

STATUT DES MARQUEURS DU STRESS OXYDATIF AU SERVICE DE MEDECINE INTERNE ET D'ENDOCRINOLOGIE DE L'HOPITAL DU MALI

Status Of Markers Of Oxidative Stress At The Internal Medicine And Endocrinology Department Of The Mali Hospital

Sow DS¹, Traoré D³, Dramé BSI², Konaté M¹, Bah M¹, Gninkoun CJ¹, Traoré B¹, Mariko M¹, Traoré AK³, Sidibé AT¹.

1-Service de médecine interne et d'endocrinologie de l'hôpital du Mali ; 2- Service de biologie médicale de l'hôpital du Mali ; 3- Service de médecine interne du CHU du Point G.

Dr Sow Djeneba Sylla –Endocrinologue l'Hôpital du Mali - Bamako. Adresse Mail : djnbasy@yahoo.fr

Tel : 0022366732281 /94 66 98 03

RESUME

Introduction : Le stress oxydant est un déséquilibre entre les défenses antioxydantes endogènes et la production de molécules pro-oxydantes. **L'objectif** principal était d'étudier les différents marqueurs du stress oxydatif (oxydant et antioxydant) chez les sujets diabétiques et non diabétiques au niveau du service de médecine interne et d'endocrinologie de l'hôpital du Mali à Bamako. **Matériels et méthodes :** l'étude était transversale avec comparaison entre 30 sujets diabétiques et 30 sujets non diabétiques. Les marqueurs étudiés : Glutathion peroxydase érythrocytaire (**GPX**), la Superoxyde dismutase (**SOD**) intra érythrocytaire, l'acide urique plasmatique, Les bilirubines directes et totales, l'albumine ainsi que quelque marqueur de diagnostic et de suivi du diabète. **Résultats.** Trois pour cent de nos diabétiques avaient un taux de glutathion peroxydase élevé contre 9% des non diabétiques ($p = 0,005$) ; augmentation de la Superoxyde dismutase des diabétiques 73,3% contre 40% des non diabétiques ($p = 0$). Taux d'albumine, acide urique et la bilirubine identiques dans les deux populations ; hémoglobine glyquée était corrélée significativement aux complications dégénératives micro angiopathies ($p = 0,0058$) et macro angiopathies ($p = 0,00017$) chez les diabétiques. **Conclusion :** l'étude a montré une augmentation des défenses antioxydantes chez les trente diabétiques par l'élévation de la Superoxyde dismutase et normalisation relative du glutathion peroxydase. **Mots clés :** Stress oxydatif- Diabète- Hôpital du Mali-Marqueurs

ABSTRACT

Oxidative stress represents an imbalance between the endogenous antioxidant defenses and the production of pro-oxidant molecules. The present study describes oxidative stress markers (oxidant and antioxidant) metabolic disturbances in diabetic and non-diabetic patients at the Internal Medicine and Endocrinology ward of hospital of Mali. **Materials and methods:** We conducted a descriptive case / control study involving 30 diabetic and 30 non-diabetic patients. Studied markers were Glutathione erythrocyte peroxidase (GPX), intra erythrocyte Superoxide dismutase (SOD), plasmatic uric acid, direct and total bilirubins, albumin and markers for diagnosis and monitoring of diabetes. **Results.** Non-diabetic patients (9%) had higher glutathione peroxidase levels compared diabetics (3%) ($p = 0.005$). An increase in superoxide dismutase was observed in 73.3% of diabetics versus 40% of non-diabetics ($p = 0$). The albumin, uric acid and bilirubin levels were identical in both populations. Glycated hemoglobin was significantly correlated with microangiopathies ($p = 0.0058$) and macro angiopathies ($p = 0,0007$) in diabetics. **Conclusion:** The study showed an increase in antioxidant defenses in diabetics by the elevation of superoxide dismutase and a relative normalization of glutathione peroxidase. **Key words:** Oxidative stress- Diabetes- Mali of hospital-Markers

INTRODUCTION

Le stress oxydant est une altération de l'homéostasie redox cellulaire [1]. Elle est induite soit par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou de l'azote (ERA), soit par une déplétion des capacités de défense antioxydante. La neutralisation des réactions en chaîne engendrées par les ERO est assurée respectivement par la Superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) pour l'anion Superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle [2]. Le diabète sucré est un désordre métabolique chronique, dû soit à une carence insulinaire (diabète de type I), soit à une résistance insulinaire (diabète de type II) Plusieurs axes

de recherche ont examiné le rôle du stress oxydatif sur l'apparition et le développement des troubles diabétiques éventuellement via la formation des radicaux libres oxygénés [3, 4,5]. De plus, l'augmentation du glucose intracellulaire active la voie des polyols et contribue à la diminution des défenses antioxydantes.

