

Evaluation des marqueurs du stress oxydant dans une population de Hanseniens en Côte d'Ivoire

CAMARA C.M.*, DJESSOU P.** , MONDÉ A.A.* , LOHOUES E.C., DJOHAN Y.F.* , AKA A.*** , SESS E.D.*

RESUME

Objectif : L'objectif de cette étude était de vérifier l'influence réciproque éventuelle entre la lèpre et le processus de lipoperoxydation ou de mise en branle du stress oxydant.

Matériels et méthodes : il s'agissait d'une étude transversale cas témoins qui a inclus 40 patients atteints de maladie de Hansen déjà sous traitement polychimiothérapique à l'institut Raoul Follereau d'Adzopé et 34 témoins sujets sains. Le niveau moyen de lipoperoxydation a été déterminé chez ces patients par le dosage des TBARS selon la méthode spectrofluorimétrique de YAGI modifiée par SESS et coll.

Résultats : A l'issue de cette étude, nous avons constaté que :

le taux moyen de TBARS chez les malades ($2,17 \pm 0,87$ nmol/ml) est significativement plus élevé que chez les témoins ($1,56 \pm 0,36$ nmol/ml).

Les paramètres biochimiques standards dosés, avaient des taux moyens inclus dans les limites des valeurs normales.

Conclusion : Des radicaux libres sont produits dans la maladie de Hansen et semblent entretenir un stress oxydant par la longévité du bacille de Hansen dans l'organisme du lépreux ; l'adjonction d'antioxydants au traitement spécifique pourrait améliorer cette situation.

Mots clés : Radicaux libres, stress oxydant, lipopéroxydation, lèpre , maladie de Hansen

SUMMARY

Objective : this study aimed to check the possible reciprocal influence between the leprosy and the process of lipoperoxydation or setting in swing of the oxidizing stress.

Materials and methods : it was about a cross-sectional study pilot case which related to 40 leprosy under polychimiotherapy at the institute Raoul Follereau of Adzopé and 34 witnesses supposed healthy. The mean level of lipoperoxydation was given among these patients by the proportioning of the TBARS according to the spectrofluorimetric method the YAGI

Results : has the resulting one from this study, we note that : - the average rate of TBARS is significantly higher among patients than at the witnesses ($2,17 \pm 0,87$ nmol/ml versus $1,56 \pm 0,36$ nmol/ml). - the standard biochemical parameters, showed average rates included within the limits of the normal values.

Conclusion : The free radicals are produced in the Hansen disease and seems to maintain a stress oxidizing by longevity the bacillus of Hansen in the body of the leprosy one.

Key words : free radicals, stress oxidizing, lipoperoxydation , TBARS, Hansen disease

INTRODUCTION

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (molécules, atomes ou ions) dont la couche périphérique contient un électron non couplé (électron dit célibataire) qui les rend très instable [04].

Produits dans l'organisme de manière physiologique, ils peuvent également être générés dans des circonstances pathologiques.

Dans leur recherche de stabilité, ils s'attaquent aux autres composantes cellulaires (ADN, macromolécules et surtout les bicouches phospholipidiques des membranes), entraînant ainsi une cascade de réactions radicalaires à l'origine d'un stress oxydant quand les moyens de défense de l'organisme s'avèrent insuffisants [1].

Le stress oxydant serait impliqué dans de nombreuses pathologies notamment le cancer [02], le VIH-SIDA [08], la drépanocytose [10], le paludisme [02], et accessoirement la lèpre ou maladie de Hansen [06, 09].

Malgré son recul ces dernières années grâce à la polychimiothérapie dans le traitement des malades, la maladie de HANSEN demeure endémique en Asie, en Amérique latine et en Afrique.

*Service de Biochimie Médicale du CHU de Cocody BPV 166 Abidjan

**Service de Biochimie Médicale du CHU de Treichville

***Actuellement au laboratoire de Biochimie de l'Institut Pasteur Côte d'Ivoire
Correspondance à massaracisse@yahoo.fr

En effet, selon un rapport de l'organisation mondiale de la santé (OMS) en 1994, la lèpre toucherait environ 2.470.000 personnes dans le monde avec 283.000 cas estimés en Afrique parmi lesquels 15.000 pour la Côte d'Ivoire qui en a déclaré officiellement 3.762 [06, 09]. La lèpre est donc un véritable problème de santé publique dans nos régions.

Dans sa lutte contre le bacille responsable de la lèpre, l'organisme utilise, entre autres, les radicaux libres comme moyen de défense.

Dans le souci de mieux connaître les caractéristiques biochimiques de cette affection, nous nous sommes proposés de vérifier l'influence réciproque éventuelle entre la lèpre et le processus de lipoperoxydation ou de mise en branle du stress oxydant.

