

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Génétique

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Implication du polymorphisme C677T du gène de
la MTHFR au diabète gestationnel**

Présenté et soutenu par : Kassama Zeineb

Le 28/11/2019

Rahmouni Amel

Jury d'évaluation :

Président : Dr Sedrati Khadidja (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Dr DAOUI Zineb (MCB - Université Mostefa Ben Boulaïd, Batna 2).

Examineur : Dr Ziada Hadia (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire

2018 - 2019

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS ET DÉDICACES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction 1

Etude bibliographique

I. Diabète gestationnel

1. Définition	4
2. Epidémiologie	4
3. Facteurs de risques	5
3.1.Facteurs de risques en dehors de la grossesse	5
3.2.Facteurs de risques lors de la grossesse en cours	6
3.3.Autres facteurs de risques	6
4. Physiopathologie	6
4.1.Anomalies liées à l'insulinosécrétion	7
4.2.Anomalies liées à l'insulinorésistance	7
4.3.Facteurs modulant l'insulinosécrétion et favorisant l'insulinorésistance	8
5. Diagnostic et dépistage du diabète gestationnel	9
5.1.Symptomatologie	9
5.2.Complications	9
5.2.1. Complications maternelles	10
5.2.2. Complications fœtales et néonatales	10
5.3.Méthodes du dépistage et les stratégies du diagnostiques	11
6. Prise en charge et suivi de la femme enceinte	13

II. Génétique du diabète gestationnel

1. Gènes du diabète type 1 et type 2 en absence de grossesse	14
2. Gènes impliquées dans le diabète gestationnel	15
3. Gènes de la MTHFR	16
3.1. Structure de la MTHFR	16
3.2. Gènes <i>MTHFR</i>	16
3.3. Transcription du gène <i>MTHFR</i>	17
3.4. Mutations et polymorphismes du gène <i>MTHFR</i>	17
4. <i>MTHFR</i> et le diabète gestationnel	18

Méthodologie

I Patients est témoins

1. Population d'étude	20
1.1. Critères d'inclusion	20
1.2. Critères d'exclusion	20
2. Recrutement des témoins	20
3. Recueil des données	20

II Méthodes expérimentales

I. Prélèvements sanguins	21
II. Méthode expérimental	21
1. Extraction de l'ADN	21
1.1. Principe de l'extraction de l'ADN	21
1.2. Génotypage de polymorphisme C677T du gène de la MTHFR	22
1.2.1. Amplification par la PCR	22
1.2.2. Digestion des produits de PCR	24
1.2.3. Electrophorèse des produits de digestion	25
2. Analyse statistique génétique	25

Résultats et discussion

I Caractéristique épidémiologique des patientes

1. Fréquence du diabète gestationnel	29
2. Age	29

3. Indice de masse corporelle (IMC).....	30
4. Origine géographique	31
5. Statut tabagique.....	32
6. Groupes sanguins	32
7. Antécédents personnels	33

II Données cliniques

1. Age gestationnel.....	36
2. Mode d'accouchement	36
3. Données biologiques	37

III Résultats de l'analyse moléculaire du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR

1. Fréquences génotypiques et alléliques	41
--	----

Conclusion et perspectives	47
---	-----------

Références bibliographiques	48
--	-----------

Annexes

Résumés

Au Nom de DIEU, le Très Miséricordieux

*Merci DIEU tout puissant, qui nous a honorées d'être parmi
ceux qui savent lire et écrire,*

*Nous t'implorons de nous éclairer et de nous guider sur le
droit chemin ...*

Remerciements

Nos remerciements vont à mon encadreur **Docteur DAOUI Zeineb**, maître de conférences classe B qui nous a mis sur ce sujet passionnant. Nous la remercions de nous avoir permis de travailler malgré ses problèmes de santé. Vous nous avez beaucoup appris.

J'adresse mes vifs remerciements au **Docteur SEDRATI Khadidja**, maître de conférences classe B qui a eu la bonté d'accepter d'être présidente de ce jury. Votre présence nous honore

Je remercie également **Dr. ZIADA-BOUCHAR Hadia**, maître de conférences classe B d'avoir accepté avec une grande amabilité de faire partie de ce jury pour examiner notre mémoire thèse et pour m'avoir fait l'honneur de votre présence à notre soutenance.

Soyez assurées toutes de notre profonde reconnaissance et de notre considération respectueuse.

Tous nos chaleureux remerciements à tous nos enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Constantine I qui ont assuré notre formation durant nos années d'études.



Dédicace

De profond de mon cœur, Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers ;

AMA CHÈRE MÈRE

« Zohra »

Source d'amour

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour tes sacrifices que tu as consenti pour mon instruction et mon bien être.

Merci d'être à mes côtés ma vie ne serait pas aussi magique sans ta présence et ton amour. Je t'aime

A MON CHÈR PÈRE « Moussa », MES CHÈRES SŒURS « Amina » et « Rayene » ET MON CHÈR FRÈRE « Brahim »

Source de joie et de bonheur

Merci énormément pour vos soutiens, motivations et encouragements.

Un remerciement tout chaud pour mes nièces « Rodina » et « Elyn » qui nous apportent beaucoup de vie, d'amour et de joie. et à son père « Ahmed » que le considère comme un grand frère

Ames amies

« Amel », « Inès », « Khadidja », « Yousra »,

Tous sans exception merci pour tout instant qu'on a passé ensemble, j'espère sincèrement qu'il en aura d'autres.

ZEINEB



Dédicace

Je dédie ce modeste mémoire :

A mon père Mohamed el Kamel, à l'homme que j'aime, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est sacrifié toute sa vie pour me voir réussir., la paix sur son âme.

A celle qui m'a toujours comblé son amour et ces sacrifices, qui m'a consenti et m'a soutenue aux moments les plus difficiles de ma vie, à ma très chère maman Hanifa

.la paix sur son âme.

A mes chère sœur Hamida, merci d'être toujours à mes côtés, de m'avoir aimé et de votre intérêt pour tout ce qui me concerne malgré ta responsabilités familiales.

A mes chère sœur Souad, merci d'être toujours à mes côtés, de m'avoir aimé et de votre intérêt pour tout ce qui me concerne malgré ta responsabilités familiales. Priez Dieu de te garder pour ton mari Salah, que je considère comme mon grand frère, et tes enfants

qui sont l'amour de ma vie Abderrahmane (Ayoub) et Nadji.

Morad, mon grand cher frère Morad et sa famille , mes frères Omar, Sofiane Et Riad., merci pour tous les moments heureux que nous ayons vécus.

A ma collègues et ma binôme Zeineb, pour la soeur agréable qu'elle était et pour son esprit d'équipe, merci pour tous.et toute ta famille le père la mère et les sœurs pour leurs accueil.

Un spécial dédicace à mon très chère marie Kamel qui ma soutenir toute cette période, et toute la famille Arzioukat.

A tous mes collègues, mes amies : en souvenir des moments agréables passés ensemble,

veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma tendre affection et mes sentiments les plus

respectueux avec mes vœux de succès, de bonheur et de bonne santé.

AMEL

LISTE DES ABREVIATIONS

ABCC8: ATP Binding Cassette C 8.

DG : Diabète Gestationnel.

DNID : Diabète Non Insulinodépendant.

DT2: Diabète de Type 2.

HAPO: Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Study Group.

HGPO : Hyperglycémie Par Voie Orale.

HMG: Hight Mobility Group.

HNF1A: Hepatocyte Nuclear Factor1 A.

HNF4B: Hepatocyte Nuclear Factor4 B.

HTA: Hypertension Arterielle.

IADPSG: Internationnal Association of Diabetes Pregnancy Study Group.

IMC: Indice de Masse Corporelle.

IGF1: Insuline Growth Factor1.

IGF2BP2:Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2

IRS1: Insuline Receptor Substrate 1.