Hypothèse de travail : le statut antioxydant est-il un protecteur chez le diabétique contre la survenue des complications dégénératives. L'objectif général était d'étudier les différentes perturbations métaboliques des marqueurs du stress oxydatif (oxydant et antioxydant) chez les sujets diabétiques au niveau de l'hôpital du Mali comparés à un groupe non diabétique

MATERIELS ET METHODES

Notre travail a été conduit dans le service de médecine / d'endocrinologie et le laboratoire d'analyse de biologie médicale du Centre Hospitalier « Hôpital du Mali » à Bamako, Mali. Il s'agissait d'une étude transversale avec comparaison portant sur une population de 30 diabétiques, et 30 sujets non diabétiques. Ont été inclus, tout patient diabétique qui accepte de participer quel que soit l'âge, le sexe et le stade évolutif de la maladie. A ces sujets diabétiques ont été comparés aux non diabétiques.

Les données ont été collectées à partir du dossier médical des patients diabétiques et reportées sur une fiche d'enquête individuelle préétablie. Le questionnaire a été pré testé et validé avant l'utilisation comprenant les données cliniques, les marqueurs du stress oxydatif et le dosage des marqueurs de diagnostic et de suivi de diabète.

Aspects cliniques : l'interrogatoire permettait de se renseigner sur les données sociodémographiques des patients (nom, prénom, âge, sexe, profession, ethnie)

Les patients diabétiques ont bénéficié d'un examen clinique complet ainsi que la prise des constantes : le poids, la taille, le tour de taille (norme inférieure 80 cm), la pression artérielle (normal inférieure à 130/80mmHg).

Dosage des marqueurs du stress oxydatif : les prélèvements ont concerné le sang total, le sérum et ou le plasma héparine, fluoré et les échantillons d'urines et ont concerné :

- le glutathion peroxydase érythrocytaire GPX, (valeur usuelle =33-73u/l Hb) ;
- le super oxyde dismutase SOD érythrocytaire (valeur usuelle=1102-1602u/L HB) ;
- l'acide urique plasmatique (valeur usuelle=2-6mg/dl) ;
- la bilirubine directe (valeur usuelle =0-3mmol/l) ;
- la bilirubine totale (valeur usuelle= 3-19 mmol/l) ;
- l'albuminémie (valeur usuelle =35-52 g/l).

Dosage des marqueurs de diagnostic et de suivi de diabète :

- glycémie à jeun un des critères de diagnostic du diabète : deux valeurs supérieures ou égale à 7mmol/l à deux reprises pose le diagnostic du diabète (valeur usuelle= 4-6,5 mmol/l)
- électrocardiogramme(ECG) à la recherche d'un infarctus du myocarde
- échographie doppler des membres inférieurs à la recherche d'une artériopathie oblitérante des membres inférieurs
- hémoglobine glyquée, (valeur usuelle= inférieur à 7 %) pour évaluer un déséquilibre glycémique
- recherche de protéinurie, (à la recherche d'une néphropathie diabétique)
- bilan lipidique (LDLc, HDLc, et les Triglycérides) à la recherche d'une dyslipidémie

- bilan ophtalmologique(FO) à la recherche d'une rétinopathie diabétique

Analyses statistiques : les questionnaires ont été saisis et analysés sur les logiciels EPI – Info6.0,3.3 2 et SPSS version 20.0 après vérifications et toilettage des données. Le test statistique utilisé était le chi-carré et de test exact de Fisher pour la comparaison des proportions (avec valeur $p \leq 0,05$ comme seuil de significativité).