Ia. MATERIEL

1a.1. Cadre et type d'étude

Il s'agit d'une étude transversale cas témoins qui s'est déroulée de Mars à Juillet 2004 d'une part à l'institut RAOUL FOLLEREAU d'Adzopé (IRFA) pour le recrutement des malades et respectivement dans le laboratoire de Biochimie de l'UFR des Sciences Médicales de l'Université de Cocody pour le dosage des TBARS et le laboratoire de Biochimie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour la détermination des constantes biochimiques standards (urée, glycémie, créatinine, cholestérol total, triglycérides, transaminases).

La méthode d'échantillonnage est de type aléatoire systématique pour les malades et les témoins.

1a.2. Critères d'inclusion

Les cas sont des patients atteints de la maladie de Hansens

- pensionnaires de l'Institut Raoul Follereau d'Adzopé.
- ayant un dossier médical à jour.
- ayant répondu correctement aux questionnaires de la fiche d'enquête.

Les témoins sont des parents de patients et des agents de l'IRFA personnels soignant ou tout individu présumé sain ayant accepté de participer à l'enquête après consentement éclairé.

1a.3. Critères d'exclusion

- Tout individu présentant une quelconque affection susceptible d'influencer le niveau de lipoperoxydation,
- Pensionnaire de l'I.R.F. avec un dossier médical incomplet.

Ib. METHODES

1b.1. Méthode de prélèvement

5 ml de sang veineux sont recueillis dans différents tubes chez le patient à jeun :

- Sur tube sec pour le dosage des paramètres biochimiques standards (Urée, Glycémie, Transaminases, Cholestérol, Triglycérides, Créatinine)
- Sur tube avec anticoagulant (Héparinate de lithium) pour le dosage des TBARS.

Ib.2. Méthodes de dosage

Nous avons dosé l'urée, la glycémie, la créatinine, les triglycérides, les transaminases, par les méthodes enzymatiques usuelles sur un automate multiparamétriques dont le principe repose sur la spectrophotométrie avec un système de gestion intégrée des résultats.

La détermination des TBARS (Thio Barbituric Acid reactivities Substances) a été effectuée selon la méthode de YAGI modifiée par SESS et coll. (10).

Il s'agit d'une méthode de dosage indirecte des radicaux libres. Elle mesure les substances issues de la lipopéroxydation et réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBA).

Son principe est le suivant : chaque molécule de Malon di aldéhyde (MDA) issue de la lipoperoxydation réagit avec deux molécules d'acide thiobarbiturique (Thio Barbituric Acid TBA). La réaction s'effectue en milieu acide à la température de 95-100°C et conduit à la formation d'un complexe de couleur rose. D'autres aldéhydes issus de la lipopéroxydation réagissent de la même manière.

La coloration obtenue correspond à l'ensemble des substances réagissant (TBARS), cependant, les résultats sont exprimés en malondialdéhyde (MDA).

Ib.3. Méthodes de traitement des données

Nous avons utilisé :

- Le logiciel Word pour le traitement de texte
- Le logiciel Excel pour les courbes et graphiques
- Le logiciel Epi info (EPI6) version française pour l'analyse statistique avec :
 - les tests de KRUSKAL WALLIS pour les comparaisons de moyenne, et
 - les tests de FISHER SNEDECOR pour la recherche de corrélation.

II- RESULTATS

2.1. description de la population d'étude (tableau I)

- 30% de nos sujets ont un âge compris entre 41 et 50 ans,
- 20% de nos sujets ont un âge compris entre 21 et 30 ans,
- 15% de nos sujets ont un âge < 20 ans.
- L'âge moyen des patients est de 38,75 ans
- Le sexe masculin est prédominant avec un sex-ratio de 1,85 homme pour 1 femme chez les malades et de 2,4 hommes pour 1 femme chez les témoins

Tableau I: Répartition des patients par tranches d'âge et par sexe

Sexe tranches d'âges (années)	masculin		féminin		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
[10 - 20]	5	12,5	1	2,5	6	15
[21 - 30]	7	17,5	1	2,5	8	20
[31 - 40]	2	5	3	7,5	5	12,5
[41 - 50]	6	15	6	15	10	30
[51 - 60]	1	2,5	3	7,5	4	10
> 60	5	12,5	0	0	5	12,5
TOTAL	26	65	14	35	40	100

Age moyen : 38,75 ans.

Sex ratio : 1,85 hommes pour 1 femme.