K-ATP: Potassium-ATP

KCNJ11: potassium voltage-gated channel subfamily J member 11.

KCNQ1: potassium voltage-gated channel subfamily Q member 1.

MODY: Maturity Onset Diabetes of the Young.

MTNR1B : Receptor Melatonin 1B.

PHHI : Infantile Iyperinsulinémique Persistante familiale.

TCF7L2 : Transcription factor 7-like 2 (T-cell specific, HMG-box).

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Modalités de dépistage du diabète gestationnel à proposer dès la première consultation prénatale en cas de facteurs de risque.....	12
Figure 2 : Localisation du gène <i>MTHFR</i> sur le chromosome 1q36.3	17
Figure 3: Site de restriction de l'enzyme Hinf I.....	25
Figure 4 : Répartition des patientes selon les tranches d'âge.....	29
Figure 5 : classification des patientes selon l'indice de masse corporelle	30
Figure 6 : Répartition des patientes selon l'origine urbaine ou rurale	31
Figure 7 : Répartition des patientes selon leur phénotype sanguin	32
Figure 8 : Répartition des femmes selon les antécédents médicaux	33
Figure 9 : Répartition des patientes selon les antécédents obstétricaux.....	34
Figure 10 : Répartition des patientes selon leurs antécédents familiaux.....	35
Figure 11 : Répartition des patientes selon l'âge gestationnel	36
Figure 12 : Répartition des patientes selon leur taux de glycémie à jeun	37
Figure 13 : Répartition des patientes selon leur taux de glycémie postprandiale	38
Figure 14 : Répartition des patientes selon leurs résultats de bilan rénal	39
Figure 15 : Photographie du profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 3% des fragments après digestion par l'enzyme HinfI (les trois génotypes sont présent par 9 patients).....	40
Figure 17 : Fréquence génotypique de C677T du gène de la MTHFR des patientes et des témoins	42
Figure 18: Carte des fréquences des homozygotes 677TT dans le monde	43
Photographie 1: Profil électrophorétique des fragments amplifiés (198 pb) par PCR du gène de la MTHFR sur gel d'agarose 2%.....	24

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composants du milieu réactionnel de la PCR.....	23
Tableau 2 : Programme d'amplification PCR du gène de la MTHFR.....	23
Tableau 3 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio.....	26
Tableau 4: Répartition des patientes selon les villes d'Algérie.....	31
Tableau 5 : Répartition des patientes selon antécédent de césarienne.....	36
Tableau 6 : Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR.....	41
Tableau 7 : Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR.....	42

Introduction

Introduction

Le diabète gestationnel (DG) est un réel défi de santé public. Cette maladie, plutôt asymptomatique, est pourtant responsable de nombreuses difficultés au cours de la grossesse et de l'accouchement des femmes qui en sont atteintes. Les répercussions peuvent également nuire à l'état de santé de la femme et de son enfant après la grossesse.

Depuis 2010, de nombreuses études (et notamment l'étude HAPO) ont été menées sur cette pathologie, afin de mieux comprendre la maladie et les facteurs pouvant l'influencer. De nouveaux seuils de dépistage ont été établis permettant de mieux diagnostiquer les femmes atteintes de diabète gestationnel. Le fait de mieux cerner la maladie permet aujourd'hui d'en réduire sa morbidité. Sa prise en charge demande l'intervention et l'étroite collaboration de tous les professionnels de santé.

Le DG est une pathologie définie comme une intolérance aux glucides pendant la grossesse (Blazevic *et al.*, 2017). Le développement de ce diabète résulte de facteurs multifactoriels complexes environnementaux. Le DG est associé à des complications survenant essentiellement dans la période périnatale. En effet, c'est une grossesse à haut risque en raison de complications maternelles et fœtales qui peut mettre en jeu le pronostic fonctionnel et vital pour la mère et le fœtus (OMS, 2016). De fait, un dépistage et une prise en charge sont nécessaires.

Ainsi, l'importance du déterminisme génétique dans ce diabète a été récemment démontrée à travers de nombreuses études. Le développement du DG est associé à divers facteurs génétiques, tels que la présence de diabète dans la famille. De nombreux gènes ont été analysés notamment ceux impliqués dans la régulation de la sécrétion de l'insuline ou de son action. Cependant, il est probable que les gènes de susceptibilité soient très nombreux, très répandus et de faible pénétrance, ce qui les rend difficile à identifier (Monnier, 2010).

Parmi les gènes explorés, le gène du méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) a fait l'objet d'études qui ont mis en évidence une association entre des complications au cours de la grossesse causées par des mutations du gène *MTHFR* (Parveen *et al.*, 2013). Cependant, très peu d'études ont été réalisées sur le rôle du potentiel des mutations de l'*MTHFR* dans le développement du diabète gestationnel. Ce gène code pour une enzyme régulatrice clé du métabolisme du folate qui convertit 5, 10'-MTHF en 5, ' -MTHF, le donneur de méthyle pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine. Il est situé dans la région chromosomique 1p36.3 et comprend 11 exons codant pour 5, ' , 10'-MTHFR (Shaukat *et al.*, 2019).

La mutation faux-sens C677T entraîne la substitution de l'alanine à la valine en position 222, cette mutation est associée à une réduction de 50% de l'activité enzymatique de MTHFR (Gunderson *et al.*, 2010).

Introduction

L'objectif principal de cette étude est de :

- réaliser une enquête prospective auprès du service de gynéco-obstétrique afin de recruter les patientes diagnostiquées pour un DG.
- classer les patientes selon des critères phénotypiques, biologiques et obstétricaux.
- étudier les facteurs de risque liés à l'apparition du diabète chez les femmes enceintes.
- réaliser l'analyse moléculaire du polymorphisme C677T du gène de la *MTHFR*.



Etude

bibliographique



I. Diabète gestationnel

1. Définition

Le diabète gestationnel est défini par l'OMS comme un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse (Moumhil, 2013).

Cette définition englobe en fait deux populations différentes dont la clinique et le pronostic divergent (Moumhil, 2013) :

- les femmes qui ont un diabète méconnu (glycémie plasmatique à jeun $\geq 1,26$ g/l), découvert au 1er trimestre de la grossesse, le plus souvent de type 2 (15% des diabètes gestationnels), préexistant à la grossesse, et découvert seulement à l'occasion de celle-ci et qui persistera après l'accouchement ;
- les femmes qui développent un diabète uniquement à l'occasion de la grossesse (hyperglycémie plasmatique à jeun $\geq 0,92$ g/l au 1er trimestre de la grossesse), trouble qui disparaît, au moins temporairement, après la grossesse.

2. Epidémiologie

Dans la littérature, les données de la prévalence sont très variables en raison de l'absence de consensus quant aux critères de dépistage et de diagnostic. La prévalence du diabète gestationnel est le plus souvent comprise entre 2 et 6%, parfois beaucoup plus élevée, pouvant aller jusqu'à 22% dans des populations très particulières en Inde, Sardaigne et Proche-Orient (Vambergue, 2011).

Aux Etats-Unis, la prévalence du diabète gestationnel chez les caucasiennes est autour de 3,8%, plus élevée chez les amérindiennes (5,1%) et dans les populations d'origine asiatique (6,3%).

En Europe, les prévalences sont très variables, plutôt basses en Europe du Nord (de 0,6 à 3,6%), plus élevées dans des populations comme l'Italie, où la prévalence se situe à un taux sensiblement identique à celui de la France, autour de 6% (Vambergue, 2011).

En Suisse, la fréquence du diabète gestationnel est de 10,2%. Elle est de 1,2% en Suède et 2% au Danemark (Moumhil, 2013).

En Australie, Yue et al. observent une prévalence de 7% à partir d'une base de données hospitalière, mais des différences importantes selon l'ethnie : 3% en cas d'origine caucasienne, 7% en cas d'origine arabe, 10% en cas d'origine vietnamienne, et 15% chinoise (Moumhil, 2013).