Considérations d'éthique et déontologique : un consentement verbal libre et éclairé des patients a été obtenu avant leur inclusion à l'étude. Les renseignements donnés par chaque patient étaient confidentiels utilisés uniquement à des fins de recherche. Les prélèvements et autres renseignements personnels étaient codifiés par un numéro qui ne permettait pas d'identifier le malade lors de la publication des résultats de l'étude.

RESULTATS

Données sociodémographique : ont été colligés 60 patients dont 30 diabétiques comparés à 30 patients non diabétiques. Les deux populations étaient comparables : la tranche d'âge 30-60 ans représentaient entre 50% à 63% ($p = 0,18$) l'âge moyen des cas (diabétique de type 2) était de 56,833 +/- 2,249 ans, pour les témoins il était de 45,685 +/- 2,360 ans. Les ex ratio était de 0,15 à 0,76 en faveur des femmes dans les deux populations (50 à 90 %) ($p=0,02$).

Données cliniques : les patients diabétiques présentaient un surpoids dans 40%, une obésité abdominale dans **86,7 %**, une tension artérielle supérieure ou égale à 130/80 mm hg dans 40% des cas considérée comme élevée chez le diabétique compte tenu du haut niveau de risque cardiovasculaire. Les diabétiques de type 2 représentaient la quasi-totalité de nos patients soit 96,7%.

Données biologiques : un déséquilibre glycémique a été observé chez 73% des diabétiques (N=23/30) avec un taux d'hémoglobine glyquée supérieur à 7%.

Le dosage des marqueurs de stress montre que :

- les SOD étaient supérieurs à **1601 chez 73,3%** des diabétiques contre **40%** chez les témoins ($p=0,001$).
- les GPX étaient élevés seulement chez **3%** des diabétiques contre **30%** des témoins ($p=0,005$)
- le taux d'acide urique était normal dans les deux populations ($p = 0,06$)
- le taux de bilirubine totale était élevé dans les deux populations : 13% des diabétiques contre 10% des témoins ($p = 0,5$)
- le taux de bilirubine directe était supérieur à la normale chez 40% des diabétiques contre 13,3% des témoins selon les valeurs usuelles ($p = 0,04$)

- le taux d'albumine était élevé chez 37 % des diabétiques contre 47% des témoins (p= 0,4)

Le retentissement du diabète montre que 50%des diabétiques avaient une micro angiopathie et 30% une macro angiopathie

Les facteurs de comorbidité : Soixante-treize virgule trois pour cent (**73,3%**) des diabétiques présentaient une anomalie lipidique.

La relation entre micro angiopathie, les marqueurs du stress antioxydants, le déséquilibre glycémique, la dyslipidémie et l'hypertension artérielle : Parmi les patients diabétiques ayant une micro angiopathie (n=15/30) :

- Quatorze avaient un taux de Superoxyde dismutase élevée (p=0,059)
- Un avait un taux de Glutathion peroxydase bas (p= 0, 00006)
- Neuf avaient un taux bas d'albumine (p=0,22)
- Quinze avaient un taux de bilirubine directe anormal (p=0,00017)
- Trois avaient un taux d'acide urique élevé (p=0,0017)
- Quatorze avaient un déséquilibre glycémique (p=0,0058)
- Douze avaient une dyslipidémie (p=0,0017)
- Trois avaient une hypertension artérielle (p=0,592)

La relation entre macro angiopathie, les marqueurs du stress antioxydants, le déséquilibre glycémique, la dyslipidémie et l'hypertension artérielle : Parmi les patients ayant une macro angiopathie (n=9/30) :

- Huit avaient un taux de SOD élevé (p=0,007)
 - Neufs avaient un taux de GPX normal (p=0,5)
 - Cinq avaient un taux d'albumine élevé mais 14 sur 21 des sujets n'ayant pas de macro angiopathie avaient aussi un taux élevé d'albumine (p=0,4)
 - Neuf avaient un taux de bilirubine totale et directe élevé (p=0,5)
 - Un avait un taux d'acide urique élevé (p=0,6)
 - Neuf avaient un déséquilibre glycémique (p=0,00017)
 - Sept avaient une dyslipidémie (p=0,05)
 - Absence d'hypertension artérielle (p=0,11)
- Les diabétiques qui n'ayant pas de macroangiopathie (81 %) avaient une SOD élevée. (p=0,007)

