux attentifs compréhensifs et le personne le plus dignes de mon estime et de mon respect  
Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu te préserve et procure santé et longue vie et bonheur...*

### ***A ma très chère grande mère : HADJA FATIMA***

*Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

### ***A ma grande famille***

*Je cite Mes Chers TANTES et ONCLES et en particulier HADJ MANSOUR, YAMINA et nos agréables et aimables Belle filles pour tout le soutien que vous m'avez offert, puisse le Dieu tout puissant vous donner longue vie.*

*J'exprime mes vifs et sincères remerciements, A SOUFIANE, NASREDDINE ET ABDELILLAHA qui ont participé et m'a aidé soutenus pendant tout mon cursus universitaire  
Que dieu les protège et leur réalise leurs rêves souhaits.*

*Un grand merci a mon binômes KHEIRA et SOUMIA et à tous mes amis de la promotion de microbiologie Appliquée Surtout ASMA, MAMIA, HOURIA, HOUDA, FOUZIA e .Je vous remercie pour les moments inoubliables que nous avons partagés ensemble, Merci infiniment...*

**BELAMARI NOUR ELHOUDA IMEN**



## **Dédicaces**

*A «ALLAH» le Tout Puissant, Maître du temps et des circonstances, plein d'amour, de tendresse et de bonté,*

*A mon père **Mohammed** ;*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A ma très chère mère **LALIA** ; Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de Prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*Je dédie spécial Mon mari **DJAMEL** ; qui n'a jamais cessé de croire source d'amour et de tendresse , me pousser dans mes choix, et qui m'encourage toujours à aller plus loin, quoique cela nous coûte. Ta patience m'a toujours égayé même dans les moments les plus durs.....*

*A mes chers frères: **Ahmed, DJILALI, Abdel Kader** et le petit **Nadir**.*

*A mes tendres sœurs: **Faiza** et **Nabila**.*

*A ma 2ème famille : Mes parents : **Mohammed** et **Bakhta**, Ma belle-sœur **Mazouri** et ses filles **Hadjer** et **Djinéne EL Rahmane** et Mes beau frères **Abdel Allah** et **Abdel Kader**.*

*A mon binôme **IMEN** et **Kheira** qui ont partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.....*

*Sans oublier mes chers amies **Bakhta, Fatima, Nesrine, Mamia** et a Tous ceux qui ont connus.*

*A toute La promotion de la spécialité microbiologie appliquée.*



**BEGHALIA SOUMIA**

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>AVC</b>	: Accident Vasculaire Cérébral
<b>BHT</b>	: Butylhydroxytoluène
<b>ERO</b>	: Espèces Réactives de l'Oxygène
<b>FRAP</b>	: Ferric Reducing Ability Plasma
<b>HDL</b>	: High Density Lipoprotein
<b>HTA</b>	: Hypertension Artérielle
<b>LDL</b>	: Low Density Lipoprotein
<b>MCV</b>	: Maladie Cardio-vasculaire
<b>MDA</b>	: Malondialdéhyde
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>PA</b>	: Pression Artérielle
<b>PAD</b>	: Pression Artérielle Diastolique
<b>PAS</b>	: Pression Artérielle Systolique
<b>SDS</b>	: Sodium Dédocyl Sulfate
<b>TBA</b>	: Acide thiobarbiturique
<b>TBARS</b>	: Thiobarbituric Acide Réactive Substances
<b>TCA</b>	: Acide Trichloracétique
<b>TG</b>	: Triglycérides
<b>TPTZ</b>	: Tripyridyl-s- Triazyne
<b>Vit C</b>	: Vitamine C
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	: Anions superoxydes
<b>NADPH</b>	: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase
<b>NO</b>	: Oxyde nitrique
<b>OH<sup>•</sup></b>	: Radical hydroxyle
<b>VLDL</b>	: Very Low Density Lipoproteins

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure N°01</b>	: Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale.....	07
<b>FigureN°02</b>	: Formation de complexe coloré Malondialdehyde (MDA)/acide thiobarbiturique (TBA) .....	11
<b>Figure N°03</b>	: Mécanisme réactionnel entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (RH).....	12
<b>Figure N°04</b>	: Teneur plasmatique en MDA des sujets hypertendus âgés et jeunes ; femmes et hommes hypertendus .....	17
<b>Figure N°05</b>	: Pouvoir réducteur plasmatique chez les sujets hypertendus âgés et jeunes ; femmes et hommes hypertendus .....	18
<b>Figure N°06</b>	: Teneur en Acide ascorbique (vitamine C) plasmatique chez les sujets hypertendus âgés et jeunes ; femmes et hommes hypertendus .....	19

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau N°01** : Matériel et produits chimiques utilisés.....06

**Tableau N°02** : Impact de l'HTA sur les paramètres oxydatifs et biochimiques .....15



## LISTE DES ANNEXES

- Annexe I** : Questionnaire.
- Annexe II** : Fiche technique de prélèvement sanguin.
- Annexe III** : Préparation des solutions tampons
- Annexe IV** : Fiche technique de dosage de Cholestérol.
- Annexe V** : Fiche technique de dosage des HDL.
- Annexe VI** : Fiche technique de dosage des LDL.
- Annexe VII** : Fiche technique de dosage des Triglycérides.
- Annexe VIII** : Courbes des gammes d'étalonnage pour le dosage de vitamine C, FRAP et TBARS
- Annexe IX** : Résultats des paramètres biochimiques et oxydatifs obtenus chez les sujets non hypertendus
- Annexe X** : Stress oxydant

<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<i>i</i>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<i>ii</i>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<i>iii</i>
<b>LISTE DES ANNEXES.....</b>	<i>iv</i>

## SOMMAIRE

### INTRODUCTION

### ÉTUDE EXPERIMENTALE

#### **CHAPITRE I: Matériel et Méthodes**

I.1. Objectifs du travail.....	05
I.2. Investigation clinique .....	05
I.2.1 Critères cliniques de l'étude.....	05
I.3. Investigation biologique.....	06
I.3.1 Matériel et produits chimiques .....	06
I.3.2. Procédure expérimentale .....	07
I.3.3. Prélèvement sanguin .....	08
I.3.4. Evaluation de profil lipidique .....	08
I.3.4.1. Détermination des teneurs en cholestérol total .....	08
I.3.4.2. Détermination des teneurs plasmatique en HDL et LDL .....	09
I.3.4.3 Détermination des teneurs plasmatiques en triglycérides .....	09
I.3.5. Evaluation du statut oxydatif .....	10
I.3.5.1. Mesure des marqueurs de peroxydation lipidique TBARS .....	11
I.3.5.2. Mesure du pouvoir antioxydant plasmatique total par la technique FRAP .....	11
I.3.5.3. Dosage de la vitamine C plasmatique .....	12
I.4. Analyses statistiques .....	13

#### **CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION**

II.1 Evaluation des paramètres oxydatifs et du bilan lipidique chez les personnes hypertendues et non hypertendues .....	15
II.2. Evaluation de l'oxydation lipidique chez les personnes hypertendues : influence de l'âge et du genre.....	16

II.3. Evaluation du pouvoir réducteur total au niveau plasmatique chez les personnes hypertendues, influence de L'âge et du sexe .....	17
II.4. Evaluation du taux sérique de la vitamine C : influence de l'âge et du sexe .....	18

## **CONCLUSION**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

# *Introduction*

Dans les pays en voie de développement, les maladies cardiovasculaires (MCV) ont été longtemps considérées comme les pathologies des populations aisées. Mais il s'avère que ces pays ont connu au cours des dernières décennies une transition épidémiologique caractérisée par une régression des maladies infectieuses et une progression importante et régulière des MCV. Parmi les MCV, l'hypertension artérielle (HTA) représente de loin l'affection la plus courante et elle pose actuellement par sa fréquence et ses répercussions, un grave problème de santé publique dans les pays en voie de développement y compris l'Algérie (**Lardjam-Hetraf et al., 2014**). Elle entraîne des conséquences graves au niveau des divers organes cibles dont les plus fréquentes sont, l'insuffisance cardiaque et l'accident vasculaire cérébral (AVC).

L'HTA qui s'exprime par une pression artérielle (PA) anormalement élevée d'origine multifactorielle. Elle est le plus souvent asymptomatique. On distingue l'HTA essentielle (90 % des cas) sans cause actuellement identifiable et les HTA secondaires, le plus souvent expliquées par une dysfonction endocrinienne ou rénale. Le développement d'une HTA essentielle peut être favorisé par un terrain génétique défavorable, mais dépend surtout de déséquilibres comportementaux (alimentaire avec un excès calorique et de sel, sédentarité et inactivité physique (**Giuseppe et al., 2013**)).

L'HTA est un facteur de risque majeur indépendant et modifiable de développement d'une maladie coronaire, d'un accident vasculaire cérébral, d'une insuffisance cardiaque, et d'une maladie rénale. Parmi les nombreux processus mécanistique sous-jacent qui jouent un rôle majeur dans l'installation de l'HTA et le développement de ses complications, les dommages vasculaires dus à la production et la biodisponibilité excessive des espèces réactives de l'oxygène qui entraînent un stress oxydatif non contrôlé (**Montezano et al., 2015**). En effet, le stress oxydant est le terme se rapportant au déséquilibre entre la génération des oxydants et l'activité des défenses anti-oxydantes, qui pourrait mener aux dommages oxydants (**Sayre et al., 2008**). C'est une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des espèces radicalaires toxiques (**Ríos-Arrabal et al., 2013**). L'excès de ces espèces radicalaire sont incriminés dans la survenues des maladies métaboliques par le biais de l'induction d'une défaillance d'un organe ou d'une voie métabolique importante (ex l'inflammation), comme dans le cas du l'HTA.

Cependant et bien que les preuves expérimentales indiquent que le stress oxydant fait partie des nombreux processus impliqués dans la physiopathologie de l'hypertension, De manière surprenante, les études sur les humaines souffrant d'hypertension sont moins convaincantes et restent controversées. Dans ce contexte, il semblerait nécessaire d'établir un

lien de causalité entre le stress oxydatif et la survenue de HTA et ses complications cardiométaboliques, chez les personnes souffrantes de cette pathologie.

L'approche thématique de notre étude est à la fois clinique et biologique chez les individus hypertendus de la ville de Tiaret ; elle vise à :

- ✓ Etudier le statut oxydant chez les personnes hypertendues de la ville de Tiaret.
- ✓ Etablir une corrélation entre l'oxydation lipidique et le bilan lipidique chez les sujets hypertendus.
- ✓ Déterminer la relation entre statut oxydatif, l'HTA, sexe et l'âge.

# *Etude Expérimentale*

*Chapitre I*  
*Matériel et méthodes*



## **I.1 Objectifs de l'étude**

Cette étude s'intéresse à évaluer le statut oxydatif chez les personnes hypertendues de la ville de Tiaret et ce afin de déterminer l'influence du sexe ou de l'âge sur la relation existante entre statut oxydatif et l'HTA. Elle vise également à établir un lien entre le déséquilibre oxydatif et le profil lipidique des sujets hypertendus.

## **I.2. Investigation clinique**

### **I.2.1. Critères cliniques de l'étude**

Il s'agit d'une étude clinique, destinée à évaluer le statut oxydatif du patient hypertendu. Dans ce cadre, nous avons sollicité quatre établissements de santé publique au niveau de la ville de Tiaret à savoir MOKHTARI ALI, BEUBKER KHALED, BENYAHIA BAKHTA et ZAAROURA. Des groupes de sujets hypertendus et des sujets non hypertendus ont été recrutés au sein de ces établissements et ce pendant la période allant du mois Décembre 2018 jusqu'au mois de Mai 2019. Durant cette période 100 sujets ont été recensés, regroupant 15 hommes et 85 femmes, âgés entre 17 et 86 ans. Compte tenu des critères d'exclusion, nous n'avons retenu que 50 patients hypertendus et 25 sujets non hypertendus. En effet, un questionnaire a été établi pour sélectionner les patients à inclure dans cette investigation clinique (**Annexe I**). Avant d'entamer l'étude, une note informative destinée aux patients leur a été adressée avec une explication sur la nature, l'objectif ainsi que l'approche expérimentale à entreprendre durant cette étude. On note que les patients ont été soumis à une mesure de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque, les sujets sont considérés à risque hypertensif lorsque les chiffres tensionnels étaient supérieurs ou égaux à **140 mm Hg (PAS)/90 mm Hg (PAD)**. Les critères de recrutement utilisés au cours de cette étude sont les suivants :

#### **➤ Critères d'inclusion**

- Patients ayant été informés et ne s'étant pas opposés à l'étude clinique.
- Homme ou femme
- Age de 17 à 86 ans
- Hypertendus ou non hypertendus

#### **➤ Critères d'exclusion**

Dans cette étude nous avons exclu tous les hypertendus non adultes, les patientes hypertendues et enceintes, les patients qui présentent une pathologie à stress oxydatif, Les sujets tabagiques (tabac à fumer ou à chiquer) ont été aussi exclues de cette étude.