En Algérie, dans une déclaration de l'Algérie Presse Service (APS) à la veille de la célébration de la journée mondiale du diabète le 14 novembre 2017, organisée sous le thème "La femme et le diabète", il a été précisé qu'entre 15 et 20% des femmes enceintes étaient sujettes au DG, soit 2 femmes sur 10, relevant le taux élevé de prolifération de la maladie chez cette catégorie de femmes durant ces dernières années (Aouiech, 2017).

3. Facteurs de risques

3.1. Facteurs de risques en dehors de la grossesse

- L'ethnie

Les femmes d'origines asiatique, hispanique, africaine, indienne et des îles du pacifique ont plus de risque de développer un diabète gestationnel (Lahlou, 2011).

- Antécédent familial de diabète

Le risque de développer un DG en cas d'antécédents familiaux est de 1.68%, ce risque varie selon l'antécédent de diabète de type 2 (DT2) ; s'il s'agit de la mère le risque est évalué à 3% ; s'il s'agit du père le risque est de 3.3%; s'il s'agit d'un membre de la fratrie, il est évalué de 7.1% (Lahlou, 2011).

- Grossesse antérieure

L'existence par ailleurs d'un diabète antérieur à la grossesse peut être responsable de complications maternelles et fœtales spécifiques (Boivin *et al.*, 2002).

- Antécédent de pré-éclampsie

Hypertension artérielle accompagnée de l'apparition de protéines dans les urines (Lahlou, 2011).

- Antécédent de mort in utéro

La mort fœtale in utero fait référence par définition à l'arrêt spontané de l'activité cardiaque du fœtus, à un stade gestationnel supérieur à 14 semaines d'aménorrhée (Quinbel *et al.*, 2014).

- Antécédent de macrosomie

Si la mère a déjà accouché un bébé de 4 kilos et plus elle risque de développer un DG (Derangere, 2009).

- **Antécédent de malformation**

Les malformations congénitales sont définies comme des anomalies morphologiques et fonctionnelles présentes à la naissance (Kamla et *al.*, 2017).

- **Antécédent d'avortement à répétition**

C'est l'expulsion d'un embryon ou d'un fœtus pesant moins de 500 grammes (Vinatier et *al.*, 1997).

- **Antécédent du syndrome des ovaires polykystiques**

L'ovaire polykystique secrète trop d'androgènes et n'ovule pas ou peu, d'où l'infertilité. Avec perturbation du métabolisme du glucose lié à une insulino-résistance, Le risque à long terme a pour conséquent de développer un diabète et des complications cardiovasculaires (Beucher et *al.*, 2010).

3.2.Facteurs de risques lors de la grossesse en cours

- **L'âge**

Le risque du diabète gestationnel augmente de manière linéaire avec l'âge (Pintiaux et Foidart, 2005)

- **Le surpoids et l'obésité**

Le surpoids et l'obésité sont un risque fort et major du diabète gestationnel avec un IMC $\geq 25 \text{kg/m}^2$ (Lahlou, 2011).

- **Glycosurie**

La présence de glucose dans les urines ; qui est liée à un taux de glucose dans le sang .

- **Hydramnios**

Liquide amniotique en excès pendant la grossesse (Pintiaux et Foidart, 2005).

3.3.Autres facteurs de risques

- Facteurs sociaux (niveau socio-économique) ;
- Facteurs Psychologiques (dépression) ;
- Facteurs comportementaux (Beucher et *al.*, 2010).

4. Physiopathologie

Au cours de la grossesse, le corps accélère le métabolisme avec une phase anabolique, puis une phase catabolique afin d'assurer les éléments nécessaires à la croissance du fœtus.

Etude bibliographique

L'insuline, une hormone sécrétée par le pancréas, permet au sucre (glucose) de pénétrer dans les cellules du corps, afin d'être utilisé ou entreposé comme source d'énergie.

Durant la grossesse, le placenta produit des hormones qui sont utiles au déroulement de la grossesse mais qui nuisent à l'action de l'insuline. Ces hormones augmentent tout au long de la grossesse pour atteindre un maximum vers la 36^{ème} semaine d'aménorrhée. Ces hormones placentaires entraînent de plus en plus de résistance à l'action de l'insuline. Si le pancréas de la femme enceinte n'arrive plus, à sécréter suffisamment d'insuline pour contrer l'effet des hormones de grossesse, il y a une accumulation de glucose dans le sang, ou une hyperglycémie. Ce type de diabète apparaît généralement vers la fin du sixième mois, soit au moment où les hormones de grossesse commencent à être assez élevées dans le sang (Gagné, 2013).

Pendant la grossesse normale, il apparaît une insulino-résistance physiologique, progressive et réversible associée à un hyperinsulinisme réactionnel. Au cours du diabète gestationnel, il y a la même situation d'insulino-résistance mais avec une diminution de l'insulinosécrétion provoquant une anomalie de la tolérance glucidique (Carlesso, 2018).

4.1. Anomalies liées à l'insulinosécrétion

- Anomalie de l'insulinémie à jeun

Les insulinémies à jeun augmentent d'une façon progressive au cours de la gestation. Les taux sont multipliés par deux entre le premier et le dernier trimestre de la grossesse.

- Anomalies dynamiques de l'insulinosécrétion

L'hyperinsulinisme est réactionnel, réversible et prédominant en situation postprandiale. L'augmentation de la pro-insulinémie de manière importante dans la première moitié de la grossesse impose la nécessité d'instaurer une insulinothérapie pour maintenir un équilibre glycémique correct pendant la grossesse (Vambergue *et al.*, 2002).

- Modifications structurales des îlots de Langerhans

Une hypertrophie et une hyperplasie des cellules bêta sont décrites, ces modifications structurales. Une adaptation à l'augmentation de l'insulinosécrétion aussi bien au cours de la grossesse normale du diabète gestationnel (Vambergue *et al.*, 2002).

4.2. Anomalies liées à l'insulino-résistance

L'insulino-résistance peut exister avant la grossesse, être aggravée par la grossesse elle-même essentiellement au deuxième trimestre, ou être majorée par une prise de poids excessive pendant la grossesse (Vambergue *et al.*, 2002).

Les mécanismes impliqués dans l'insulinorésistance :

- **Modifications de la liaison de l'insuline à son récepteur**

La liaison de l'insuline à son récepteur est soumise aux variations hormonales ; qui est diminuée par la prolactine, augmentée par l'œstradiol, et la progestérone pourrait l'augmenter ou la diminuer. Donc l'insulinorésistance n'est pas expliquée par des changements de l'affinité de l'insuline pour son récepteur (Vambergue *et al.*, 2002).

- **Anomalies de la cascade de signalisation intracellulaire**

L'insulinorésistance est liée aux troubles de la cascade de signalisation intracellulaire pendant la grossesse normale et augmentée au cours du diabète gestationnel. L'activité tyrosine kinase du récepteur de l'insuline est diminuée dans la cellule musculaire chez la femme enceinte obèse et avec un diabète gestationnel, entraînant une captation musculaire de glucose dans le diabète gestationnel (Vambergue *et al.*, 2002).

- **Anomalies de l'action périphérique de l'insuline au niveau du tissu adipeux, du muscle squelettique et du foie**

Pendant la grossesse normale, il y a une diminution de la glycolyse par diminution de l'activité phospho-fructokinase et du pyruvate kinase dans le tissu musculaire, Alors que l'activité de la glucose-6-phosphate est plus élevée, ce qui augmente la synthèse locale de l'acide gras inhibant la glycolyse. Au cours du diabète gestationnel, des anomalies du transport de glucose intra-adipocytaire sont observées (Leyrat-Savin, 2012).

4.3.Facteurs modulant l'insulinosécrétion et favorisant l'insulinorésistance

• **Implications hormonal**

La production hormonale au cours de la grossesse entraîne une discrète insulinorésistance corrélée à l'avancée de l'âge gestationnel, ainsi qu'une augmentation des hormones de contre-régulation glycémique (Carlesso, 2018).