DISCUSSION

La tranche d'âge la plus représentée était entre 30 et 60 ans et dans les deux populations 50 à 90 % étaient de sexe féminin. Nos diabétiques avaient dans 40 %des cas d'IMC supérieur à 25 kg/m² ; 86,7 % un tour de taille supérieure 80 cm et 40% une tension artérielle supérieure ou égale à 130/80 mm hg. L'existence de ces facteurs de risque notamment l'obésité abdominale ; la pression artérielle élevée associés chez la population

diabétique majoraient leur niveau de risque cardiovasculaire. Les diabétiques de type 2 représentaient la quasi-totalité de nos patients soit 97%.Un déséquilibre glycémique a été observé chez les diabétiques dans 73% des cas Notre population diabétique s'avérait donc mal équilibrée et serait exposée à l'apparition précoce des complications dégénératives. La diminution des défenses antioxydantes enzymatiques, SOD GPX, catalase...) et non enzymatiques (GSH, vitamine E) contribue à l'apparition d'un stress oxydant dans les tissus. De nombreuses études sur des patients diabétiques de type 1 ou 2 ont montré une diminution significative de la capacité antioxydante dans le plasma [8,9].Les études font état d'une augmentation des défenses antioxydantes ou d'aucune modification [10].

Une augmentation de la Superoxyde dismutase érythrocytaire SOD chez 73,3 % de diabétiques ceci est différent de l'étude Kassab et Hokayem [11,12] qui ont constaté une diminution de la Superoxyde dismutase érythrocytaire chez leur population diabétique 14% par rapport aux témoins mais concordent avec celle de Dennouni[13]quin trouve une augmentation de la Superoxyde dismutase érythrocytaire. En effet la Superoxyde dismutase SOD est la première enzyme de lutte antioxydante et son augmentation témoigne un stress oxydatif et d'une réaction de défense antioxydante. Une élévation des GPX chez trois pour cent des diabétiques et 30% pour cent des témoins. Ce résultat est comparable celui de Kassab [11]qui ont trouvé que la GPX érythrocytaire des sujets diabétiques ne présente pas de variation significative par rapport aux témoins. Nos résultats concordent aussi avec ceux d'Oaussila [13] qui trouvent dans une population diabétique un taux de sélénium (coenzyme de la GPX) plasmatique normal, expliqué par un apport alimentaire riche en sélénium du fait de la particularité des terrains d'agriculture tunisiens. Une autre étude faite en Algérie par Dénouni [14] montre une diminution significative de la GPX et de la SOD chez les diabétiques par rapport aux témoins. .

-Une absence de différence significative entre les cas et les témoins par rapport aux concentrations moyennes plasmatiques de l'acide urique différent de celle de Maritim [10] qui trouve une augmentation de l'acide urique dans la population diabétique ; semblable à celle de Dénouni [14]. Une légère augmentation du taux des acides uriques serait protectrice contre les oxydants. Une différence significative a été observée entre les cas et les témoins par rapport à la concentration plasmatique de la bilirubine directe (p= 0,04)

L'étude montre que 50% des diabétiques avaient un micro angiopathie (rétinopathie ;

néphropathie et la neuropathie) et 30% une macro angiopathie sur un déséquilibre glycémique. Plus le déséquilibre glycémique est important plus nous avons l'apparition des complications dégénératives ($p=0,00017$)

Au total 46% des diabétiques avaient un taux de Superoxyde dismutase élevé et 46% un taux GPX normal, 60%avaient un taux bas d'albumine et 20% un taux élève d'acide urique et 100% un taux de bilirubine directe élevé.

Notre étude a montré que l'élévation des antioxydants est un signe de lutte contre la survenue des complications dégénératives par l'élévation de la SOD dans 46 %.

Les diabétiques qui présentaient une micro angiopathie 80% avaient une dyslipidémie ($p=0,3$) et 20% une hypertension artérielle ($p=0,0017$) ; ceux ayant une macro angiopathie 78% avaient une dyslipidémie ($p=0,5$). Nos résultats montrent une perturbation du métabolisme lipidique. En effet, le taux de Cholestérol augmente perceptiblement chez nos diabétiques, ceci peut s'expliquer par le fait que l'insuline module l'activité de plusieurs enzymes clés de métabolisme lipidique et intervient dans la production et le catabolisme des lipoprotéines. [1]

CONCLUSION

Notre étude a montré une présence du stress oxydatif chez les trente diabétiques notamment par une élévation de la Superoxyde dismutase et une normalisation relative du glutathion peroxydase par rapport aux appariés et donc une augmentation des défenses antioxydantes et la moitié des diabétiques avaient une micro angiopathie et neuf une macro angiopathie.