## I.3. Investigation biologique

## I.3.1. Matériel et produits chimiques

Le matériel et les produits chimiques nécessaires à l'accomplissement de ce travail sont représentés dans le tableau suivant :

*Tableau N°01 : Matériel et produits chimiques utilisés.*

<i>Matériel et appareillage</i>	<i>Produits Chimiques et réactifs</i>
Agitateur magnétique (IKAMAG RH)	2,4,6-Tripyridyl- s- Triazine (TPTZ )PM =
Bain marie (GFL)	312,33 g/mol
Balance analytique (DHAUS PIONEER)	Acide acétique glacial ( $CH_3COOH$ )
Vortex (TECHNOKARTELL VOTEX)	Acide ascorbique (Vitamine C) ( $C_6H_8O_6$ )
Micropipettes (Acummax)	PM= 176,12 g/mol
Centrifugeuse (SIGMA)	Acide Thiobarbiturique $C_4H_4N_2O_2S$
Ultra son sonorex bandelin	(TBA)PM=144,15g/mol
Chronomètre (JUNGHANS)	Acide trichloroacétique (TCA)
Spectrophotomètre UV-Visible (OPTIZEN 1412V)	Butanol $C_4H_{10}O$ , PM = 74,1 g/mol
	Butylhydroxytoluène $C_{15}H_{24}O$ (BHT)
	PM=220,35g/mol
	Chlorure de fer III ( $FeCl_3$ ), PM=162,2g/mol
	Eau physiologique Na Cl (0,9%)
	Ethanol absolu $C_2H_6O$ ,PM=46,07 g/mol
	HCL (chlorure d'hydrogène) (36 ,5 –38%)
	Réactif de Folin-ciocalteau
	(PM=188,14g/mol, 2N)
	Sulfate ferreux ( $FeSO_4$ ) PM =151,908 g/mol
	Tétra-ethoxypropane (TEP)

I.3.2. Procédure expérimentale

La procédure expérimentale regroupant les différentes étapes réalisées au cours de l’investigation biologique est illustrée dans la *figure N°1* :

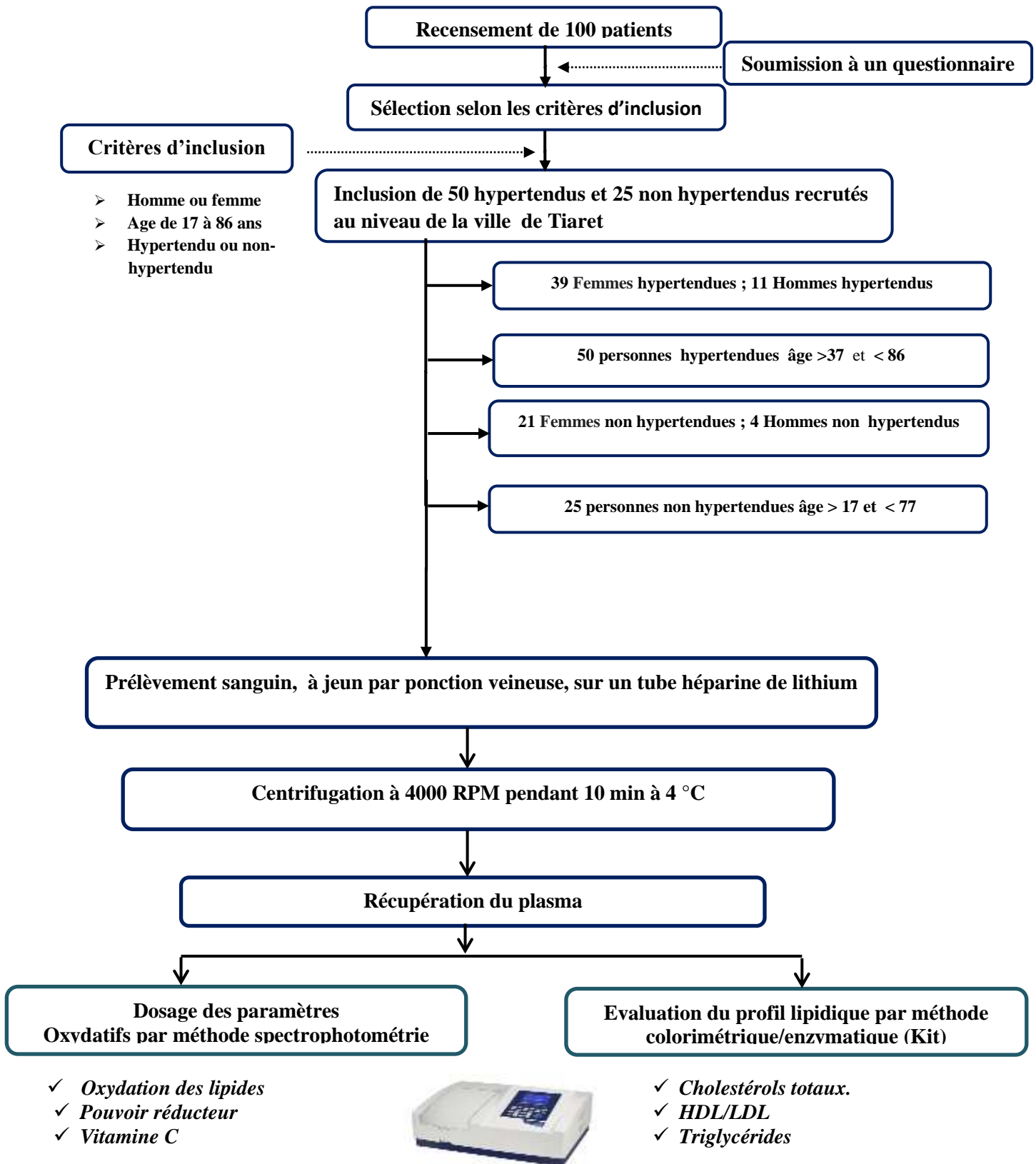


Figure N°01 : Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale

### I.3.3. Prélèvement sanguin

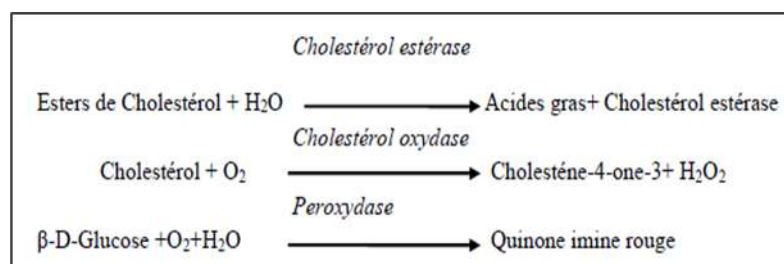
Les prélèvements sanguins des sujets ont été effectués dans les mêmes conditions, ils ont été réalisés après 12 h de jeûne, entre 8 et 10 h du matin, et au niveau de la veine du pli du coude (système *vacutainer*). Pour chaque sujet on a recueilli le sang dans 2 tubes contenant de l'héparinate de lithium. Tous les tubes ont été entreposés à l'abri de la lumière et ont été mis à centrifuger à 4000 RPM pendant 10 min. Le surnageant qui constitue le plasma a été recueilli dans des tubes eppendorf et conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  afin d'effectuer les différentes analyses ultérieurement au sein du laboratoire Amélioration et Valorisation des Productions Animales Locales de l'Université Ibn khaldoun, Tiaret.

### I.3.4. Evaluation du profil lipidique

#### I.3.4.1. Détermination des teneurs en cholestérol total

✓ *Principe :*

Le cholestérol total est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique en utilisant le kit Biomaghreb et ce au niveau du plasma. Les esters de cholestérol sont hydrolysés par la cholestérol estérase en cholestérol libre et en acides gras. Ce cholestérol libre produit et celui préexistant est oxydé par une enzyme cholestérol oxydase en  $\Delta^4$  cholesterone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier en présence de peroxydase, oxyde le chromogène en un composé coloré en rouge. La densité optique du quinoneimine coloré mesurée à 505 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon, et est exprimée en g/L. (Fasce *et al.*, 1982)



✓ *Mode opératoire :*

La solution de travail a été préparée par le mélange des réactifs 1 et 2 fournis par le kit (*voir annexe IV*). Pour la réalisation de ce test, 10 μL de plasma et de l'étalon ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1mL de la solution de travail, l'ensemble a subi une homogénéisation à l'aide d'un vortex, le mélange ainsi obtenu a été incubé pendant 10 minutes à 37°C.

L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 505 nm contre un blanc ne contenant que de l'eau distillée. Notons que l'étalon a été utilisé afin de quantifier le taux de cholestérol dans les échantillons, cet étalon contient une quantité précise de cholestérol qui est de 2 g/L, ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en g/L de cholestérol et calculés selon la formule suivante :

$$\text{Cholestérol (g/L)} = (\text{Densité optique de l'échantillon} / \text{Densité optique de l'étalon}) \times 2 \text{ g/L.}$$

#### I.3.4.2. Détermination des teneurs plasmatiques en HDL (*High Density Lipoprotein*) et LDL (*Low Density Lipoprotein*) :

##### ✓ *Principe :*

Le principe de cette technique consiste à précipiter sélectivement, les lipoprotéines qui contiennent l'apoB (LDL et VLDL) par l'utilisation du phosphotungstate en présence d'ions de magnésium. Le HDL (présent dans le surnageant) est récupéré après centrifugation à 4000 tr/min pendant 20 min. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda=505$  nm. Les concentrations en LDL plasmatiques sont déterminées selon la formule de **Friedewald et al., (1972)** :

$$\text{Chol. LDL} = \text{Chol. Total} - (\text{Chol. HDL} + \text{Triglycerides}/5).$$

##### ✓ *Mode opératoire :*

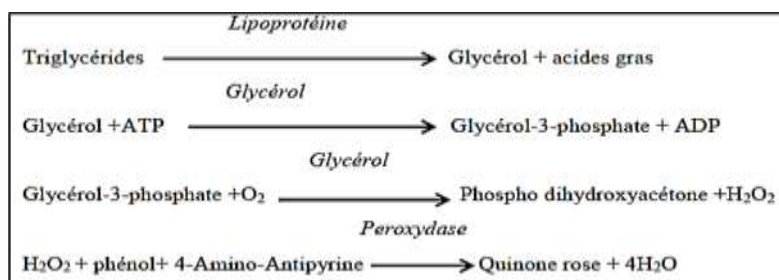
Le dosage des HDL a été réalisé grâce au Kit Biomaghreb (*Voir annexe V*). 250  $\mu$ L de l'échantillon plasmatique ont été ajoutés à 25  $\mu$ L du réactif précipitant (acide phosphotungstique et magnésium). La mixture ainsi obtenue a été incubée 10 min à température ambiante, puis centrifugée à 5000 tr/min pendant 15 min. Après incubation dans un bain marie à une température de 37°C pendant 5min, le surnageant obtenu a été traité par la même procédure décrite pour le cholestérol total. L'absorbance a été mesurée à 505 nm.

#### I.3.4.3. Détermination des teneurs plasmatiques en Triglycérides :

##### ✓ *Principe :*

Le dosage des triglycérides sériques et tissulaires se fait par le biais d'une méthode colorimétrique enzymatique et est réalisé via le kit Biomaghreb. Les triglycérides sont hydrolysés en glycérol et en acides gras grâce à des lipases. Une suite de réactions aboutit à la formation du peroxyde d'hydrogène qui en présence de la peroxydase et d'un chromogène donne un composé coloré. La concentration en quinone est proportionnelle à la concentration

totale en triglycérides présents dans l'échantillon. La concentration en triglycérides est déterminée à une longueur d'onde de 505 nm (*Fossati et al., 1982*).



✓ **Mode opératoire :**

Comme pour le dosage du cholestérol, 10 µL de chaque échantillon ou de l'étalon (concentration de 2g/L) ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1mL de la solution de travail, préparée en mélangeant les réactifs 1 et 2 fournis par le kit (*voir annexe VII*), ensuite une homogénéisation a été appliquée à l'ensemble à l'aide d'un vortex, le mélange a subi une incubation de 10 minutes et à 37°C. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 505 nm contre un blanc, les résultats sont exprimés en g/L. de triglycérides et calculés selon la formule suivante :

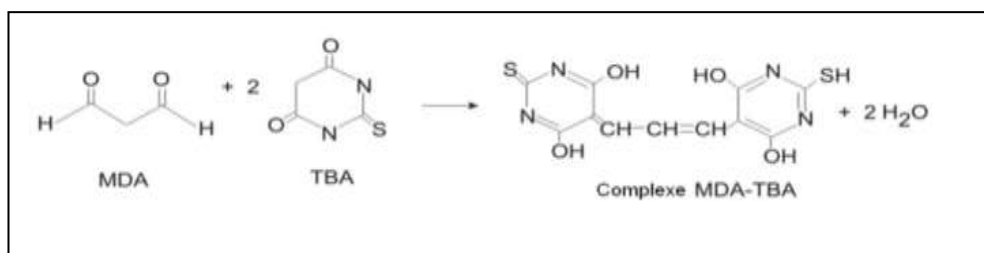
$$\text{Triglycérides (g/L)} = (\text{Densité optique de l'échantillon} / \text{Densité optique de l'étalon}) \times 2\text{g/L}$$

### I.3.5. Evaluation du statut oxydatif

#### I.3.5.1. Mesure des marqueurs de peroxydation lipidique (TBARS : Thiobarbiturique Acide Réactive Substances)

✓ **Principe :**

Le malondialdéhyde (MDA) est un aldéhyde toxique dont la détermination par l'acide thiobarbiturique (TBA) a été utilisée pour évaluer *in vivo* la présence d'une peroxydation lipidique. Les fonctions aldéhydiques du MDA, libérées par hydrolyse acide à 95°C réagissant avec Le TBA pour donner un adduit coloré en rose (MDATBA<sub>2</sub>) absorbant à 532 nm et extractible par les solvants organiques tel que le butanol (*Yagi ,1976*).