- **Les œstrogènes**

Leur taux est augmenté, la glycémie décroît et l'insulinémie est multipliée par deux (Vambergue *et al.*, 2002).

- **La progestérone**

La concentration s'élève et atteint son maximum vers la 32^{ème} semaine. Elle augmente la réponse insulino-sécrétoire au glucose, diminue la production hépatique, et le transport de glucose (Leyrat, 2012).

- **La prolactine**

Taux augmentés, la sécrétion insulinique est augmentée, le transport du glucose est diminuer sans altérer la liaison de l'insuline à son récepteur.

- **Le cortisol**

A la fin de la grossesse, la cortisolémie est deux fois et demi plus élevée ; c'est l'hormone la plus diabétogène. Elle est responsable d'une augmentation de la production hépatique du glucose et une diminution de l'insulinosensibilité (Vambergue *et al.*, 2002).

- **L'hormone lactogène placentaire**

Induit une élévation de l'insulinosécrétion et de la glycémie (Leyrat, 2012).

- **La leptine**

Le taux de la leptine s'élève progressivement, et avec un maximum entre les 20^{ème} et 30^{ème} semaines de gestation. L'impact de la leptine au cours de la grossesse et son action sur l'insulinosécrétion et l'insulinosensibilité ne sont pas encore expliqués (Vambergue *et al.*, 2002).

5. Diagnostic et dépistage du diabète gestationnel

5.1.Symptomatologie

La plupart des femmes atteintes de diabète gestationnel ne présentent aucun symptôme. Certaines pourront présenter les symptômes suivants :

- une fatigue inhabituelle pour une femme enceinte ;
- une augmentation du volume ou de la fréquence des urines ;
- une soif intense ;
- des maux de tête.

Ces symptômes, lorsque présents, sont souvent légers et peuvent passer inaperçus car ils ne sont pas spécifiques au diabète de grossesse et très fréquents chez la femme enceinte. C'est pour cette raison qu'il est important de faire un dépistage du diabète de grossesse chez toutes les femmes (Laurent, 2013).

5.2.Complications

Plusieurs complications ou pathologies découlent du diabète gestationnel aussi bien chez la mère que chez l'enfant, à court et à long terme (Driguez, 2011).

5.2.1. Complications maternelles

- **A court terme**

- **l'hypertension artérielle gravidique et la pré-éclampsie**

L'hypertension artérielle gravidique (HTA) est définie par des pressions artérielles supérieures à 140/90mmHg, la pré-éclampsie est définie par une HTA gravidique associée à une protéinurie supérieure à 0.3g/24h (Leyrat, 2012).

- **La césarienne**

Le diabète gestationnel augmente le risque d'accouchement par césarienne, favorisée par l'obésité maternelle, la macrosomie fœtale.

- **Les traumatismes obstétricaux**

Le risque de dystocie, utilisant de forceps générateurs de déchirures périnatales, atteinte anale et prolapsus.

- **Les infections urinaires et les pyélonéphrites**

Le développement et la prolifération de certains germes responsables des pyélonéphrites qui peuvent provoquées des menaces d'accouchements prématurés (Leyrat, 2012).

- **A long terme**

Après l'accouchement, les femmes avec un diabète gestationnel récupèrent un métabolisme glucidique normale avec un risque de développer un diabète de type 2 (Leyrat, 2012).

5.2.2. Complications fœtales et néonatales

- ✓ **A court terme**

- **La macrosomie**

la principale conséquence fœtale, un enfant ayant un poids de naissance supérieur à 4000g et/ou supérieur à 90^{ème} percentile quelque soit le sexe et le terme (Leyrat, 2012). L'insuline est un facteur majeur de la croissance fœtale et provoque l'hyperplasie et l'hypertrophie des tissus mous qui entraine la macrosomie fœtale (Leyrat, 2012).

Elle se caractérise chez les nouveau-nés par des épaules plus larges, et entraine une dystocie des épaules, blessures du plexus brachial, fractures de la clavicule, et asphyxie (Godin *et al.*, 2012). La macrosomie concerne entre 20 et 30% des grossesses.

Etude bibliographique

- Les malformations

Touchent le système cardiovasculaire, le système uro-génital, le système nerveux central et le squelette.

- Une souffrance fœtale

En cas de diabète non équilibré met en danger le bébé (Leyrat, 2012).

- Les complications métaboliques néonatales

- Hypoglycémie néonatale ; une glycémie < 0.40g/l chez l'enfant à terme et une glycémie < 0.30g/l chez le prématuré.
- Hyper bilirubinémie : un taux de bilirubine > 120mg/l.
- Apolyglobulie : définit par un hémocrite élevé à 70%.
- Hypocalcémie : un taux de calcium inférieur à 80mg/l ou à 70mg/l chez le prématuré.

- la prématurité

Toute naissance survenant avant 37^{ème} semaines d'aménorrhée, Elle contribue pour une part importante à la mortalité périnatale et elle est associée à un risque élevé de séquelles neurologiques (Leyrat, 2012).

➤ A long terme

- Le diabète

Les enfants des mères ayant eu un diabète gestationnel ont un risque huit fois plus d'avoir une intolérance glucidique à long terme par rapport à ceux nés des mères non diabétiques.

- L'obésité et le syndrome métabolique

Un risque de surpoids et d'obésité pour les enfants des femmes atteintes du diabète gestationnel, le risque métabolique des descendants d'être obèses à l'âge adulte était presque multiplié par deux comparé aux descendants de femmes non diabétiques (Leyrat, 2012).

5.3.Méthodes du dépistage et les stratégies du diagnostique

Les stratégies de dépistage et les critères de diagnostiques du diabète gestationnel ont longtemps fait l'objet de controverses car ils différaient d'un pays à l'autre. En 2010, le groupe d'étude de l'association internationale du diabète et de la grossesse (IADPSG) a défini les nouvelles recommandations concernant les modalités de dépistages et les critères de diagnostic du diabète gestationnel (Leyrat, 2012).

Etude bibliographique

Le dépistage du diabète gestationnel est recommandé en présence d'au moins un des critères suivants : âge maternel supérieur ou égal à 35 ans, IMC supérieur ou égal à 25 kg/m², antécédents familiaux au 1er degré de diabète de type 2 (DT2), antécédents personnels de diabète gestationnel ou d'enfant macrosomie.

Le dépistage doit être fait en consultation préconceptionnelle ou lors de la première consultation prénatale par une glycémie à jeun à la recherche d'un DT2 méconnu (Driguez, 2011).

- En premier temps : le dépistage par le test d'O' Sullivan, réalisé par ingestion, à n'importe quel moment de la journée, de 50g de glucose entre 24 et 28 semaines d'aménorrhées (SA). Si celui-ci était positif (>1,40g/l), la patiente devait réaliser un test diagnostic cette fois-ci (Carlesso, 2018).
- En deuxième temps : Le dépistage par hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO). Le dépistage consistait en une hyperglycémie provoquée par voie orale avec 75 g de glucose entre 24 et 32 semaines d'aménorrhée, la réalisation d'une glycémie à jeun et la réalisation d'une glycémie à 1 heure et à 2 heures post-charge. Si la glycémie à jeun étaient supérieures à 1,05 g/l ou dont la glycémie à 2 heures post-charge était supérieure à 2 g/l les patientes sont considérées comme ayant un diabète gestationnel et bénéficiaient d'une prise en charge thérapeutique (Carlesso, 2018) (Figure 1).