2. Valeurs des paramètres biochimiques courants (tableau II)

Les taux moyens d'urée, de glucose et de cholestérol sanguins sont sensiblement les mêmes chez les malades que chez les témoins tandis que les taux moyens de créatinine, des transaminases et des triglycérides sanguins sont significativement différents de ceux des témoins sans être des valeurs pathologiques.

Tableau II: Taux moyens des paramètres biochimiques standards et des TBARS chez les malades et les témoins

Paramètres	Malades (40)	Témoins (34)	P
Urémie (g/l)	0,22	0,22	0,7031 NS
Glycémie (g/l)	0,78	0,81	0,1311 NS
Créatininémie (mg/l)	8,97	10,06	0,0102 S
Cholestérolémie (g/l)	1,586	1,584	0,7695 NS
ASAT (UI/l)	29,2	22,82	0,0045 S
ALAT (UI/L)	11,17	15,53	0,0194 S
Triglycéridémie (g/l)	0,96	0,62	0,00000 S
TBARS (nmol/ml)	2,153	1,559	0,0002 S

Le niveau de lipopéroxydation des malades est significativement différent de celui des témoins.

3. Valeurs des marqueurs de la ipoperoxydation (tableau II)

Chez les malades, le taux moyen de TBARS est de 2,153 nmol/ml avec un Ecart-type de 0,871 ; le taux min était de 0,98 nmol/ml et le taux max de 4,920 nmol/ml tandis que chez les témoins, le taux moyen était de 1,559 nmol/ml avec un écart type de 0.359 ; le taux min de 1,000 nmol/ml et le taux max de 2,480 nmol/ml.

Le taux moyen de TBARS chez les patients est significativement plus élevé que ceux des témoins.

Le niveau moyen de lipopéroxydation chez les hommes n'est pas significativement différent de celui des femmes (tableau II).

Tableau II : Taux moyen de TBARS chez les malades et les témoins

Population	Effectif	Moyenne (nmol/ml)	Ecart-type	Limite inf	Limite sup	p
Malades	40	2.153	0.871	0.98	4.920	0.0002 S
Témoins	34	1.559	0.359	1.000	2.480	

Le taux moyen de TBARS n'était pas significativement différent chez les multi bacillaires par rapport à celui des pauci bacillaires (tableau III).

Tableau III : Comparaison du niveau moyen de lipopéroxydation en fonction du sexe et de la bacilloscopie chez les malades

Population	Effectif	Moyenne (nmol/ml)	p
Hommes	26	2,15	0,9569 NS
Femmes	14	2,16	
Multibacillaire	22	2,14	0,1649 NS
Paucibacillaire	16	2,16	
Non précisé	02	2,50	

Par ailleurs, Il n'y avait pas de corrélation entre les TBARS et les autres paramètres de notre étude.

III- DISCUSSION

3.1- Epidémiologie

30% des patients ont un âge compris entre 41 et 50 ans, 20% ont un âge compris entre 21 et 30 ans, 15% ont un âge < 20 ans.

L'âge moyen de l'échantillon de malades est de 38,75 ; Il s'agit alors d'une population jeune dans la force d'âge de travail.

Le sexe masculin est prédominant avec un sex-ratio de 1,85 homme pour 1 femme chez les malades et de 2,4 hommes pour 1 femme chez les témoins.

La répartition globale de la population est en conformité avec les données de la littérature [09].

3.2- Paramètres biochimiques standard.

3.2.1. Urée sanguine, glycémie, cholestérolémie totale

Le tableau II ne montre pas de différence significative entre malades et témoins pour l'urémie, la cholestérolémie totale et la glycémie avec respectivement, $p_{urémie} = 0,7032$, $p_{glycémie} = 0,1314$ et $p_{cholestérol\ total} = 0,7695$ au risque $\alpha = 5\%$.

Cette situation pourrait être le fait de la politique

de prise en charge des malades, menée par l'Institut Raoul Follereau, politique qui vise à instaurer chez le lépreux en traitement, une prise en charge rapide et totale de toute autre affection : Mais aussi résulte du tri des patients pour éviter l'interférence d'affections pouvant générer un stress oxydant.

3.2.2. Cas de la Créatininémie et des transaminases

Les valeurs moyennes de la Créatininémie et des transaminases (ASAT et ALAT) des lépreux sont significativement différentes de celles des témoins mais ces valeurs restent comprises dans l'intervalle de valeurs normales (Tableau II). Cas de la triglycémie

La triglycémie des malades est significativement plus élevée que celle des témoins (Tableau II).

Bien que cette valeur soit contenue dans les limites des valeurs normales, il est à noter que les acides gras (surtout les AGPI) constituant des triglycérides présentent une grande sensibilité à l'activité des radicaux libres.