**Figure N°02 : formation de complexe coloré malondialdéhyde (MDA) / acide thiobarbiturique (TBA) (Dahle et al., 1962)**

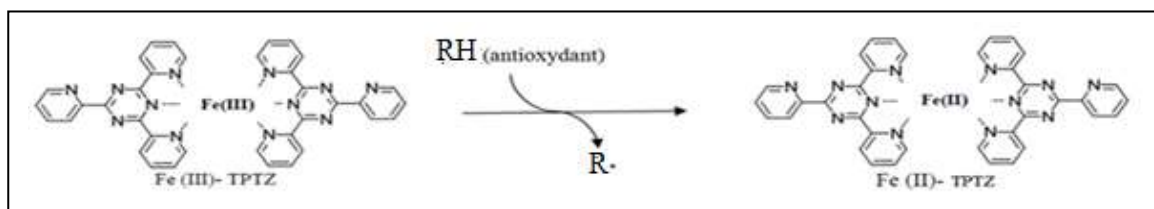
✓ **Mode opératoire :**

800  $\mu$ L d'un mélange d'acide thiobarbiturique (TBA à 0,375 %) d'acide trichloracétique (TCA à 20%), 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol (BHT à 0,01%) et chlorure d'hydrogène (HCl à 1N) sont ajoutés à 200  $\mu$ L d'échantillon. Après agitation de 2 min, le mélange est incubé au bain marie à 100°C pendant 15 min. Durant cette étape, les fonctions aldéhydiques du dialdéhyde malonique (MDA) sont libérées par l'hydrolyse acide à 100°C. Elles réagissent avec le TBA en formant un complexe coloré en rose (MDA-TBA). Pour arrêter la réaction, les tubes sont placés dans la glace, le complexe ainsi formé est extrait par le butanol pendant 2 min. Après centrifugation, la quantification du complexe est effectuée sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 532nm. La concentration en MDA plasmatique ou tissulaire est calculée en utilisant un courbe étalon de 1, 1, 3,3-Tétra Ethoxy Propane (*Voir annexe VIII*).

### **I.3.5.2. Mesure du pouvoir antioxydant plasmatique total par la technique FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)**

✓ **Principe :**

La méthode FRAP développée par *Benzie et Strain (1996)* est basée sur la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)<sub>2</sub>] en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe(II)-TPTZ)<sub>2</sub>] par un antioxydant (AH), à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer. Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleue intense apparaît très rapidement avec un maximum d'absorption à 593 nm. Le pouvoir réducteur est proportionnel à la formation de la couleur bleue.



**Figure N°03 : Mécanisme réactionnel entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (RH).**

✓ **Mode opératoire :**

Originellement conçue pour mesurer le potentiel antioxydant du plasma sanguin, ce test peut être utilisé comme un index du pouvoir antioxydant des défenses non enzymatiques. Il est basé sur la mesure de la réduction par le plasma dans des conditions d'acidité (pH 3,6), d'une solution comprenant du tampon acétate, une solution à base de 2,4,6 Tripyridyl-s-triasine (TPTZ), et un sel ferrique ( $\text{FeC}_{13}, 6\text{H}_2\text{O}$ ), ce qui provoque la formation du complexe TPTZ- $\text{Fe}^{++}$ , de couleur bleue. Une gamme étalon est obtenue à partir d'une solution mère de  $\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$  à 1mM (31,25  $\mu\text{M}$  à 500  $\mu\text{M}$ ) (la courbe de la gamme d'étalonnage figure en (voir *annexe VIII*)). La solution FRAP est préparée à partir des trois solutions initiales : tampon acétate ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2, 3\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ) à pH 3,6, TPTZ à 10 mM et  $\text{FeC}_{13}, 6\text{H}_2\text{O}$  à 20mM) et placée à 37°C pendant toute la durée de l'analyse. 100  $\mu\text{L}$  d'échantillons ou de la solution-gamme sont ajoutés à 900  $\mu\text{L}$  de la solution FRAP. La lecture des échantillons se fait après 30 min d'incubation par spectrophotomètre à 593 nm.

### I.3.5.3. Dosage de la vitamine C plasmatique

✓ **Principe :**

Le dosage de la vitamine C, développé par *Jacota et Dana (1982)*, est basé sur la réduction de la vitamine C présente dans le plasma ou dans les tissus par le réactif de Folin ciocalteu en donnant une coloration bleue dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en vitamine C. L'absorbance de la coloration est maximale à une longueur d'onde de 760nm.

✓ **Mode opératoire :**

Afin de précipiter les protéines plasmatiques 200  $\mu\text{L}$  de plasma ont été ajoutés 800  $\mu\text{L}$  d'acide trichloracétique à 10%, après agitation vigoureuse les tubes ont été placés dans un bain de glace pendant 5 min afin d'avoir une déprotéinisation complète. Cette étape a été suivie d'une centrifuge à 3000 tours/min pendant 5 min. 500  $\mu\text{L}$  de surnageant ont été récupérés et ajoutés à 200  $\mu\text{L}$  de réactif de Folin ciocalteu à (1M). Ce mélange a été incubé à



37°C pendant 10 min. La lecture de la densité optique a été effectuée à 769 nm. L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la teneur en vitamine C, celle-ci est exprimée en 100 µg/mL et sa concentration a été déterminée en utilisant une courbe d'étalonnage d'acide ascorbique traité dans les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon (**voir annexe VIII**)

#### **I.4. Analyses statistiques**

L'ensemble des résultats obtenus sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM (*Standard error of the mean*). Le test U Mann Whitney a été utilisé pour comparer entre deux groupes. Cependant l'analyse de la variance « ANOVA à deux facteurs » a été utilisée pour effectuer la comparaison des moyennes de plusieurs groupes. Cette analyse a été suivie par le test Post-hoc Tukey afin de déterminer les différences significatives et comparer les moyennes deux à deux. La significativité statistique a été définie avec une valeur de  $p < 0,05$ . L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel STATISTICA (version 8.0, Statsoft, Tulsa. OK).

# *Chapitre II*

## *Résultats et discussion*

### II.1. Evaluation des paramètres oxydatifs et du bilan lipidique chez les personnes hypertendues et non hypertendues :

Les données sur l'évaluation de l'impact l'HTA sur les paramètres oxydatifs, présentées dans tableau N°02, dévoilent une augmentation hautement significative des teneurs plasmatiques de la peroxydation lipidique évaluée par la mesure des substances réactives de l'acide Thiobarbiturique (TBARS) chez les personnes hypertendues comparées aux personnes non hypertendues ( $17,00 \pm 0,32 \mu\text{mol/l}$  versus  $9,38 \pm 0,79 \mu\text{mol/L}$ ). De même nos résultats indiquent une différence hautement significative du pouvoir réducteur plasmatique entre les individus hypertendus et les individus non hypertendus ( $974,94 \pm 56,41 \mu\text{mol/L}$  versus  $1602,88 \pm 103,23 \mu\text{mol/L}$ ). Par contre HTA n'induit aucune influence sur les taux plasmatiques de la vitamine C et sur le profil lipidique : TG, cholestérol et LDL, aucune différence significative n'est notée entre les deux groupes concernant ces paramètres. Cependant, le taux des HDL est altéré chez les personnes hypertendues, on constate une diminution significative évaluée à 11% en comparaison avec les sujets normaux, d'autre part aucune corrélation significative a été observée entre les paramètres lipidiques et l'oxydation lipidique chez les hypertendus.

**Tableau N°02 : Impact de l' HTA sur les paramètres oxydatifs et biochimiques**

Paramètres	Sujets hypertendus	Sujet non hypertendus	P value
TBARS ( $\mu\text{mol/L}$ )	$17,00 \pm 0,32$	$9,38 \pm 0,79$	0,00001***
FRAP ( $\mu\text{mol/L}$ )	$974,94 \pm 56,41$	$1602,88, \pm 103,23$	0,000011***
VIT C ( $\mu\text{g/mL}$ )	$38,19 \pm 1,97$	$35,43 \pm 0,99$	0,142460
CHOL (g/L)	$1,47 \pm 0,08$	$1,40 \pm 0,07$	0,142460
HDL (g/L)	$0,41 \pm 0,04$	$0,46 \pm 0,02$	0,023151**
LDL (g/L)	$0,92 \pm 0,07$	$0,76 \pm 0,07$	0,167743
TG (g/L)	$0,91 \pm 0,10$	$0,91 \pm 0,132$	0,785013

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  erreur standard. La comparaison des moyennes entre les deux groupes est effectuée par le test U Mann Whitney

\*\*\* P < 0,001 hautement significatif \*\* P < 0,01 très significatif \* P < 0,05 Significatif

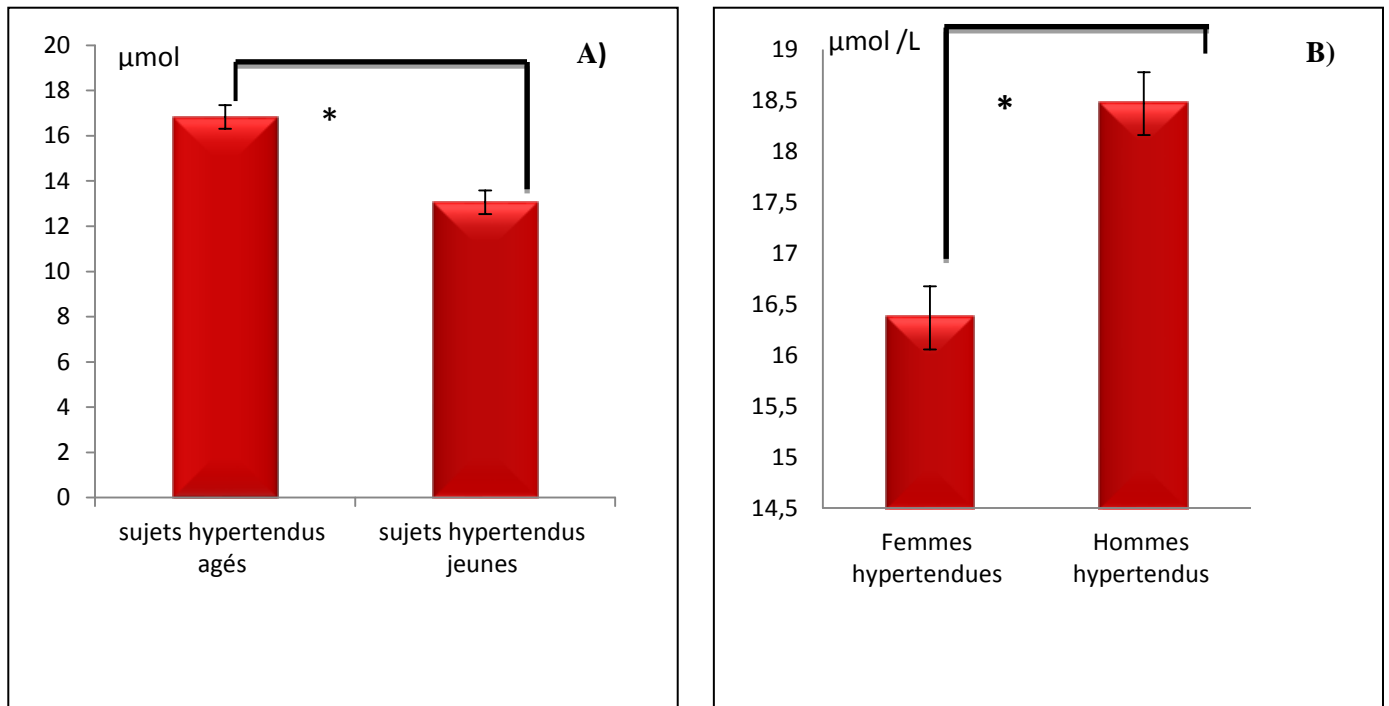
P > 0,05 non significatif

## **II.2. Evaluation de l'oxydation lipidique chez les personnes hypertendues : influence de l'âge et du sexe**

Au cours de cette étude, deux répartitions des patients hypertendus ont été effectuées, la première a concerné l'âge et la seconde en fonction du sexe et ce afin d'évaluer l'influence de l'âge ou du sexe sur les paramètres oxydatifs chez ces patients. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figure N°04,05 et 06.

Ces résultats indiquent que l'âge ainsi que le genre influencent de manière très significative les taux du malondialdéhyde (MDA) plasmatique des personnes hypertendues, cette augmentation est évaluée à 16,83  $\mu\text{mol/L}$  chez les hypertendues âgées *versus* les personnes hypertendues jeunes 13,05  $\mu\text{mol/L}$ . Parallèlement on constate chez les hommes hypertendus un taux des MDA plasmatiques très significativement élevé en opposition avec celui des femmes hypertendues ( $p < 0,01$ ). On note 18,47  $\mu\text{mol/L}$  *versus* 16,36  $\mu\text{mol/L}$ . Donc l'âge et le sexe influencent de manière significative la peroxydation lipidique chez les sujets hypertendus. Ce résultat va de pair avec celui de **Naregal** et ces collaborateurs. Ces derniers indiquent une influence de l'HTA sur l'oxydation des lipides, cette dernière induit une augmentation significative, évaluée à 17%, des taux des MDA (**Govindanagouda et al., 2017**).