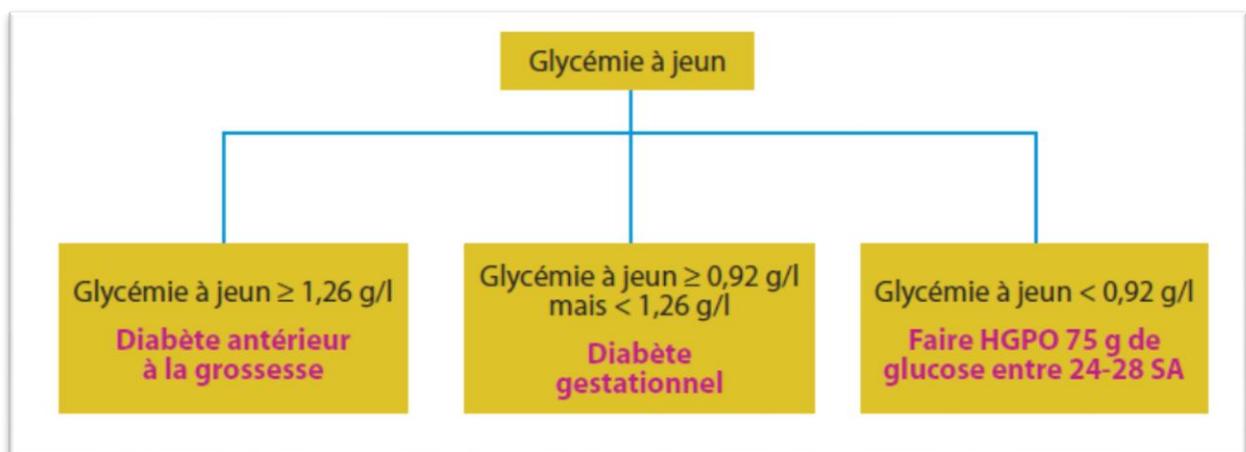


Figure 1 : Modalités de dépistage du diabète gestationnel à proposer dès la première consultation prénatale en cas de facteurs de risque (Vambergue *et al.*, 2011)

Le test de diagnostic s'agit d'une HGPO à 100 gr de glucose. Si la glycémie au cours du test d'O' Sullivan est ≥ 2 g/L (11,1 mmol), le diagnostic du diabète gestationnel ne nécessite pas la réalisation d'une HGPO.

Le diagnostic de diabète gestationnel se fait en présence de deux valeurs anormale \geq à 0,95 g/L à jeun, 1,80 g/L à la première heure, 1,55 g/L à la deuxième heure et 1,40 g/L à la troisième heure, soit 5,3 ; 10,1 ; 8,7 et 7,8 mmol, respectivement (Pintiaux et Foidart, 2005).

6. Prise en charge et suivi de la femme enceinte

Les principes fondamentaux de la prise en charge du diabète gestationnel reposent sur :

- les règles hygiéno-diététiques ;
- auto-surveillance glycémique ;
- insulinothérapie si besoin (Carlesso, 2018).

➤ **Suivi de la femme enceinte**

- Pendant la grossesse

Un examen clinique bi mensuel essentiellement orienté sur la surveillance de la prise de poids, de la tension artérielle, de l'absence d'œdèmes des membres inférieurs. Une bandelette urinaire est également réalisée, et le carnet glycémique est finement étudié avec 6 autocontrôles par jour (avant repas et 2h après le début du repas) afin d'adapter et introduire l'insuline. Les doses seront adaptées si les hygiéno-diététiques ne suffisent pas à obtenir un bon équilibre glycémique (Carlesso, 2018).

Les patientes nécessitent une surveillance obstétricale rapprochée, à la fois clinique et échographique (en fin de grossesse notamment), qui est secondairement adaptée à l'évolution clinique.

- Post partum

Si le diabète était équilibré pendant la grossesse et si la patiente n'a pas présenté autre pathologie ou de facteurs de risque associé, le suivi dans le post partum est le même que pour celui de grossesses classiques. L'insuline peut être arrêtée, les surveillances glycémiques dans le post partum immédiat ainsi qu'à distance seront à poursuivre à la recherche d'un diabète secondaire, non lié à la grossesse (Carlesso, 2018).

Au vu du risque accru de diabète de type 2, la patiente doit être régulièrement et clairement informée sur cette pathologie, tant pendant la grossesse que dans le post partum. Le suivi est primordial, d'autant plus que la découverte de diabète gestationnel peut en fait révéler l'existence d'un diabète de type 2 pré existant à la grossesse et non connu, voire d'un véritable diabète de type 1.

II. Génétique du diabète gestationnel

La physiopathologie du diabète gestationnel et du diabète de type 2 sont similaires. Selon Carlesso le diabète gestationnel pourrait être le reflet d'un stade précoce de DT2 survenant dans le contexte de la grossesse. Dans des cas rares le diabète gestationnel est de type 1. Les mécanismes physiopathologiques à l'origine de l'hyperglycémie chronique associent des défauts de sécrétion de l'insuline et de son action sur des organes cibles déterminés par des interactions entre des facteurs de risque génétiques et environnementaux. Bien que les déterminants génétiques influençant la prédisposition aux formes communes du DT2 sont encore peu connus, de nombreux variants de susceptibilité ont pu être identifiés (Carlesso, 2018).

1. Gènes du diabète type 1 et Type 2 en absence de grossesse

Les premiers gènes décrits ont été découverts à travers les études sur le diabète non insulino-dépendant (DNID) du sujet jeune ou MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young). Il s'agit d'un DNID qui débute avant 25 ans ; c'est un diabète familial, présent sur au moins trois générations, et il a un mode de transmission autosomique dominant.

Les résultats de nombreuses études montrent que chez l'homme le diabète de type 1 est une maladie polygénique avec un locus majeur (appelé IDDM1) situé dans la région HLA de classe II.

De nombreux autres gènes candidats ont été ainsi identifiés. Parmi ces gènes nous citons :

- Les gènes de la famille *HNF* (Hepatocyte Nuclear Factor), chacun des gènes de cette famille est associé à un type précis de MODY.
- les mutations du gène de la glucokinase et MODY-2 : la liaison génétique démontrée entre le phénotype MODY et le locus de la glucokinase (GCK) sur le chromosome 7p a permis de préciser le rôle très important du gène et de sa fonction dans la cellule β du pancréas.
- dans la famille des gènes codant les sous-unités du canal potassique K-ATP, le gène *ABCC8* sur le chromosome 11p15.1 est inclus dans la cassette de liaison à l'ATP, membre de la sous-famille C. Deux cas de mutations d'*ABCC8* héréditaires à dominance autosomique ont été rapportés, ayant entraîné le diabète à l'âge adulte (Anna *et al.*, 2006).

2. Gènes impliquées dans le diabète gestationnel

Le DG est assimilé le plus souvent au DT2. Il existe relativement peu d'études publiées sur la susceptibilité génétique au diabète gestationnel, bien que les données disponibles suggèrent que les complications de la grossesse ont une tendance familiale (Watanabe, 2011).

De plus, le diabète gestationnel récidive chez au moins 30% des femmes ayant des antécédents de diabète gestationnel, ce qui pourrait laisser penser qu'il existe un sous-groupe de femmes génétiquement prédisposées à développer le diabète gestationnel (Kim *et al.*, 2007).

Les anomalies de la sécrétion d'insuline et de l'action de l'insuline sont cruciales dans la pathogenèse du diabète gestationnel (Buchanan et Xiang, 2005).

Au cours des dernières décennies, des locus génétiques dans plusieurs gènes, responsables de la sécrétion d'insuline, de la résistance à l'insuline, du métabolisme des lipides et du glucose et d'autres voies, ont été associés au risque du diabète gestationnel (Robitaille et Grant, 2008).

➤ Gène *CDKALI*

Localisé sur le chromosome 6p22.3. Associé au diabète de type 2 en réduisant la sécrétion d'insuline chez des individus d'origine européenne (Stein thorsdottir *et al.*, 2007).

➤ Gène *IGF2BP2*

Sur le chromosome 3q27.2. Il joue un rôle important dans le métabolisme et la variation de ce gène est associée à la susceptibilité au diabète (NCBI, 2016).