Il est impératif de garder en équilibre la balance du statut oxydant/antioxydant. En conséquence un traitement adéquat, une bonne hygiène, alimentaire riche en légumes et en fibres, une activité physique régulière, et une supplémentation en antioxydants devient nécessaire car cet équilibre devient encore plus précaire en cas de maladies chroniques en l'occurrence le diabète.

Nous ne déclarons aucun conflit d'intérêt

REFERENCES

- 1- **Favier.** Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la Compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité clinique, **2003** :108-115.
- 2- **Gerard Monnier D, Chaudiere J.** Metabolism and antioxidant function of glutathione. *Pathol. Biol*, **1996**; 44 : 77-85.
- 3- **Du XL, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG.** Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activatorinhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci*, **2000**; **97**: 12222-1222641
- 4- **Robertson R, Zhou H, Zhang T, Harmon JS.** Chronic oxidative stress as a mechanism for glucose toxicity of the beta cell in type 2 diabetes. *Cell Biochem Biophys*, **2007**; 48 (2-3):139-46.
- 5 -**Baron, AD.** Insulin resistance and vascular function. *J Diabetes Complications*, **2002**; 16:92-102.
- 6- **Evans, JL, Goldfine, ID, Maddux, BA, and Grodsky, GM.** Oxidative Stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev* **2002** ; **23**, 599-6221
- 7- **Chavan VU, Melinkeri RR.** Study of protein carbonyl group, nitric oxide and MDA (index of lipid peroxidation) as biomarkers of oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Natl J Community Med.* 2013 ; 4 : 2-9
- 8- **Opara EC.** Depletion of total antioxidant capacity in type 2 diabetes. *Metabolism*, 1999; 48 , 1414-1417.
- 9- **Suchitra MM.** Uric Acid, Oxidants and Antioxidant Vitamins in Type 2 Diabetic Patients without Cardiovascular Complications. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.*, **2011**: 341161-4.
- 10- **Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB III.** Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 2003, 17 : 24-38.
- 11- **Kassab A.** Paramètres du stress oxydant dans le diabète de type 2. *2003* ,18 , 79-85
- 12- **Hokayem M, Bisbal C, Lambert K, Avignon A.** Quelle place pour les antioxydants dans la prévention du diabète de type2 Médecine des maladies Métaboliques - Septembre 2012 - Vol. 6 - N°4
- 13 **Ouassila A.** The Investigation of the Oxidative Stress-Related Parameters in Type 2 Diabetes Mellitus .*Canadian Journal of Diabetes*, 2015, 39 , 44-49
- 14- **Dénnouni Medjati N, Dali-Sahi M.** Paramètres du stress oxydant dans le diabète de type 2, chez une population de l'extrême-ouest algérien, *March* 2015, Volume 41, supplement1 ; Page A66

Tableau I : répartition entre les cas et les témoins selon les valeurs usuelles des marqueurs du stress oxydatif étudiés

Valeurs usuelles	Cas	Témoins	Total	P
SOD U/ml d'Hb				
1102-1601	8	18	26	P<0,009
≥ 1601	22	12	34	
Valeurs usuelles de GPX U/g Hb				P<0,005
27 - 73	29	21	50	p=0,237
>73	1	9	10	
Valeurs usuelles en AU mg/dl				p=0,999
2 - 6	30	27	57	p=0,02
>6	0	3	3	
Valeurs usuelles BT mmol/L				p=0,4321
3-19	26	27	53	p=0,4321
>19	4	3	7	
Valeurs usuelles BD mmol/L				
0 - 3	18	26	44	p=0,4321
>3	12	4	16	
Valeurs usuelles ALB g/L				
≤35	19	16	35	p=0,4321
≥35 - 52	11	14	25	