Cette augmentation peut être expliquée par l'effet oxydatif des ERO sur l'acide arachidonique des lipoprotéines et des phospholipides de la membrane cellulaire, ce qui conduit à la génération des produits vasoconstricteurs pro-inflammatoires pouvant contribuer à l'augmentation de la pression artérielle et aux complications cardiovasculaires (**Schnackenberg et Wilcox ., 1999**).



**Figure N°04 : Teneur plasmatique en MDA des sujets hypertendus âgés et jeunes(A) ; femmes et hommes hypertendus(B)**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  . La comparaison des moyennes entre les deux groupes est effectuée par le test U Mann Whitney avec  $n=23$

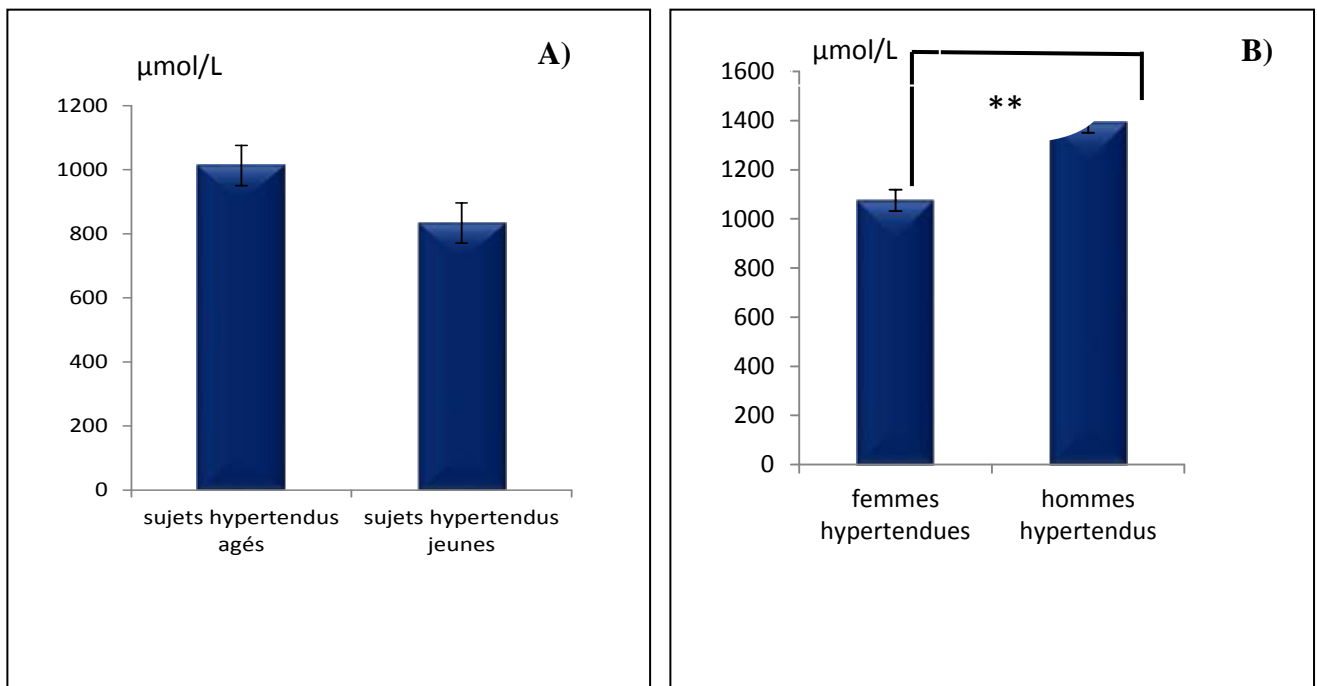
\*\*\*  $P < 0,001$  hautement significatif \*\*  $P < 0,01$  très significatif \*  $P < 0,05$  Significatif  
 $P > 0,05$  non significatif

### II.3 .Evaluation du pouvoir réducteur total au niveau plasmatique chez les personnes hypertendues, influence de l'âge et du sexe

Les résultats du pouvoir réducteur plasmatique total sont représentés dans *la figure N°05* cette dernière montre que le sexe influence de manière très significative le pouvoir réducteur plasmatique total évalué par la technique FRAP.

Les résultats obtenus indiquent que les femmes hypertendues présentent un pouvoir réducteur plasmatique significativement différent à celui des hommes hypertendus (1075,60  $\mu\text{mol/L}$  vs 1393,69  $\mu\text{mol/L}$ ) respectivement. Cette variation est marquée par une augmentation de 23 % du pouvoir réducteur plasmatique chez les femmes hypertendues

versus les hommes hypertendus. Cependant Aucune différence significative n'est notée en opposant les valeurs du pouvoir réducteur total des personnes hypertendues âgées à celui des personnes hypertendues jeunes (1013,41  $\mu\text{mol/L}$  vs 833,92 $\mu\text{mol/L}$ ). Bien que plusieurs études démontrent un lien intime entre l'âge et le déséquilibre de la balance antioxydante (Trevisan *et al.*,2001) cette relation n'a pas été établit au cours de notre étude. Il semblerait que l'âge n'a aucun impact sur le pouvoir réducteur total du plasma des patients hypertendus de la ville de Tiaret.



**Figure N°05 : Pouvoir réducteur plasmatique chez les sujets hypertendus âgés et jeunes(A) ; femmes et hommes hypertendus(B)**

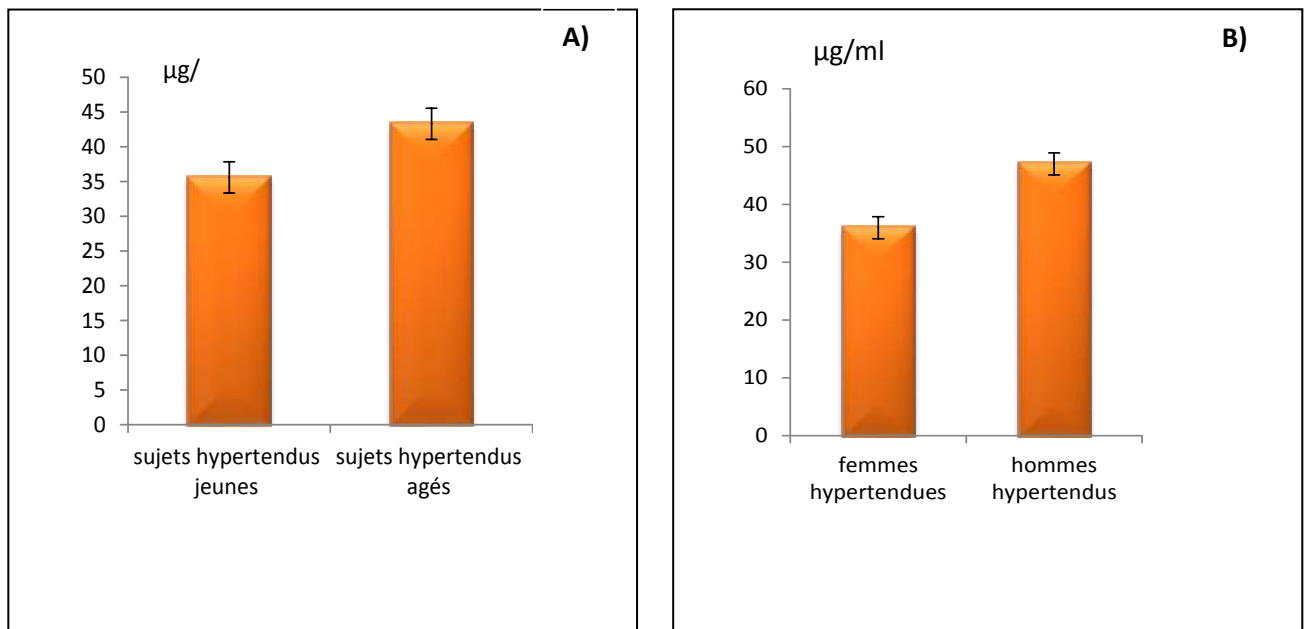
Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$ . Erreur standard La comparaison des moyennes entre les deux groupes est effectuée par le test U Mann Whitney avec  $n=23$

\*\*\*  $P < 0,001$  hautement significatif \*\*  $P < 0,01$  très significatif \*  $P < 0,05$  Significatif  $P > 0,05$  non significatif

#### II.4 Evaluation du taux sérique de la vitamine C : influence de l'âge et du sexe

La vitamine C est un système de défense antioxydant non enzymatique, un réducteur susceptible d'influencer la peroxydation lipidique (Quilliot *et al.*, 2011). Elle peut par conséquent être utilisée comme un indicateur du pouvoir antioxydant de l'organisme. Cependant au cours de cette présente étude, le dosage de l'acide ascorbique plasmatique des sujets hypertendus, n'enregistre aucune différence significative entre l'ensemble des sujets

hypertendus (sexes et âges confondus). Les résultats obtenus corroborent celui de Ward et ces collaborateurs, au cours de son étude cette dernière a démontré qu'il n'existe pas une variation significative du taux de la vitamine C plasmatique entre les sujets hypertendus traités et les sujet normaux (Ward et al., 2003). Ceci laisse suggérer que le traitement anti-hypertensif administré par les hypertendus peut avoir une action inhibitrice sur la déplétion de la vitamine C due à la production des ERO au cours de la survenue de l'HTA, le régime alimentaire peut également jouer un rôle dans l'influence de l'HTA. En effet, une étude réalisée sur des patients camerounais hypertendus, a démontré qu'une alimentation riche en antioxydant peut diminuer l'HTA. L'auteur de cette étude, suggère qu'un régime riche en antioxydants et/ou une augmentation des apports des substances antioxydantes puissantes, comme les polyphénols, le zinc et la vitamine C, peuvent constituer des stratégies potentielles visant à prévenir et à réduire l'HTA et ses complications (Fokou et al., 2008).



**Figure N°06 : Teneur en Acide ascorbique (vitamine C) plasmatique chez les sujets hypertendus âgés et jeunes (A) ; femmes et hommes hypertendus(B)**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  .Erreur standard La comparaison des moyennes entre les deux groupes est effectuée par le test U Mann Whitney avec  $n=23$

\*\*\*  $P < 0,001$  hautement significatif \*\*  $P < 0,01$  très significatif \*  $P < 0,05$  Significatif  $P > 0,05$  non significatif

L'ensemble des résultats obtenus au cours de notre étude permet d'établir un lien entre l'HTA et la balance pro-oxydants/anti-oxydants. Ils révèlent, d'une part une anomalie des statuts oxydatifs chez les sujets hypertendus et d'autre par l'influence du sexe et de l'âge sur

La balance oxydative et ce via une augmentation des produits de la production lipidique chez les patients hypertendus. Par contre, ces résultats indiquent que le pouvoir réducteur total plasmatique est uniquement influencé par le sexe chez les sujets hypertendus.

Plusieurs études ont démontré l'implication du stress oxydatif et ses espèces réactives d'oxygène (ERO) tels que l'anion superoxyde le radical hydroxyle, dans la genèse de l'hypertension artérielle. (Tian *et al.*, 2007; Rodrigo *et al.*, 2014 ; Naregal *et al.*, 2017) et inversement, il a été démontré aussi que l'élévation de la pression artérielle provoque un stress oxydatif (Barton *et al.*, 2001). Ces données suggèrent que le déséquilibre oxydatif est impliquée dans un cercle vicieux lors de la pathogénèse de l'HTA (Vaziri, 2008) Le stress oxydatif est une voie de signalisation très impliqué dans plusieurs mécanismes physiopathologiques, il se produit lorsqu'il y a un déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défense antioxydantes (Sayre *et al.*, 2008).

Il a été démontré qu'au cours de la genèse de HTA les ROS sont principalement dérivés des NADPH oxydases ils sont produites en permanence par les types cellulaires constituant la paroi vasculaire. En effet, et en temps normale les cellules de la paroi vasculaire présentent un état redox physiologique, cependant ce dernier peut être rompu dans de nombreuses circonstances physiopathologiques, et par différents facteurs ce qui est à l'origine d'un stress oxydant délétère pour les cellules concernées et leurs fonctions vasculaires.

Les causes et les facteurs induisant ce déséquilibre sont multiples, ils sont à l'origine responsables d'une production anormale d'ERO, par le biais de l'activation des NADPH oxydases et de la chaîne respiratoire mitochondriale, entraînant ainsi une installation d'un déséquilibre oxydatif responsable d'une diminution de la biodisponibilité du l'oxyde nitrique « NO » (Gonzalez *et al.*, 2014 ; Montezano, 2015). Le NO est une molécule clé de l'endothélium qui intervient dans une multitude de fonctions vasculaires. C'est un vasodilatateur puissant qui régule le tonus vasculaire, la perméabilité vasculaire et les propriétés antithrombotiques (Jin et Loscalzo, 2010). Une biodisponibilité suffisante du NO est essentielle à l'intégrité et à la fonction endothéliale est un facteur capital pour le maintien des fonctions protectrices cardiovasculaires. Cependant, une biodisponibilité insuffisante de ce dernier entraîne un dysfonctionnement endothélial et une diminution de la capacité vasodilatatrice associés à tous les principaux facteurs de risque cardiovasculaire tels que l'hypertension, le diabète, l'hyperlipidémie et l'athérosclérose (González *et al.*, 2014).