➤ Gène *IRS1*

Sur le chromosome 2q36.3. En raison de son rôle central dans la voie de transduction du signal, l'*IRS1* est agissant au site du défaut d'action de l'insuline observé chez les patients atteints de diabète sucré non dépendant de l'insuline (Stoffel *et al.*, 1993).

➤ Gène *KCNJ11*

Sur le chromosome 11p15.1. Gène code pour un canal ionique potassium à redresseur interne (*Kir6.2*). La protéine *Kir6.2*, avec le récepteur 1 de sulfonylurée de haute affinité (*SUR1*), forme le canal K-ATP. *SUR1* est codé par le gène *ABCC8* situé à côté du gène *KCNJ11*. Ce canal module la production et la sécrétion d'insuline par le métabolisme du glucose (Mc Taggart *et al.*, 2010).

➤ Gène *MTNR1B*

Ce gène localisé sur le chromosome 11q14.3. Il code pour l'une des deux formes à haute affinité d'un récepteur de la mélatonine, l'hormone principale sécrétée par la glande pinéale. Ce produit de gène est une protéine membranaire intégrale qui est un récepteur 7-transmembranaire couplé à la protéine G (Levoye *et al.*, 2006, Genetic Home Reference, 2008).

➤ Gène *TCF7L2*

Sur le chromosome 10q25.2-q25.3. La protéine a été impliquée dans l'homéostasie de la glycémie. Les variantes génétiques de ce gène sont associées à un risque accru de diabète de type 2. Les polymorphismes de *TCF7L2* augmentent la sensibilité au DG dans la population chinoise Han. (Zhang *et al.*, 2013, Zhu *et al.*, 2017).

3. Gène de la MTHFR

3.1. Structure de la MTHFR

La flavoprotéine dimérique 5-10 méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une enzyme NADPH dépendante, enzyme clé du métabolisme des folates (les folates jouent un rôle essentiel dans les régulations épigénétiques de l'expression des gènes) et le principale donneurs de carbone dans la biosynthèse nucléotidique en 5-MTHFR, et le donneur du radical méthyle dans la réaction de la reméthylation de l'homocystéine en méthionine (Berrut *et al.*, 2003).

La MTHFR possède deux domaines, un domaine catalytique représenté par l'extrémité N-terminale de PM 40 KDa, liant la FAD (cofacteur), le NADPH (donneur d'électrons) et la MTHFR, et l'autre de régulation à l'extrémité C-terminale de PM de 37 KDa (Gos et Szpecht-Potocka, 2002).

3.2. Gène *MTHFR*

Le gène *MTHFR* est localisé sur le chromosome 1, il a été cartographié à la région chromosomique 1q36.3. Il comprend 11 exons et s'étend sur une longueur de 2,2 Kb (102 à 432 Pb) (Figure 2).

La zone promotrice contient de nombreux sites de liaison pour les facteurs de transcriptions mais n'a pas de séquence TATA box sur l'exon 1 du gène, il existe un site d'épissage alternatif. La région UTR de ce gène est longue, montrant la complexité dans la régulation de ce gène (Gaughan *et al.*, 2000).

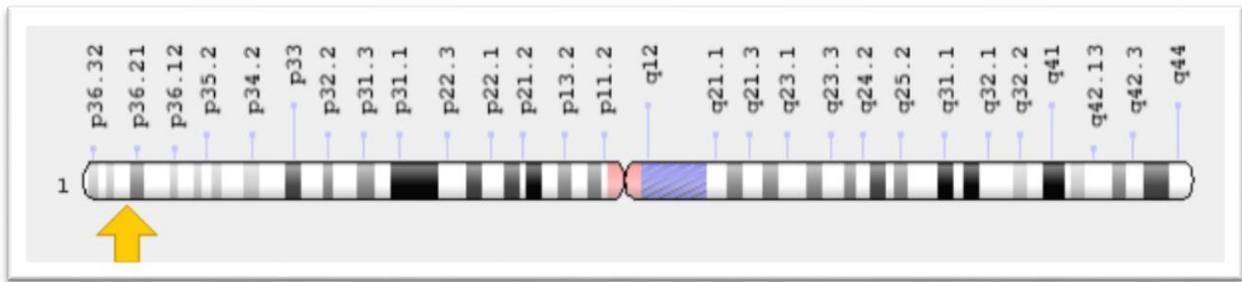


Figure 2 : Localisation du gène *MTHFR* sur le chromosome 1q36.3 (Saffroy *et al.*, 2005).

3.3. Transcriptions du gène *MTHFR*

L'analyse par transfert Northern a révélé des transcriptions de *MTHFR* d'environ 2,8 et de 7,2 à 7,7 Kb dans tous les tissus testés, et un autre d'environ 9,5 kb dans le cerveau, les muscles, le placenta et l'estomac 8, 12,13 Pour le *MTHFR* des transcriptions de 7,4, 6,3, 3,0 et 2,8 kb ont été observées 12 transcriptions de tailles différentes résultent de sites de départ de transcription alternatifs et de multiples signaux de polyadénylation.

Les sites de départ de la transcription proximale dans le *MTHFR* humain ont été identifiés à 10 et 60 Pb en amont de l'ATG codant pour la protéine de 77 KDa¹². Ces courts 5'UTR devraient permettre une traduction efficace de l'enzyme de 77 KDa. Certaines transcriptions provenant d'une région en amont subissent un épissage et ne contiennent pas l'ATG pour l'isoforme long ; ces transcrits devraient traduire la protéine de 70 KDa, avec un 5'UTR d'environ 50 nucléotides (Ueland et Rozen, 2005).

La méthylène-tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) catalyse la réduction irréversible du 5,10-méthylène tétrahydrofolate en 5-méthyltétrahydrofolate. Il affecte la distribution entre les espèces de folates utilisés pour la synthèse d'ADN et d'ARN et la forme de 5-méthyltétrahydrofolate requise pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine. Et la synthèse protéique ultérieure et la méthylation de l'ADN (Ueland et Rozen, 2005).

3.4. Mutations et polymorphisme du gène *MTHFR*

Plusieurs variations (polymorphismes) du gène *MTHFR* ont été détectées et qui sont associées à diverses maladies (vasculaires, cancers, neurologie, diabète, psoriasis, etc.).

Les polymorphismes modifient ou diminuent l'activité de la méthylène-tétrahydrofolate réductase, conduisant à une augmentation de l'homocystéine dans le sang. Cette augmentation de l'homocystéine niveaux peut contribuer au développement de beaucoup de ces conditions.

➤ **Le polymorphisme le plus connu est celui de : 677C → variante T**

Historiquement, les recherches sur les anomalies génétiques du *MTHFR* étaient axées sur la caractérisation d'erreurs innées rares conduisant à une hyperhomocystéinémie et à une homocystinurie graves. Avec l'identification d'un polymorphisme *MTHFR* (c'est-à-dire une mutation commune) entraînant une hyperhomocystéinémie, il est devenu évident que certaines maladies de l'âge adulte, telles que les maladies cardiovasculaires, reflètent des versions plus bénignes des lésions biochimiques fulminantes présentes chez le nouveau-né ou l'enfant présentant un déficit sévère en *MTHFR* (Ueland et Rozen, 2005).

4. *MTHFR* et le diabète gestationnel

Des études *in vitro* ont révélé que l'hyperhomocystéinémie endommage la fonction nerveuse par des effets cytotoxiques directs ou en tant que résultant de lésions oxydatives des cellules endothéliales. Par conséquent, dans le diabète complications macro- et micro vasculaires associées à hypertrophie plasmatique plus élevée pourrait être associée avec des blessures nerveuses.

Méthodologie

I. Population d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive, observationnelle, analytique et transversale de type cas-témoins réalisée respectivement au service de la maternité et au laboratoire de Biologie et génétique moléculaire au CHU de Constantine.