Il semble que les triglycérides soient impliqués dans le processus de défense de l'organisme contre la surproduction des formes radicalaires [03].

3.3 TAUX DES TBARS

Le niveau moyen de lipoperoxydation représenté par le taux des TBARS est significativement plus élevé chez les malades que chez les témoins ($p = 0.0002$)

En effet, la pénétration de *M. leprae* dans l'organisme induit une réaction inflammatoire au cours de laquelle l'organisme produit des radicaux libres comme réaction de défense [05].

De plus, l'effet bactériostatique des antibiotiques utilisés dans le traitement de la lèpre induit une présence prolongée du bacille de HANSEN dans l'organisme du malade et par ce biais favorise la production de radicaux libres.

Cette situation peut être la cause d'une réponse prolongée et du maintien de réactions radicalaires [03, 07].

Par ailleurs les antibiotiques seraient impliqués dans l'apparition de formes radicalaires. Dès lors, leur prise prolongée dans le cadre de la PCT, pourrait expliquer l'induction de formes radicalaires dans l'organisme des malades et donc y maintenir une lipopéroxydation significative [03].

Il n'existe pas de différence liée au sexe concernant le degré de lipopéroxydation dans la lèpre ($p = 0,9567$).

Le sexe n'est donc pas un facteur influençant la lipopéroxydation dans la maladie de HANSEN.

En outre la comparaison du niveau moyen de lipopéroxydation en fonction de la bacilloscopie nous montre avec $p = 0,1649$ que le type bacillaire n'a pas d'influence significative sur le niveau moyen de lipopéroxydation.

Par ailleurs, la recherche de corrélation entre les TBARS et les autres paramètres d'une part et entre ces paramètres d'autres part, ne nous ont pas permis de noter une corrélation significative.

CONCLUSION

Ce travail dont l'objectif était de déterminer le niveau moyen de lipopéroxydation (représenté par les TBARS) dans une population de malades Hanseniens afin de préciser l'influence éventuelle et réciproque de la lèpre et du stress oxydant nous a permis d'observer que le taux moyen de TBARS était plus élevé chez les malades Hanseniens que chez les témoins de l'étude (2,15 nmol/ml versus 1,56 nmol/ml).

Ces résultats nous emmènent à écrire que dans la maladie de HANSEN, des radicaux libres provoquent un stress oxydant entretenu par la longévité du bacille de HANSEN dans l'organisme du lépreux et par la prise prolongée d'antibiotiques.

Par ailleurs, la détermination de paramètres biochimiques (urémie, glycémie, cholestérolémie totale, triglycémie, transaminases) a montré l'absence de corrélation entre ceux-ci et les taux de TBARS et de se rendre compte du bon suivi médical des malades de la lèpre à l'Institut Raoul Follereau d'Adzopé.

REFERENCES

- 1 - AMES B.N., SHIGENAGA M.K., HAGEN T.M. Oxidants, antioxidant and the degenerative diseases of aging. *Proceeding of the national academy of sciences of the United State of America* ; 90, 7915-7922.
 - 2 - ARUAMA OI Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists society* 1998, 75, 199-212.
 - 3 - CRASTES de PAULET Les lipides membranaires : une cible privilégiée des radicaux libres. *Nutrition et diététique* ; 1987, 22, 22-23.
 - 4 - DE LA CHARRIERE O. Vieillesse cutanée : Aspects morphologiques et physiologiques. *Encyclopédie de Med. Chir., Dermatologie* ; 1987, 12235, 1-8.
 - 5 - DEBY C. La biochimie de l'oxygène. *La Recherche* ; 1991, 22, 56-63.
 - 6 - JEAN LANGUILLON Précis de lèprologie, Pré-Presses-Pastel créations, avril 1999.
 - 7 - MAX NEBAUT La lutte contre la lèpre en Afrique intertropicale XI. La nouvelle thérapeutique de la lèpre, les médicaments, 1 - 25.
 - 8 - RABAUD C; TRONEL H; FREMONT S; MAY T. CANTON P; NICOLAS JP Radicaux libres et infection à VIH. *Annales de biologie clinique (Paris)*, 1997, 55, 565-571.
 - 9 - SAN SARRICQ H. : la lèpre, Ellipses, 1995.
 - 10 - SESS D.; CARBONNEAU M., THOMAS M. S. : Premières observations sur les principaux paramètres du stress oxydant chez les drépanocytaires homozygotes. *Bull. Société de pathologies exotiques* ; 1992, 85, 174- 179.
- Remerciements particuliers aux Médecins, et personnels de l'Institut Raoul Follereau d'Adzopé.