D'autres étude suggèrent que en cas de stress oxydatif, le monoxyde d'azote est inactivé par réaction avec l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) et se transforme en peroxyde nitrite ( $ONOO^-$ ) Il en résulte des lésions fonctionnelles cellulaires et moléculaires. Le peroxyde nitrite



cause des lésions des membranes cellulaires, des peroxydations des lipides, des lésions de l'ADN et il accélère l'apoptose. Harrison et ces collaborateurs expliquent que le déséquilibre pro/antioxydant entraîne la formation des LDL oxydées et de multiples dysfonctionnements cellulaires : libération de facteurs pro-inflammatoires et de facteurs favorisant la prolifération cellulaire, processus d'apoptose et/ou de nécrose (**Harrison et al., 2009**). L'ensemble des dysfonctionnements finalement concourt à la progression des lésions athéroscléreuses et à leur évolution ultime qu'est la rupture de plaque. En effet, Le surcroît du stress oxydatif au cours de l'HTA peut être dû aussi au tissu adipeux. Ce dernier est considéré comme une source tragique des cytokines pro-inflammatoires qui stimulent la production exagérée des ERO (**Bonnefont-Rousselot, 2014**). Le tissu adipeux sécrète également l'angiotensine II qui stimule l'activité de NADPH oxydase, la principale source de production excédentaire des ERO dans les adipocytes (**Marseglia et al., 2015**).

Les radicaux libres induit lors de l'installation de l'HTA oxydent le cholestérol LDL (lipoprotéines de faible densité), qui sera capté par des macrophages, ces derniers seront transformés en cellules spumeuses (*foam cells*); ces cellules formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome, et initient ainsi le processus d'athérosclérose. Aussi l'attaque des phospholipides membranaires par ces ERO modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs, transporteurs et la transduction des signaux ce qui engendre des lésions tissulaires graves (**DeMarchi et al., 2013**).

L'ensemble des données proposent des explications probantes sur les mécanismes misent en jeu dans la déplétion du pouvoir réducteur plasmatique total, et l'augmentation de peroxydation lipidique observées chez les patients hypertendus de la ville de Tiaret, suivi au cours de cette étude.

# *Conclusion et Perspectives*

Le stress oxydatif exacerbé entraîne des conséquences physiopathologiques au niveau du système cardiovasculaire en particulier sur l'HTA ; qui constitue aujourd'hui un problème majeur de santé publique par les complications vasculaires qu'elle engendre.

Dans une optique de développement d'une stratégie thérapeutique ou préventive de l'HTA et ses complications, la connaissance de l'implication du stress oxydatif dans la survenue de cette pathologie est une nécessité primordiale.

Nos résultats indiquent une augmentation hautement significative des teneurs plasmatiques de la peroxydation lipidique chez les personnes hypertendues comparées aux personnes non hypertendues ( $17 \pm 0,32 \mu\text{mol/L}$  versus  $9,38 \pm 0,79 \mu\text{mol/L}$ ). Aussi, ces résultats dévoilent une augmentation hautement significative du pouvoir réducteur plasmatique enregistrée chez le groupe des individus non hypertendus en comparaison avec le groupe hypertendus ( $1602,88 \pm 103,23 \mu\text{mol/L}$  versus  $974,94 \pm 56,41 \mu\text{mol/L}$ ). Par contre, aucune relation n'a été décelée entre HTA, le taux plasmatique de la vitamine C et le profil lipidique.

Cependant, l'évaluation de l'influence de l'âge et du sexe des personnes hypertendues sur le stress oxydatif, indique que ces deux paramètres influencent de manière très significative, le taux du malondialdéhyde plasmatique. Ceci est reflété par une augmentation évaluée à 23 % chez les personnes hypertendues âgées versus les personnes hypertendues jeunes. Aussi, les hommes hypertendus présentent un taux de MDA plasmatique très élevé en opposition avec celui des femmes hypertendues.

Le pouvoir réducteur plasmatique total des femmes hypertendues est significativement différent de celui des hommes hypertendus, on note une valeur de  $1075,60 \mu\text{mol/L}$  contre  $1393,69 \mu\text{mol/L}$  respectivement. Toutefois, le dosage de la vitamine C au niveau plasmatique, n'enregistre aucune différence significative entre l'ensemble des sujets hypertendus (sexes et âges confondus).

Dans la continuité de ce présent travail et dans l'optique de contribuer à la prévention et à la réduction de l'incidence de l'hypertension artérielle, il est fort intéressant d'envisager les perspectives suivantes :

- Evaluation de l'activité des enzymes antioxydantes telles que la catalase, SOD et GPx chez les individus hypertendus
- Réaliser une enquête sur le régime alimentaire et déterminer le statut des micronutriments antioxydants (vitamine C, E, zinc , sélénium ...) des patients hypertendus.

- Etudier la relation entre le stress oxydatif et l'inflammation chez les personnes souffrante d'une HTA.

# *Références bibliographiques*

**A**

**Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., and Lomri A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales, *Revue du Rhumatisme*, 74(7), pp.636-643.

**B**

**Barton C. H., Ni Z., Vaziri N. D. (2001).** Enhanced nitric oxide inactivation in aortic coarctation-induced hypertension. *Kidney Int.* **60**(60): 1083-1087.

**Benzie I. F. et Strain. J.J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.

**Bonnefont-Rousselot D. (2014).** Obésité et stress oxydant. *Obésité*. 9: 8-13.

**D**

**Dahle LK., Hill EG., Holman R. T. (1962).** The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Arch BiochemBiophys* .98 : 253-61.

**Debydupont G., Deby C. and Lamy M. (2002).** Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène : Current data on the toxicity of oxygen. *Réanimation*, 11(1), pp.28-39.

**De Marchi, E., Baldassari F., Bononi, A., Wieckowski M. R., and Pinton, P. (2013).** Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases and Obesity: Role of p66Shc and Protein Kinase C. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–11.

**F**

**Fasce C.F., Clin.Chem. (1982).** 18901, Kit biomaghreb.

**Friedewald W.T., Levy R. I., Fredrickson D. S. (1972).** Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge, *Clinical Chemistry* 18. (6) : 499-502.

**Fokou É., Ponka R., Sielinou-Tchegnimba A., Ngu B., and Mbiapo Tchouanguép F. (2008).** Alimentation et statut en deux micronutriments antioxydants (zinc et vitamine C) de quelques patients camerounais hypertendus. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 22(1), 4–9.

**Fossati P., prencipe I., Clin.Chem. (1982) :** Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*, 28(10):2077- 2080.

**G**

**Giuseppe M., Robert F., Krzysztof N., Josep R., Alberto Z., Michael B., Thierry C., Renata C., Guy D.B., Anna D., Maurizio G., Diederick E. G., Tiny J., Paulus K., Sverre E. K., Stéphane L., Athanasios J. M., Peter M. N., Luis M.R., Roland E. S., Per A.S.,**

**Peter S., Margus V., Bernard W., Faiez Z. (2013).** ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *European Heart Journal* (2013) 34, 2159–2219.

**González J., Valls N., Brito R., Rodrigo R. (2014).** Essential hypertension and oxidative stress: New insights. *World J Cardiol.* 6 (6):353-66.

**Govindanagouda V. naregal1., Basavaraj bdevaranavadagi., satish g patil .basavaraj saski. (2017).** Elevation of Oxidative Stress and Decline in Endogenous Antioxidant Defense in Elderly Individuals with Hypertension. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2017 Jul, Vol-11(7).

## H

**Harrison D. G., Gongora M. C. (2009).** Oxidative stress and hypertension. *Medical Clinics of North America*, 93(3), 621–635.

## J

**Jacota S. K., et Dana H. M. (1982).** A new calorimetric technique for estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry.* 127: 178-182.

**Jin R. C., Loscalzo J. (2010).** Vascular nitric oxide: Formation and function. *Journal of Blood Medicine*, 147-162.

## L

**Lardjam-Hetraf S. A., Mediène-Benchekor S., Ouhaïbi-Djellouli H., Meroufel D. N., Boulenouar H., Hermant X., Meirhaeghe A. (2014).** Effects of established blood pressure loci on blood pressure values and hypertension risk in an Algerian population sample. *Journal of Human Hypertension*, 29(5), 296–302.

## M

**Marseglia L., Manti S., D'Angelo G., Nicotera A., Parisi E., Rosa GD., Gitto E and Arrigo T. (2015).** Oxidative Stress in Obesity: A Critical Component in Human Diseases. *International Journal of Molecular Science*, 16: 378-400.

**Montezano A. C., Dulak-Lis M., Tsiropoulou S., Harvey A., Briones A. M., & Touyz R. M. (2015).** Oxidative Stress and Human Hypertension: Vascular Mechanisms, Biomarkers, and Novel Therapies. *Canadian Journal of Cardiology.* 31(5), 631–641.

## Q

**Quilliot D., Böhme P., Ziegler O. (2011).** La stéato-hépatite non alcoolique. Influence de la nutrition, de la physiopathologie au traitement. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 25(3), 153–163.

R

**Ríos-Arrabal S., Artacho-Cordón F., León J., Román-Marinetto E., Salinas-Asensio M.M., Calvente I., and Núñez M.I. (2013)** Involvement of free radicals in breast cancer. Springerplus, 2(404); 1-12.

**Rodrigo R., Libuy M., Feliú F., Hasson D. (2013).** Oxidative stress-related biomarkers in essential hypertension and ischemia-reperfusion myocardial damage. Disease Markers, 35, 773–790.

S

**Sayre L. M., Perry G., Smith M. A., Sayre L. M., Perry G., Smith M. A. (2008).** Oxidative Stress and Neurotoxicity, Chem. Res. Toxicol., 21, p172–188.

**Schnackenberg C.G., Wilcox C.S. (1999).** Two-week administration of tempol attenuates both hypertension and renal excretion of 8-Iso prostaglandin f2alpha. Hypertension 33(33): 424-428.

T

**Tian N., Moore R. S., Braddy S., Rose R. A., Gu J. W., Hughson M. D., Manning R. D., Jr. (2007).** Interactions between oxidative stress and inflammation in salt-sensitive Hypertension. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 293(6), H3388–H3395.

**Trevisan M.; Browne R.; Ram M.; Muti P.; Freudenheim J.; Carosella A. M.; Armstrong D. (2001).** Correlates of markers of oxidative status in the general population. American Journal of Epidemiology, 154(4), 348–356.

V

**Vaziri N.D. (2008).** Causal link between oxidative stress, inflammation, and hypertension. Iranian Journal of Kidney Diseases. 2(1): 1-10.

W

**Ward N. (2003).** Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. Free Radical Biology & Medicine, 36(2), 226–232.

**Schnackenberg, C.G., Wilcox, C.S. 1999. Two-week administration of tempol attenuates both hypertension and renal excretion of 8-Iso prostaglandin f2alpha.** Hypertension 33(33): 424-428.

Y



**Yagi K. ( 1976).** A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med Metab* 15 : 212-6.

**Yoon J.W., Pahl M. V., Vaziri N.D. (2007).** Spontaneous leukocyte activation and oxygen-free radical generation in end-stage renal disease. *Kidney International*, 71(2), 167–172.

# *Annexes*

### Questionnaire

- Questionnaire destiné aux individus qui se présentent aux établissements de santé publique.....le .....à Tiaret
- Ce questionnaire est établi dans le cadre de la réalisation d'une étude clinique qui vise à évaluer le statut oxydatif des personnes hypertendues de la ville de Tiaret

01/ Numéro d'échantillon : .....

02/ Acceptez-vous de participer à l'enquête.....

03/ Etes-vous hypertendus ? .....

04/ Sexe ..... M=1, F =2

05/ Age .....  
ans

06/ Poids .....

07/ Actuellement, fumez-vous des produits tabagiques, tel que la cigarette ? Précisez le  
nombre de cigarette fumée par jour.....

08/ Combien de fois par semaine, exercez-vous une activité sportive par ?.....

09/ Actuellement, recevez-vous un ou plusieurs traitements et conseils pour une HTA  
prescrits par un médecin ou un professionnel de la santé.....

10/ Avez-vous d'autres maladies chroniques..... ?

Si c'est oui précisez lesquelles.....

11/En une semaine type, consommez-vous les produits suivants : Pain salé

Pain non salé

Café

Thé

12/Prise de tension artérielle/Bat/mn.....

Bilan lipidique .....

Cholestérols Toutaux

HDL

LDL

TG

<b>FICHE TECHNIQUE DE PRELEVEMENT SANGUIN</b>	
La date du déroulement de l'étude : de décembre 2018 jusqu'à avril 2019 L'heure du prélèvement entre 8 :00 h à 10 :00h du matin	Intitulé de l'étude : stress oxydatif et HTA

**Objectif de l'étude :**

Evaluer le statut oxydatif des personnes hypertendues de la ville de Tiaret

**Prélèvement :**

Au centre de prélèvement ; le patient se présente spontanément ou sur rendez-vous ,au guichet muni d'une prescription médicale .