1. Recrutement des patients

Notre étude a inclus 25 femmes hospitalisées au niveau de l'unité GHR (grossesse à haut risque), service du gynéco-obstétrique du CHU Ibn Badis de Constantine. Cette étude s'est déroulée pendant Mars et Mai 2019. Le recrutement des patientes est basé sur le diagnostic positif réalisé par le médecin traitant, ce diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques.

La sélection de ces patientes a été faite en respectant des critères bien définis.

1.1. Critères d'inclusion

Un ensemble de critères d'inclusions a été retenu pour notre cohorte, à savoir :

- Les femmes enceintes ayant présenté un diabète découvert pendant la grossesse (DG) quel que soit l'âge gestationnel au moment du diagnostic, le mode de dépistage, et le test diagnostique utilisé.
- L'âge des femmes varie entre 21 à 40 ans.

1.2. Critères d'exclusion

Nous avons exclu de cette étude :

- Les femmes enceintes qui ont déjà un diabète antérieur à la grossesse.
- Les sujets refusant de faire le prélèvement.

2. Recrutement des témoins

Les témoins sont recrutés à partir d'une population prise au hasard, supposée saine, leurs âges s'échelonne de 30 à 40 ans, leurs ADN constituent un pool stocké au sein du laboratoire.

Nous avons recruté 14 femmes qui n'ont pas des antécédents personnels ou familiaux du diabète gestationnel.

3. Recueil des données

Un questionnaire a été réalisé pour chaque patiente accompagné d'un consentement éclairé (Annexe 2) afin d'enregistrer toutes les informations nécessaires à notre étude, avec la malade lui-même et par la consultation de son dossier médicale.

4. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin a été réalisé pour chaque patiente à partir du sang veineux au pli du coude, sous des conditions stériles. Le sang est recueilli dans des tubes vacutainer contenant l'anticoagulant EDTA (*Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid*) qui est un inhibiteur de l'action des enzymes ADNase ou nucléases, préservant ainsi l'intégrité moléculaire.

Pour chaque femme enceinte, le prélèvement sanguin est réalisé dans deux tubes de 5ml, conservés ensuite dans un réfrigérateur pendant 10 jours au maximum, dont le but d'obtenir une bonne quantité d'ADN.

II. Méthodes expérimentales

1. Extraction de l'ADN

1.1. Principe de l'extraction d'ADN

L'extraction d'ADN consiste en l'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouge, ils sont ensuite traités par un détergent Sodium dodécyle sulfate (SDS), qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, il dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire, ainsi qu'une protéinase K, qui dénature et dégrade les protéines.

L'ADN nucléaire sera libéré des différentes protéines ainsi digérées et éliminées par précipitation au Na Cl. Le surnageant récupéré est traité par de l'éthanol pur, une pelote d'ADN est formée. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse, sa pureté ainsi que sa concentration sont estimés par spectrophotomètre à UV (Annexe 4).

Quantification et contrôle de la pureté de l'ADN

Le contrôle de la pureté de l'ADN est réalisé par le spectrophotomètre, puisque le maximum d'absorbance des acides nucléiques (l'ADN et l'ARN) se situe à 260 nm, par contre celui des protéines se situe à 280 nm. La pureté de l'ADN extrait est déterminée en calculant le rapport $R = DO_{260}/DO_{280}$ nm. Si :

- $1,6 < R < 2$: l'ADN est pur,
- $R < 1,6$: l'ADN est contaminé par les protéines,
- $R > 2$: l'ADN est contaminé par des ARN.

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé, on n'aboutira pas à des résultats fiables dans

les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder à la réextraction de la pelote afin d'obtenir la pureté souhaitée.

Les ADN purs sont conservés à + 4°C jusqu'à leur utilisation.

La quantification de l'ADN est effectuée à 260 nm, sachant qu'une unité d'absorbance correspond à 50µg/ml. La concentration de l'ADN extrait est déterminée par la formule suivante :

$$[\text{ADN}] \mu\text{g/ml} = \text{DO } 260 \times 50 \times \text{facteur de dilution}$$

1.2. Génotypage de polymorphisme C677T du gène de la MTHFR

Le génotypage du variant allélique 677 C>T du gène de la MTHFR a été réalisé par une PCR/RFLP (*Polymerase Chain Reaction / Restriction Fragment Length Polymorphism*) en utilisant l'enzyme de restriction *Hinf I* (*Haemophilus influenzae I*). Plusieurs étapes successives sont nécessaires afin d'obtenir le profil de la digestion :

- PCR et contrôle de PCR sur gel d'agarose ;
- digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction *Hinf I* ;
- séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel d'agarose ;
- visualisation des produits de digestion par transillumination sous UV.

1.2.1. Amplification par la PCR

La PCR est une méthode de la biologie moléculaire. Son principe repose sur la synthèse de multiples copies d'une séquence d'ADN spécifique.

- Préparation du milieu réactionnel de la PCR

Pour préparer le milieu réactionnel, multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu + un, c'est le tube témoin négatif dans lequel on met uniquement le mélange sans ADN. Pour cette étape, les réactifs utilisés dans la PCR doivent d'abord être dilués selon la formule suivante :

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Où :

C1 : concentration initiale de chaque réactif.

V1 : volume initial nécessaire à la dilution (inconnu).

C2 : concentration finale

V2 : volume final. Une fois que le volume initial (V1) est connu.

Le volume de l'eau distillée nécessaire pour la dilution de chaque réactif est calculé comme suit :

$$V \text{ eau distillée} = V2 - V1$$

Méthodologie

La composition du mélange réactionnel est mentionnée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Composants du mélange réactionnel de PCR.

Réactifs	Volume nécessaire pour un échantillon (μ l)
Tampon PCR 10X	2.5
MgCl ₂ (1.5 mM)	1.5
dNTP 0.2Mm	2.5
Amorce R ; Amorce anti-sens(100 ng/ μ l)	0.1
Amorce F ; Amorce sens(100 ng/ μ l)	0.1
Taq polymérase 5U/ μ l	0.2
Eau distillée	17.6

Les oligonucléotides du gène de la MTHFR utilisées sont :

- F (forward primer): 5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3'.

- R (reverse primer) : 5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3'.

Après avoir préparé le mix, 24,5 μ l de ce mélange ont été additionnés à 1 μ l d'ADN dans un tube à PCR pour chaque échantillon.

- Déroulement des cycles de la PCR

Nous avons programmé le thermocycleur pour 30 cycles. Les conditions pour le déroulement de l'amplification par PCR sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Programme d'amplification PCR du gène de la MTHFR.

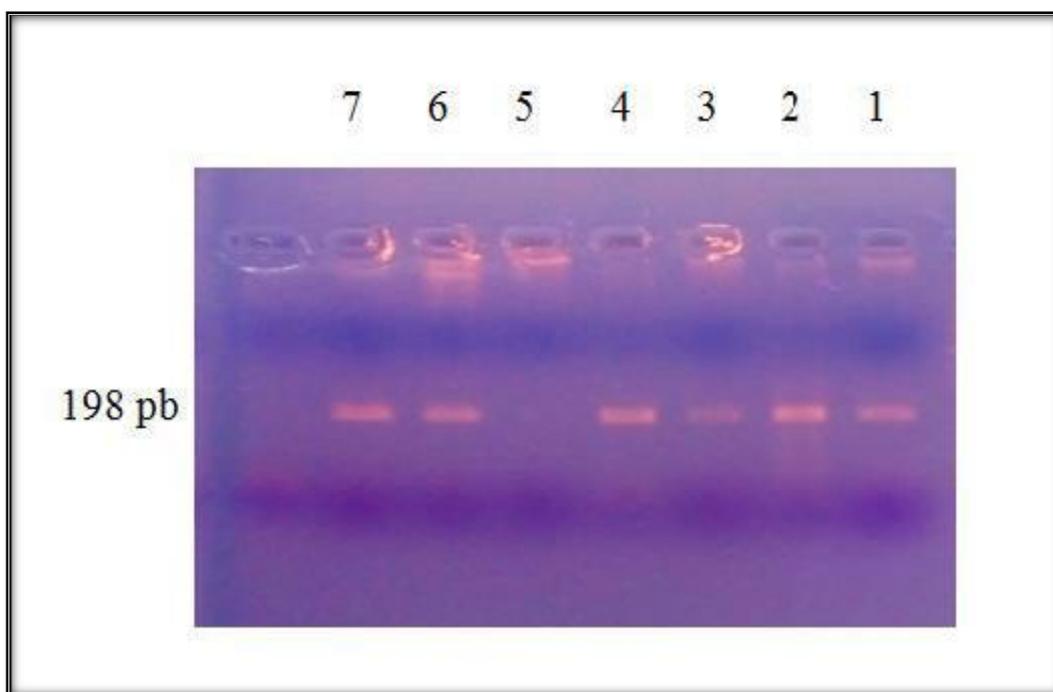
Etape	Température	Durée
Dénaturation initial	95	5min
Dénaturation	94	30sec
Hybridation	65	30sec
Elongation	72	40sec
Elongation finale	72	10min