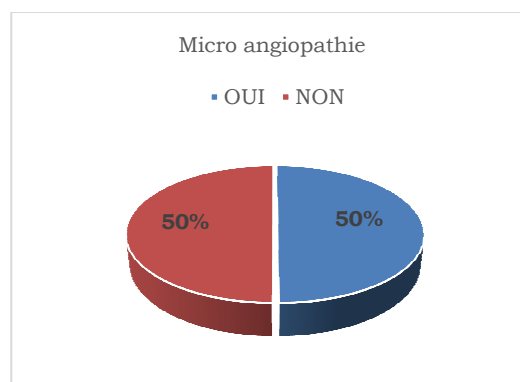


Figure 1. Répartition des cas diabétiques selon la présence de micro angiopathie

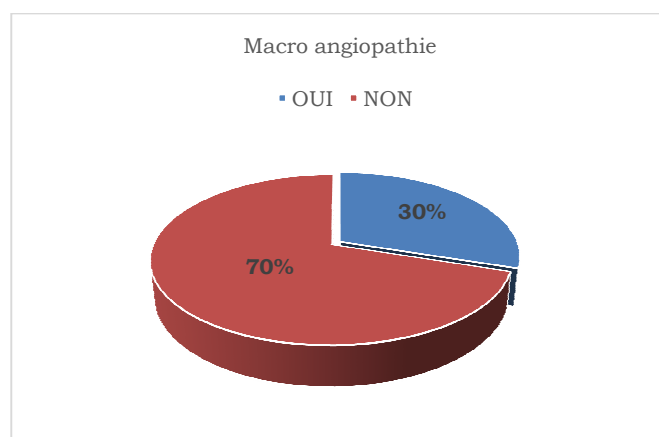


Figure 2. Répartition des cas diabétiques selon la présence de macro angiopathie

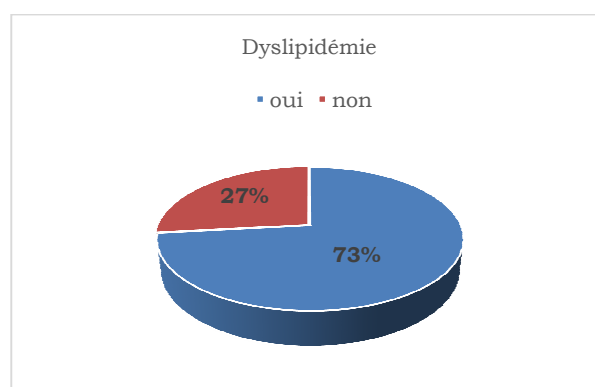


Figure 3. Répartition des cas diabétiques selon la dyslipidémie

Tableau II : relation entre les marqueurs du stress et les complications dégénératives du diabète

Marqueur stress oxydatif		Superoxyde Dismutase (U/ml)			Glutathion peroxydase (U/g)			Albumine (g/l)			Acide urique (mg/dl)			Bilirubine totale (mmol/l)			Bilirubine directe (mmol/l)		
Complications du diabète		N	A	Total	N	A	Total	N	A	Total	N	A	Total	N	A	Total	N	A	Total
Micro angiopathies	Oui	1	14	15	14	1	15	6	9	15	12	3	15	15	0	15	0	15	15
	Non	4	11	15	15	0	15	5	10	15	14	1	15	15	0	15	0	15	15
Macro angiopathies	Oui	1	8	9	9	0	9	4	5	9	8	1	9	0	9	9	0	9	9
	Non	4	17	21	20	1	21	7	14	21	18	3	21	0	21	21	0	21	21

Tableau III : Relation entre l'hémoglobine glyquée et les complications dégénératives du diabète (micro angiopathie et macro angiopathie)

Hémoglobine glyquée (HbA1c)		HbA1c		
Complications du diabète		N	A	Total
Micro angiopathies	Oui	1	14	15
	Non	5	10	15
macro angiopathies	Oui	0	9	9
	Non	6	15	21

Tableau IV : Relation entre les facteurs de risques associés au diabète et les complications dégénératives (micro angiopathie et macro angiopathie)

Facteurs de risque associés au diabète Complications du diabète		Dyslipidémie			HTA		
		Oui	Non	Total	Oui	Non	Total
Micro angiopathies	Oui	12	3	15	3	12	15
	Non	10	5	15	6	9	15
Macroangiopathies	Oui	7	2	9	0	9	9
	Non	15	6	21	9	12	21