**Préparation de matériel de prélèvement et de patient :**

Choisir le matériel de prélèvement adéquat : Antiseptique, compresse ,gants ,garrots ,seringues .....  
 Le patient doit être installé confortablement (en position assise)  
 Après le prélèvement le tube doit être identifié  
 Le prélèvement a été effectué sur un tube contenant de l'héparine de lithium

**Facteurs influençant la qualité du prélèvement :**

**Alimentation :**

Analyses sont effectuées à jeun (c.à.d. n'avoir consommé ni liquide ni aliments, excepté de l'eau, depuis minuit) :

**Stress :**

Il faut toujours mettre le patient dans des conditions permettant le maximum de détente, car un stress intense peut altérer les taux de cortisol, des hormones de croissance et thyroïdiennes, du glucose et des triglycérides

**Utilisation du garrot :**

Les prélèvements sanguins sont effectués dans des tubes dont certains contenant un anticoagulant bien spécifique tel que l'héparine de lithium

Il faut serrer modérément le garrot car une stase trop importante entraîne, entre autre, une augmentation de la pression veineuse en amont, par conséquent le plasma diffuse dans les liquides extra -cellulaires et extra -vasculaires et l'on risque dès lors des modifications artificielles des dosages des GR, GB, plaquettes, hémocrite, hémoglobine, lipides ...

Idéalement, le garrot doit être placé le temps nécessaire pour permettre l'introduction de l'aiguille de prélèvement dans la veine.

**Prélèvement sanguin :**

Les prélèvements sanguins sont effectués dans des tubes dont certains contenant un anticoagulant bien spécifique. il faut donc bien s'assurer que les tubes sélectionnés correspondent aux analyses demandées et que les volumes de sang prélevé soient suffisants et adéquats .On veillera a une bonne homogénéisation, délicate du sang pour une répartition correcte de coagulant présent dans les tubes.

**Transport, Conditionnement et stockage des échantillons :**

Les conditions de transport (chaleur élevée ou trop basse) et les délais d'acheminement trop longs interfèrent dans la qualité des analyses.

Le délai de transfert des échantillons au laboratoire conditionne la qualité des résultats de l'analyse.

Le transport des échantillons doit se faire le plus rapidement possible dans une glacière, à l'abri des variations de températures, afin d'assurer son intégrité

### III.1. Préparation des solutions utilisées dans l'évaluation de peroxydation lipidique TBARS :

➤ *Solution TBA :*

Acide thiobarbiturique ..... 0,375g

HCl (1N) ..... 25ml

➤ *Solution de TCA à 20%*

Acide Trichloracétique ..... 20g

Eau distillée ..... 100ml

### III.2. Préparation de solutions utilisées dans l'évaluation de pouvoir réducteur FRAP :

➤ *Préparation de tampon acétate à 300 mmol*

Acétate de sodium ..... 0,24g

Eau distillée ..... 1000ml

La solution est ajustée à pH 3,6 avec l'acide acétique glacial.

➤ *Préparation de tampon FeCl<sub>3</sub> à 20 mmol*

FeCl<sub>3</sub> ... ..... 0,324g

Eau distillée ..... 100ml

➤ *Préparation de tampon FeSO<sub>4</sub>*

FeSO<sub>4</sub> ..... 2,78 g

Eau distillée ..... 100ml

➤ *Préparation de tampon TPTZ à 8 mmol*

TPTZ ..... 0,1g

HCl ..... 40ml

Agitation de la solution.

➤ *Préparation de HCl à 36 mmol*

HCl (37%) ..... 750µl

Eau distillée ..... 250ml

L'agitation de la solution.

➤ *Réactif FRAP*

Acétate ..... 25ml

TPTZ ..... 2,5ml

FeCl<sub>3</sub> ..... 2,5ml

Agitation de la solution

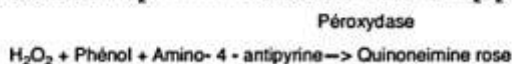
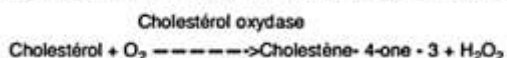
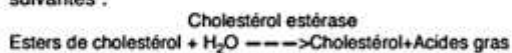
**PRESENTATION**

Kit 20111, (300 Tests)	Kit 20115, (600 Tests)	Kit 20112 (120 Tests)	Kit 20118 (600 Tests)
R1: 3 x 120 ml	R1 : 6 x100 ml	R1 : 4 x 30 ml	R1 : 5 x 120 ml
R2: 3 flacons (lyophil)	R2 : 6 flacons (lyophil)	R2 : 4 flacons (lyophil)	R2 : 5 flacons (lyophil)
R3: 1 x 5 ml	R3 : 2 x 5 ml	R3 : 1x 4ml	R3 : 2x 5ml

**PRINCIPE**

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phenol et de peroxydase.

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

**REACTIFS**

<b>Réactif 1</b>	Pipes pH 6.9	90 mmol/l
Solution tampon	Phenol	26 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Cholesterol oxydase	300 U/l
	Peroxydase	1250 U/l
	Cholesterol esterase	300 U/l
	Amino-4-antipyrine	0.4 mmol/l
<b>Réactif 3</b>		200 mg/dl
Standard		2 g/l
		5.17 mmol/l

**PREPARATION ET STABILITE**

Dissoudre le contenu d'un flacon de R2 avec un flacon de tampon R1.

Le réactif de travail est stable : 1 mois à 20 - 25°C  
4 mois à 2 - 8°C

**ECHANTILLONS**

Sérum  
Plasma recueilli sur héparine

**MODE OPERATOIRE**

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

Température : .....37°C

Cuve : .....1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

**CHOLESTEROL****Test enzymatic colorimétrique (CHOD- PAP)**

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

Mélanger, lire les densités optiques après une incubation de 5 min. à 37° C.  
La coloration est stable 30 minutes.

**CALCUL**

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

mg/dl : n = 200  
g/l : n = 2  
mmol/l : n = 5,17

**LINÉARITÉ**

La méthode est linéaire jusqu'à 6 g/l (600 mg/dl - 15.4 mmol/l).  
Si la concentration en cholestérol est supérieure à 6 g/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et refaire le test. Multiplier le résultat par 2.

**VALEURS USUELLES**

Sérum, plasma	3,6 à 5,7 mmol/l
	1,4 à 2,2 g/l
	140 à 220 mg/dl

**BIBLIOGRAPHIE**

Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6, 24 (1969)  
Richmond, Clin. Chem. 19, 1350 (1973)  
Fasce C.F., Clin. Chem. 18901 (1982)



**Présentation**

Réf : 201131 (200 tests)  
 R1 : 2 x 30 ml  
 R2 : 2 x 10 ml  
 R3 : 1 fl.lyophilisé

**Principe de la réaction**

Méthodologie "détergent sélectif et accélérateur"  
 Méthode directe, sans pré-traitement du spécimen.  
 Au cours de la première phase, les particules LDL, VLDL, et chylomicrons libèrent du cholestérol libre qui soumis à une réaction enzymatique, produit du peroxyde d'hydrogène, lequel est dégradé sous l'effet de la réaction avec la POD et le DSSmT. Aucun dérivé coloré n'est formé.  
 Au cours de la seconde phase, un détergent spécifique solubilise le cholestérol-HDL sous l'action combinée de la CO et CE, le couple POD + 4- AAP développe une réaction colorée proportionnelle à la concentration en cholestérol-HDL. La lecture s'effectue à 600 nm.

LDL = Lipoprotéines de basse densité • HDL = Lipoprotéine de haute densité  
 VLDL = Lipoprotéines de très basse densité • POD = Peroxydase • CO = Cholestérol Oxydase  
 CE = Cholestérol Estérase • 4- AAP = 4-Aminoantipyrine • AAO = Ascorbate Oxydase  
 DSSmT = N,N-bis(sulphobutyl)-m-toluène-disodium

**Réactifs**

**Réactifs 1 :**  
 GOOD pH = 7  
 Cholestérol oxydase < 1000 U/l  
 Peroxydase < 1300 U/l  
 DSSmT < 1mM

**Réactifs 2**  
 GOOD pH = 7  
 Cholestérol oxydase < 1500 U/l  
 4 Amino Antipyrine < 1mM  
 Détergent < 2%  
 Ascorbate oxydase < 3000 U/l

**Réactifs 3**  
 Calibrateur HDLc/LDLc : serum humain lyophilisé

**PREPARATION**

Les réactifs R1 et R2 sont prêt à l'emploi  
 Réconstituer le flacon du calibrateur HDLc/LDLc par 1 ml d'eau distillé, puis homogénéiser le contenu du flacon doucement.  
 Attendre 30 minutes avant utilisation.

**PRÉCAUTION**

Par mesure de sécurité traité le calibrant comme potentiellement infectieux

**STABILITE ET CONSERVATION**

Stocker à 2-8°C, dans le flacon d'origine bien bouché et à l'abri de la lumière  
 • Avant ouverture, s'ils sont conservés et stockés dans les conditions préconisées, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquées sur l'étiquette.  
 • Après ouverture et en absence de contamination, Les réactifs R1 et R2 sont stables 8 semaines à 2-8°C.  
 Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont troubles ou après la date d'expiration.  
 • Après réconstitution le calibrateur est stable 2 semaine à 2-8°C et 3 mois à -20°C.

**PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON**

Le patient doit être prélevé après au moins 12h -14h de jeûne  
**Plasma** : prélevé sur EDTA ou héparinate de sodium ou lithium ; le citrate ne doit pas être utilisé.  
 Séparer par centrifugation le plasma des cellules sanguines dans les 3 heures après prélèvement.  
**Serum** : Séparer par centrifugation le Serum des cellules sanguines dans les 3 heures après prélèvement.  
 Les serums et plasmas ne doivent pas rester plus de 14h à température ambiante.  
 Le cholestérol-HDL est stable dans le spécimen  
 - 7 jours à 2-8°C  
 - 1 mois à -20°C

**HDL- cholestérol Direct****MODE OPERATOIRE**

Longueur d'onde.....600-700 nm  
 Cuvette.....1 cm d'épaisseur  
 Température.....37°C  
 Zero de l'appareil : eau distillé

	Blanc	Calibrateur	Dosage
Réactif R1	300 µl	300 µl	300 µl
Calibrateur		3 µl	
Echantillon			3 µl

Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C.  
 Enregistrer les absorbances A1 à 600 nm Contre le blanc réactif

Ajouter	Blanc	Calibrateur	Dosage
Réactif R2	100 µl	100 µl	100 µl

Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C.  
 Enregistrer les absorbances A2 Contre le blanc réactif

**CALCUL**

Calculer l'augmentation de l'absorbance  $\Delta A = A2-A1$   
 $\frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ calibrateur}} \times \text{Concentration du Calibrateur} = \text{mg/dl de HDL direct}$   
 $\text{mg/dl} \times 0,0259 = \text{mmol/l}$

**LIMITE DE LINEAITE**

La réaction est linéaire de 25mg/dl jusqu'à 200mg/dl. Au delà de cette concentration, diluer l'échantillon 1+1 avec une solution NaCl 9 g/l et refaire le dosage. Multiplier le résultat par 2.

**Valeur usuelles**

	Homme	femme
Risque faible	> 50mg/dl	> 60mg/dl
Risque modéré	35-50mg/dl	45-60mg/dl
Risque élevé	<35mg/dl	<45mg/dl

**INTERFERENCES**

Concentrations testées (mg/dl) sans interférences significatives (+10%) :

Bilirubine conjuguée :	60 mg/dl
Bilirubine Totale :	60 mg/dl
Hémoglobine :	1000 mg/dl
Acide Ascorbique :	100 mg/dl
Lipides (Intralipid)	1800 mg/dl

Le réactif est susceptible d'interférer avec le dosage du magnésium

**BIBLIOGRAPHIE**

1. Naïto N K HDL.Cholesterol, Kaplan A et al.Clin Chem the C.V.Mosby Co.St Louis, Toronto, Princeton 1984 : 1207 - 1207 - 1213 and 437.
  2. Us National Cholesterol Education Program of the National institutes of Health.
  3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. tests, 4th ed AACCC Press.1995.
  4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
  5. Burits A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
  6. Tietz N W et al. Clinical Guide to laboratory tests, 3rd ed AACCC 1995.
- PCT/JIP97/04442

**PRÉSENTATION**

Réf : 201132 (200 tests)  
 R1 : 2 x 30ml  
 R2 : 2 x 10ml  
 R3 : 1flyoph

**PRINCIPE DE LA REACTION**

Méthode directe avec détergents sélectifs, sans pré-traitement du spécimen.

Au cours de la première phase seules les lipoprotéines non-LDL sont solubilisées par le détergent 1. Le cholestérol ainsi généré, soumis à l'action de cholestérol oxydase (CO) et de la cholestérol Estérase (CE) produit un composé incolore.

Au cours de la seconde phase, le détergent 2 solubilise le cholestérol LDL.

Le couple chromogénique développe une réaction colorée proportionnelle à la concentration en cholestérol-LDL. La lecture s'effectue à 546nm (520-580).

**RÉACTIFS**

<b>R1</b>	GOOD pH 7,0 (20°C)	50 mmol/L
<b>Enzymes</b>	Cholestérol esterase (CHE)	380U/L
	Cholestérol oxydase (CHOD)	380 U/L
	Catalase	400 U/mL
	N- (2-hydroxy-3sullopropyl)-3,5-dimethoxyaniiline (TODS)	0.45 mmol/L
<b>R2</b>	GOOD PH 7,0	50 mmol/L
<b>Enzymes</b>	4- Aminoantipyrine (4-AA)	1.00 mmol/L
	Peroxydase (POD)	1000 U/L
<b>R3</b>	Calibrateur HDLc/LDLc sérum Humain lyophilisé	

**PRÉPARATION**

Les réactifs R1 et R2 sont prêt à l'emploi

Réconstituer le flacon du calibrateur par 1 ml d'eau distillé.

Puis homogénéiser le contenu du flacon doucement.

Attendre 30 minutes avant utilisation

**PRECAUTION**

Par mesure de sécurité traité le calibrant comme potentiellement infectieux

**STABILITE ET CONSERVATION**

Stocker à 2-8°C, à l'abri de la lumière

\* Avant ouverture, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

\* Après ouverture, les réactifs sont stables au moins 1 mois. Transférer par versement la quantité nécessaire, bien reboucher les flacons et stocker à 2-8°C

Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont troubles.

\* Après réanstitution le calibrateur est stable 2 semaines à 2-8°C ou 3 mois à 20°C.

**PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ÉCHANTILLON**

Patient prélevé après au moins 12-14h de jeûne. Ne pas utiliser d'oxalate, fluorure, citrate ou héparine.

**Plasma** : Prélevé sur EDTA et séparé par centrifugation des cellules sanguines dans les 3 heures.

**Sérum** : Séparé par centrifugation des cellules sanguines dans les 3 heures.

Le cholestérol-LDL est stable dans le spécimen :

7 jours à 2-8°C

**LDL - Cholestérol Direct****MODE OPERATOIRE**

Longueur d'onde \_\_\_\_\_ 600 (590 - 700)nm

Cuvette \_\_\_\_\_ 1 cm d'épaisseur

Température : \_\_\_\_\_ 37°C

Zéro de l'appareil : eau distillé

	Blanc	Calibrateur	Dosage
Réactif R1	300 µl	300 µl	300 µl
Calibrateur		4 µl	
Echantillon			4 µl
Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C.			
Ajouter	Blanc	Calibrateur	Dosage
Réactif R2	100 µl	100 µl	100 µl
Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C. Enregistrer les absorbances (A) Contre le blanc réactif			

**CALCUL**

$$\frac{A \text{ (échantillon)}}{A \text{ (calibrateur)}} \times \text{Conc. calibrateur} = \text{mg/dl LDLc. Direct}$$

$$\text{mg/dl} \times 0,02586 = \text{mmol/l}$$

**LINEARITE**

La réaction est linéaire de 3,7 mg/dl jusqu'à 1000mg/dl. Au delà de cette concentration, diluer l'échantillon 1+1 avec une solution NaCl 9g/L et doser à nouveau. Multiplier le résultat par 2. La limite de linéarité dépend du rapport des volumes spécimen/réactif

**VALEURS USUELLES****Risque**

Désirable	< 100 mg/ml
Moderé	130 - 160 mg/ml
élevé	> 160mg/ml

**INTERFERENCES (6) (7)**

Concentrations (mg/dl) sans interférence significative ( $\pm 10\%$ )

Bilirubine Conjuguée :	30 mg/dl
Bilirubine Totale :	30 mg/dl
Hémoglobine :	500 mg/dl
Acide Ascorbique :	50 mg/dl

**BIBLIOGRAPHIE**

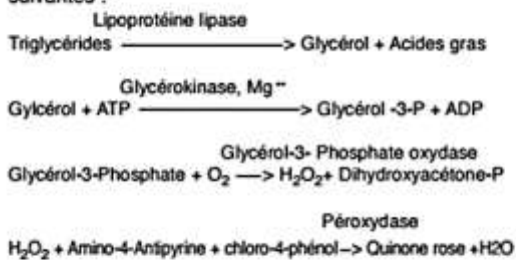
- 1- Kaplan A et al. Lipoprotein, Clin Chem the C.V. Mosby Co. St Louis. Okada M. et al. Low-density lipoprotein cholesterol can be 2- chemically measured J. Lab. Clin. Med., 1998 ; 132, 195-201.
- 3- Young Ds. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- 4- Young DS. Effects of disease on Clinical lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- 5- Burtis A et al. Clinical Guide to laboratory tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTATION**

Réf 201 31, (240 Tests)      Réf 20132, (120 Tests)  
 R1 : 2 x 120 ml              R1 : 4 x 30 ml  
 R2 : 2 flacons (lyoph)      R2 : 4 flacons (lyoph)  
 R3 : 1 x 4 ml                R3 : 1 x 3 ml  
 Réf : 20138, (600 Tests)  
 R1 : 5 x 120 ml  
 R2 : 5 flacons (lyoph)  
 R3 : 2 x 5 ml

**PRINCIPE**

Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes :

**REACTIFS**

<b>Réactif 1</b>	Tampon pipes pH 7,2	50 mmol/l
	Solution tampon Chloro-4-phénol	2 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Lipoprotéine lipase	150000 U/l
enzymes	Glycérokinase	800 U/l
	Glycérol 3-P-Oxydase	4000 U/l
	Péroxydase	440 U/l
	Amino-4-antipyrine	0,7 mmol/l
	ATP	0,3 mmol/l
<b>Réactif 3</b>	Standard glycérol	200 mg/dl
Standard	(en trioléine)	2 g/l
		2,28 mmol/l

**PREPARATION ET STABILITE**

Dissoudre le lyophilisat R2 avec un flacon de tampon R1.  
 Stabilité du réactif de travail : 1 semaine à 20-25°C  
 4 semaines à 2-8°C.

**ECHANTILLONS**

Sérum, plasma recueilli sur héparine.

**MODE OPERATOIRE**

Longueur d'onde : .....505 nm (490-550)  
 Température : .....37°C  
 Cuve : .....1 cm d'épaisseur  
 Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

**TRIGLYCERIDES****Méthode colorimétrique enzymatique (GPO- PAP)**

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

Mélanger et lire les DO après incubation de 5 min à 37°C ou de 10 min à 20-25°C. La coloration est stable 30 minutes.

**CALCUL**

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

mg/dl : n = 200  
 g/l : n = 2  
 mmol/l : n = 2,28

**LINÉARITÉ**

La méthode est linéaire jusqu'à 10 g/l (1000 mg/dl -11,4 mmol/l). Si la concentration est plus importante, diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l et refaire le dosage. Multiplier le résultat par 10.

**VALEURS USUELLES**

<b>Femmes</b>	40 - 140 mg/dl 0,40 - 1,40 g/l 0,46 - 1,60 mmol/l
<b>Hommes</b>	60 - 165 mg/dl 0,60 - 1,65 g/l 0,68 - 1,88 mmol/l

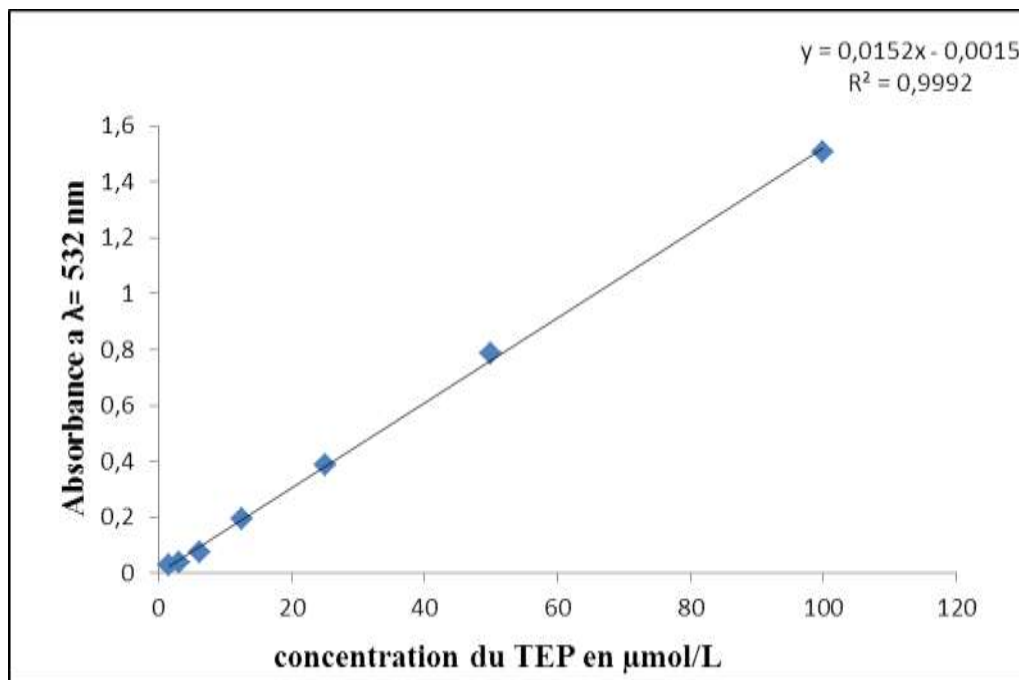
**NOTE**

Les triglycérides sont stables dans le sérum 3 jours à 2 - 8°C

**BIBLIOGRAPHIE**

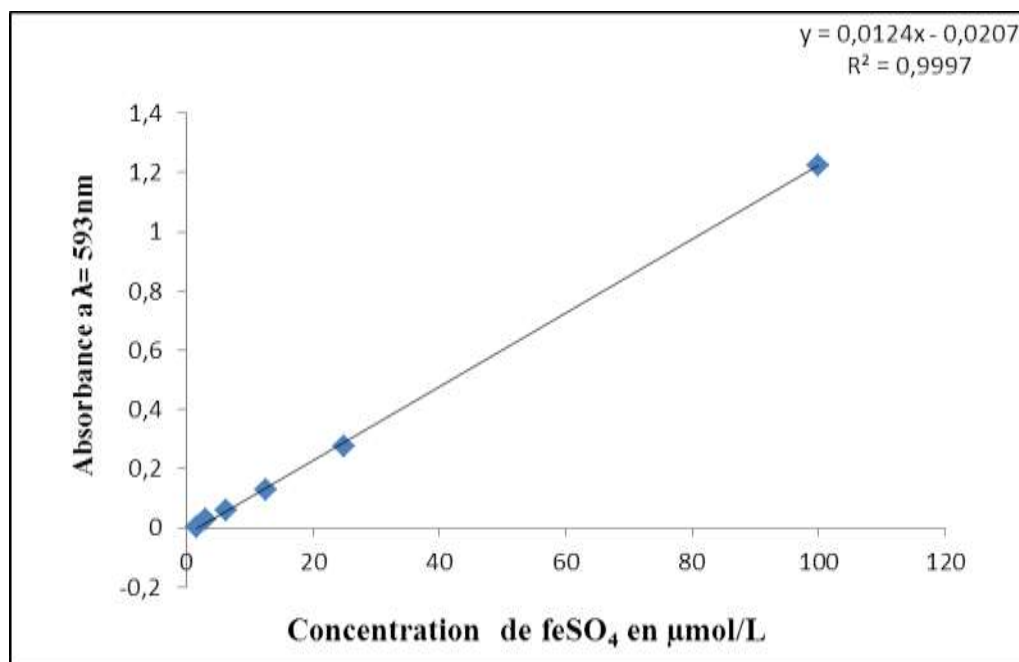
Fossati P., Prencipe I., Clin. Chem. 28, 2077 (1982)  
 Young D., Pestaner L., Clin. Chem., 21,5 (1975)

**VIII.1. Courbe de la gamme d'étalonnage pour l'évaluation de la peroxydation lipidique par la technique TBARS**



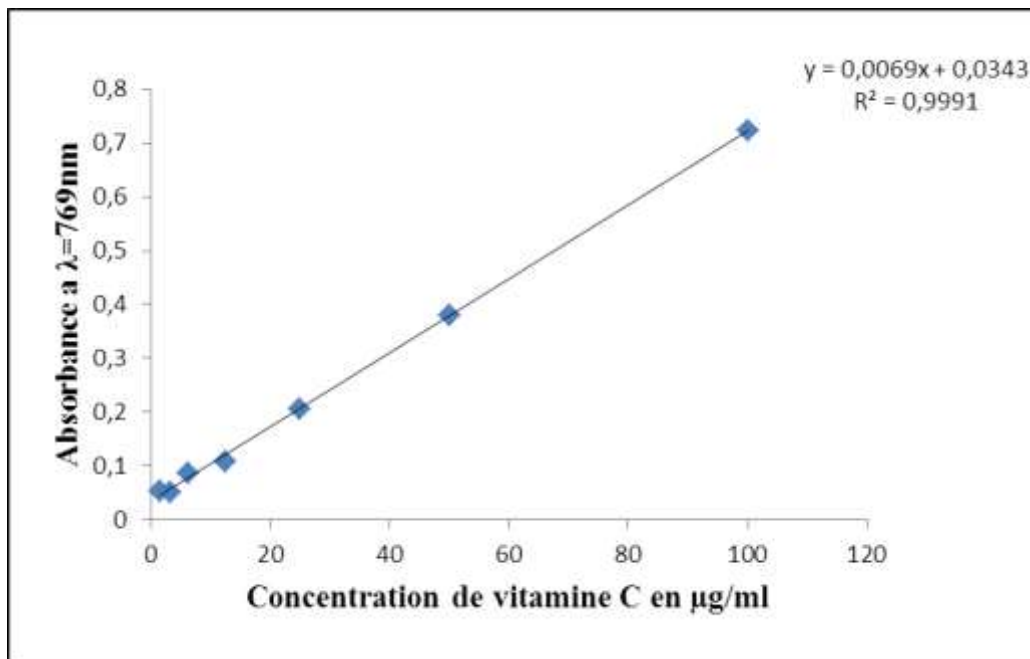
*Figure N°07 : Courbe d'étalonnage de la gamme de TEP*

**VIII.2. Gamme de la gamme d'étalonnage pour l'évaluation de pouvoir réducteur total par la technique FRAP**



*Figure N°08 : Courbe d'étalonnage de  $\text{FeSO}_4$*



**VIII.3. Courbe de la gamme d'étalonnage pour le dosage de la vitamine C**

**Figure N°09 : Courbe d'étalonnage de la vitamine C plasmatique**

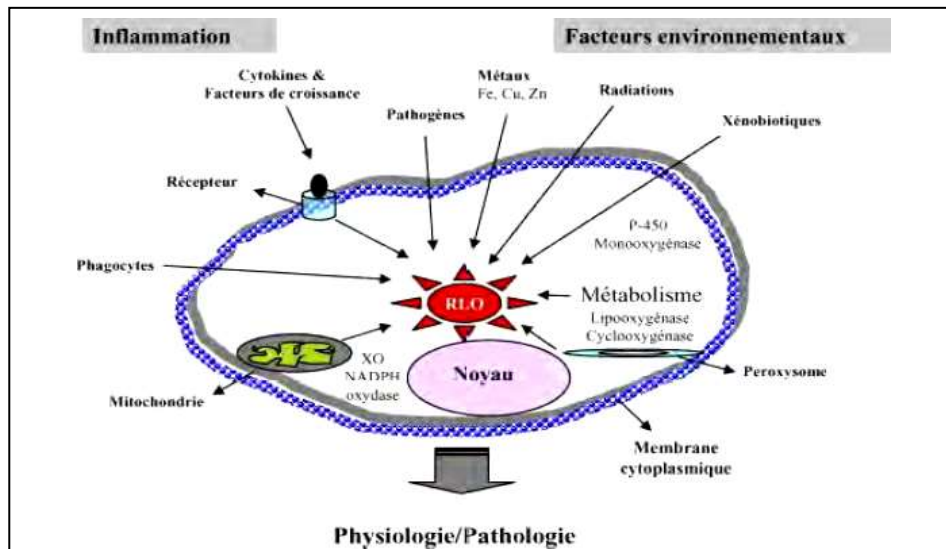
**Tableau N° 03 : Evaluation des paramètres oxydatif (TBARS, FRAP, VITC) et paramètres biochimiques (CHOL, HDL, LDL, TG) chez les sujets non hypertendus âgés et jeunes**

<b>Paramètres</b>	<b>Sujets non hypertendus âgés</b>	<b>Sujets non hypertendus jeunes</b>	<b><i>P value</i></b>
TBARS (µmol/L)	13,42 ± 1,93	11,19 ± 0,97	0,4311
FRAP (µmol/L)	1747,58 ± 182,86	1532,05 ± 105,47	0,3656
VIT C (µg/L)	27,17 ± 9,05	34,33 ± 4,61	0,2557
CHOL (g/L)	1,75 ± 0,13	1,37 ± 0,07	0,133
HDL (g/L)	0,48 ± 0,05	0,49 ± 0,02	0,570
LDL (g/L)	1,03 ± 0,14	0,72 ± 0,06	0,113
TG (g/L)	1,16 ± 0,19	0,89 ± 0,14	0,511

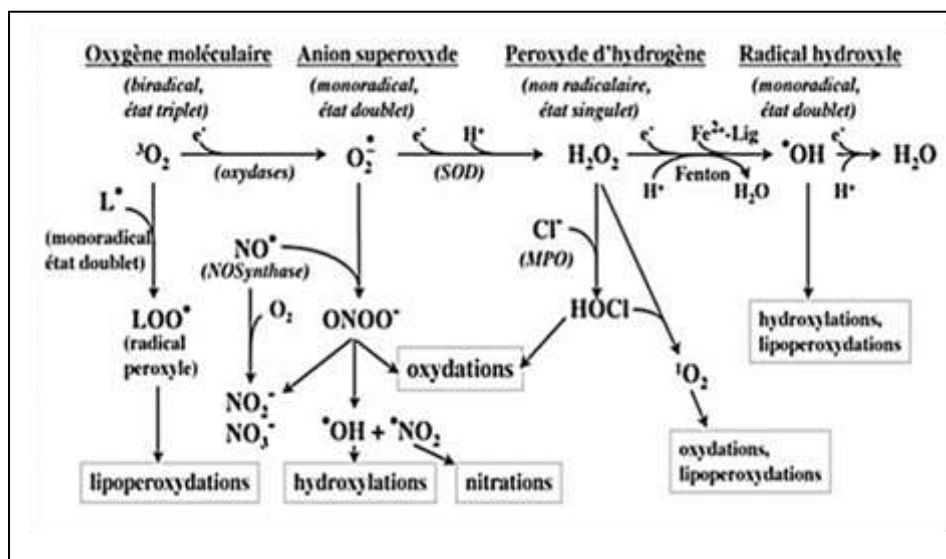
**Tableau N°04 : Evaluation des paramètres oxydatif (TBARS, FRAP, VITC) et paramètres biochimiques (CHOL, HDL, LDL, TG) chez les sujets non hypertendus femmes et hommes**

<b>Paramètres</b>	<b>Femmes non hypertendues</b>	<b>Hommes non hypertendus</b>	<b><i>P value</i></b>
TBARS (µmol/L )	11,82 ± 1,08	12,89 ± 1,56	0,0823
FRAP ( µmol/L)	1496,55 ± 74,22	2131,75 ± 319,74	0,0562
VIT C (µg/L )	31,55 ± 4,23	31,45 ± 6,51	0,0316*
CHOL ( g/L)	1,52 ± 0,08	1,37 ± 0,08	0,474
HDL (g/L)	0,49 ± 0,02	0,39 ± 0,06	0,108
LDL (g/L)	0,83 ± 0,08	0,8 ± 0,07	0,863
TG (g/L)	0,98 ± 0,13	0,92 ± 0,32	0,834

Aucune différence significative n'a été observée chez l'ensemble des sujets non hypertendus

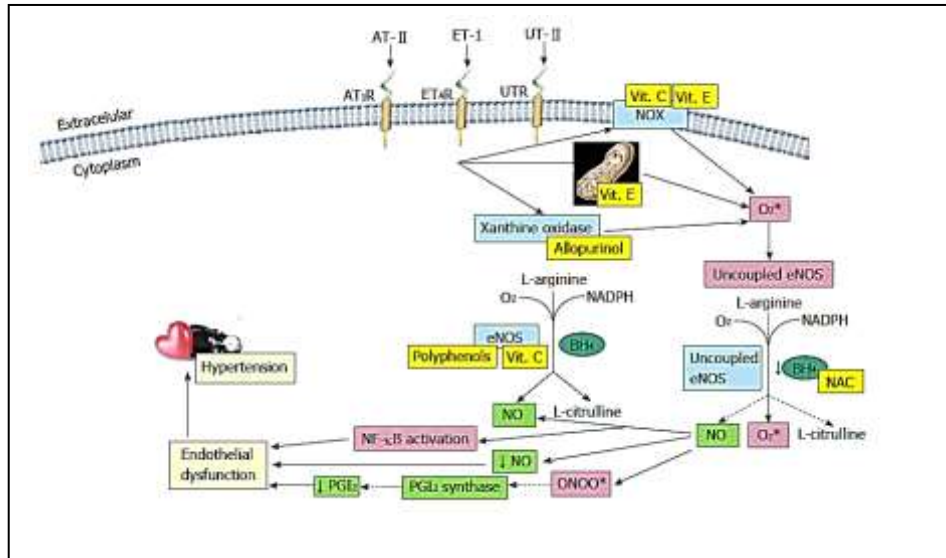


**Figure N°10 :** Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso et al.,2007)



**Figure N°11 :** Principales espèces réactives de l'oxygène (Debydupont et al.,2002)

Figure. Espèces oxygénées activées produites en cascade à partir de l'oxygène fondamental (ou moléculaire :  $3\text{O}_2$  couramment représenté de manière simplifiée par  $\text{O}_2$ ).  $e^-$  : électron ;  $\text{O}_2^-$  : anion superoxyde ;  $\text{H}_2\text{O}_2$  : peroxyde d'hydrogène ;  $\text{OH}^\bullet$  : radical hydroxyle ;  $\text{HOCl}$  : acide hypochloreux ;  $^1\text{O}_2$  : oxygène singulet ;  $\text{NO}^\bullet$  : monoxyde d'azote ;  $\text{NO}_2^-$  : nitrites ;  $\text{NO}_3^-$  : nitrates ;  $\text{ONOO}^-$  : peroxynitrite ;  $\text{NO}_2^\bullet$  : radical nitryle ;  $\text{Fe}^{2+}\text{-Lig}$  : complexe du fer ferreux avec un ligand activateur (Lig) ;  $\text{L}^\bullet$  : Radical lipidique. SOD : Superoxyde Dismutase ; MPO : Myéloperoxydase.



**Figure N°12 :** Résumé schématique du rôle du stress oxydatif vasculaire dans la pathogenèse de l'hypertension et des mécanismes de l'antioxydant exogène représentant les effets anti-hypertenseurs (González et al., 2014).



## Résumé

L'hypertension artérielle (HTA) est l'une des pathologies les plus fréquentes et les plus préoccupantes dans les pays en voie de développement. Elle est souvent associée aux désordres métaboliques liés au stress oxydatif. L'objectif de cette présente étude est d'évaluer le statut oxydatif des patients hypertendus par rapport à celui des sujets non hypertendus de la ville de Tiaret. Les résultats obtenus indiquent une augmentation hautement significative des teneurs plasmatiques de la peroxydation chez les personnes hypertendues comparées aux personnes non hypertendues ( $17,00 \pm 0,32 \mu\text{mol/L}$  vs  $9,38 \pm 0,79 \mu\text{mol/L}$ ). De même nos résultats montrent un pouvoir réducteur plasmatique total altéré chez les patients hypertendus en comparaison avec les sujets non hypertendus ( $974,94 \pm 56,41 \mu\text{mol/L}$  vs  $1602,88 \pm 103,23 \mu\text{mol/L}$ ). Par contre, HTA n'induit aucune influence sur les taux plasmatiques de la vitamine C et sur le profil lipidique. Au cours de cette étude il s'avère que l'âge ainsi que le sexe influencent de manière très significative les taux du malondialdéhyde (MDA) plasmatique des personnes hypertendues. Les femmes hypertendues incluses dans cette étude présentent un pouvoir réducteur plasmatique significativement différent à celui des hommes hypertendus ( $1075,60 \mu\text{mol/L}$  vs  $1393,69 \mu\text{mol/L}$ ). Cette variation est marquée par une augmentation de 23 % du pouvoir réducteur plasmatique. On note que le dosage de la vitamine C plasmatique n'enregistre aucune différence significative entre l'ensemble des sujets hypertendus (sexes et âges confondus). Ces résultats indiquent que le stress oxydatif est un acteur majeur de l'installation et le développement de l'HTA ce qu'incite à proposer des stratégies potentielles visant à prévenir et à réduire l'HTA.

**Mots clés :** Hypertension artérielle, Stress oxydatif, Maladies cardiovasculaires, Antioxydants

## ملخص :

ارتفاع ضغط الدم من أكثر الامراض شيوعا واثارة للقلق في البلدان النامية، وغالبا ما يرتبط مع اضطراب النظام الغذائي ذات الصلة بالتأكسد. و الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الحالة المؤكسدة لمرضى ارتفاع ضغط الدم مقارنة بالأشخاص غير المصابين بارتفاع ضغط الدم في مدينة تيارت. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى زيادة كبيرة في البيروكسيد على مستويات البلازما لدى مرضى ارتفاع ضغط الدم مقارنة مع الاشخاص غير المصابين بارتفاع ضغط الدم ( $17,00 \pm 0,30$  ميكرومول / لتر مقابل  $9,38 \pm 0,79$  ميكرومول / لتر)، وبالمثل، تظهر نتائج القدرة الارجاعية في البلازما انخفاض ملحوظ لدى مرضى ارتفاع ضغط الدم مقارنة بالأشخاص غير المصابين بارتفاع ضغط الدم ( $974,94 \pm 56,4$  ميكرومول مقابل  $1602,88 \pm 103,23$  ميكرومول). و من ناحية اخرى ارتفاع ضغط الدم ليس له أي تأثير على مستويات الفيتامين ج في البلازما وعلى التحاليل الدهنية (كولسترول, TG), LDL. في هذه الدراسة ، وجد أن السن والجنس لها تأثير كبير على مستويات الـ (MDA) (Malondialdehyde) في بلازما للأفراد المصابين بارتفاع ضغط الدم. تظهر النساء المصابة بارتفاع ضغط الدم المدرجة في هذه الدراسة قوة ارجاع كبيرة مقارنة بالرجال الذين يعانون من ارتفاع ضغط الدم ( $1075,60$  ميكرومول مقابل  $1393,69$  ميكرومول). تتميز هذا الاختلاف بزيادة بنسبة 23 % في نسبة القدرة الارجاعية . كما نلاحظ أن فحص فيتامين ج في البلازما لا يسجل أي فرق كبير بين جميع الأشخاص الذين يعانون من ارتفاع ضغط الدم ( جنس والسن مجتمعة). هذه النتائج تشير إلى أن الإجهاد التأكسدي هو عامل رئيسي في تركيب وتطوير ارتفاع ضغط الدم مما يتطلب وضع استراتيجيات محتملة لمنع وتقليل ارتفاع ضغط الدم.

كلمات الدالة : ارتفاع ضغط الدم ، الإجهاد التأكسدي ، أمراض القلب والأوعية الدموية ، مضادات الأكسدة.