1.2.1. Electrophorèse des produits de digestion

Une électrophorèse est nécessaire pour le contrôle de la taille des fragments amplifiés par PCR et la détection d'une éventuelle contamination de l'ADN (grâce au témoin négatif). La migration d'une molécule d'ADN dépend de sa taille et de la concentration du gel d'agarose, mais le voltage et la force ionique du tampon interviennent également.

Dans notre étude, nous avons assuré ce contrôle dans une cuve horizontale sur un gel d'agarose à 2% (TBE à 1X) dans lequel ont été incorporé 10 μ l de BET (un agent intercalant se fixant entre les bases nucléiques, rendant l'ADN fluorescent sous UV pour visualiser les bandes résultantes).

Dans chaque puits du gel et du côté cathode (-), nous avons déposé un mélange de 10 μ l du produit d'amplification et 3 μ l du marqueur de mobilité BBP qui permet de suivre le front de migration, en réservant 2 puits, un pour le dépôt du marqueur de taille (100pb) et le deuxième pour le dépôt du blanc (témoin négatif). Ensuite, le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 45 min. Après migration, la visualisation des produits amplifiés est réalisée sous UV (photographie 1).



Photographie 1 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 3% des fragments après digestion par l'enzyme HinfI.

1.2. Digestion des produits de PCR par l'endonucléase de restriction Hinf I

L'ADN est soumis à une digestion enzymatique clivant la molécule à des endroits précis appelés sites de restriction. Dans notre étude, 10µl du produit PCR sont mélangés à 0,7µl d'enzyme de restriction, "Hinf I". L'ensemble est ensuite incubé toute une nuit à 37°C. La mutation C677T du *MTHFR* crée un site de reconnaissance pour l'enzyme de restriction Hinf. L'action de clivage de cette enzyme est détectée par une variation du nombre et de la longueur des fragments de restriction obtenus après une digestion enzymatique (figure 3).

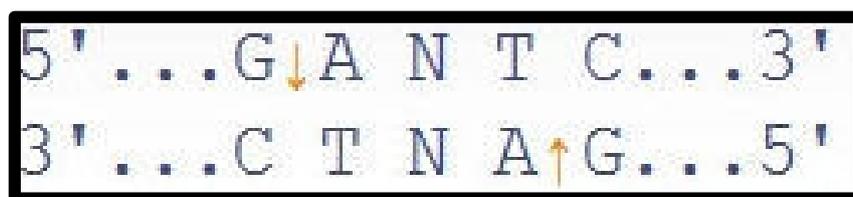


Figure 3: Site de restriction de l'enzyme Hinf I.

1.3. Électrophorèse des produits de digestion

Les fragments d'ADN digérés par l'enzyme de restriction sont séparés par électrophorèse, la petite taille de ces fragments, a nécessité la préparation d'un gel d'agarose plus résolutif à 3% (3g d'agarose dans 100ml de TBE à 1X). Dans chaque puits, +/- 10µl du produit digéré et 3µl de BBP sont déposés. La migration s'effectue sous un courant de 100volts pendant 45 min. Les fragments résultants sont ensuite visualisés sous UV. Le gel est ensuite photographié.

2. Analyse statistique génétique

Dans ce travail, nous avons effectué une étude statistique de polymorphisme du C677T. L'étude statistique est basée sur l'OR et la p-value dans le but de déterminer s'il existe une association significative entre les polymorphismes étudiés et le *MTHFR*. Les calculs ont été faits en utilisant le logiciel EPI-info 5.01b. Pour le calcul de l'OR nous avons établi un tableau de contingence. Il est présenté sous forme de tableau croisé 2x2. Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne. L'IC est de 95 % (ou 0,95).

2.1. Moyenne et écart type

Les variables quantitatives sont décrites par la moyenne \pm l'écart type, suivant les formules ci-dessous :

$$X = \frac{\sum ni xi}{N - 1}$$

Sachant que :

X : moyenne

xi : variable

ni : effectif

N : effectif total

$$V = \frac{\sum (x_i - X)^2}{N - 1} ; \sigma = \sqrt{V}$$

Sachant que :

V : variance

Ó : écart type

3.2. Odds ratio (OR)

OR est utilisé dans les enquêtes de cohorte et dans les enquêtes de type cas/témoins marquées par impossibilité de mesurer les risques de la maladie chez les sujets Patients et méthodes 34 exposés et non-exposés. Pour calculer l'OR nous avons établi le tableau 3 de contingence suivante :

Tableau 3 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio

	Patients	Témoin	Total
Expose	a	B	a+b
Non expose	c	D	c+d
Total	a+c	b+d	a+b+c+d

L'OR est calculé comme suit : $OR = a*b / c*d$

Si : $OR = 1$: pas d'association entre l'exposition et la maladie.

$OR < 1$: association négative.

$OR > 1$: association positive.

Pour la valeur p, le seuil critique à priori est de 0,05 (vu que l'IC pour l'OR est de 95 %).

Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative.

2.3. P-value

L'OR est suivi par le calcul de la *p-value*. Cette dernière, nécessite la détermination d'un intervalle de confiance (IC) indiquant le degré de certitude des résultats d'une recherche ; cet intervalle fournit fourchette de valeurs, situées de part et d'autre de l'estimation, où l'on peut

Méthodologie

être sûr à 95% de trouver la valeur réelle. Le choix de la p-value, ou la probabilité d'être dans l'erreur est donc de 0.05 (risque α). Si la valeur de p-value calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats.

Résultats

et

Discussion

I. Caractéristiques épidémiologiques des patientes

1. Fréquence du Diabète gestationnel

Dans notre étude la prévalence du diabète gestationnel est de 5.39%. Cette fréquence est proche de celle trouvés dans une étude en France métropolitaine, où la prévalence du diabète gestationnel a tendance à augmenter. Elle était de 8% en 2012 contre 3,8% en 2004 (Regnault *et al.*, 2016).

De même dans la population de la Colombie-Britannique la fréquence le diabète gestationnel touche 9.5% en 2010 (Michelle, 2016), par contre en Inde 16.55% des femmes enceintes étaient atteints de diabète gestationnel en 2004 (Seshiah, 2004).

2. Age

La moyenne d'âge des femmes participantes dans cette étude est de 33,6ans. Avec des extrêmes de 21 ans et 42 ans.

La répartition par tranche d'âge révèle que la tranche d'âge la plus représentée est celle de 36 à 40 ans (Figure 4).

D'après une étude réalisée par Jolly *et al.* en 2000, les résultats ont montré que les femmes enceintes âgées de ≥ 35 ans ont un risque accru de complications pendant la grossesse par rapport aux femmes plus jeunes.

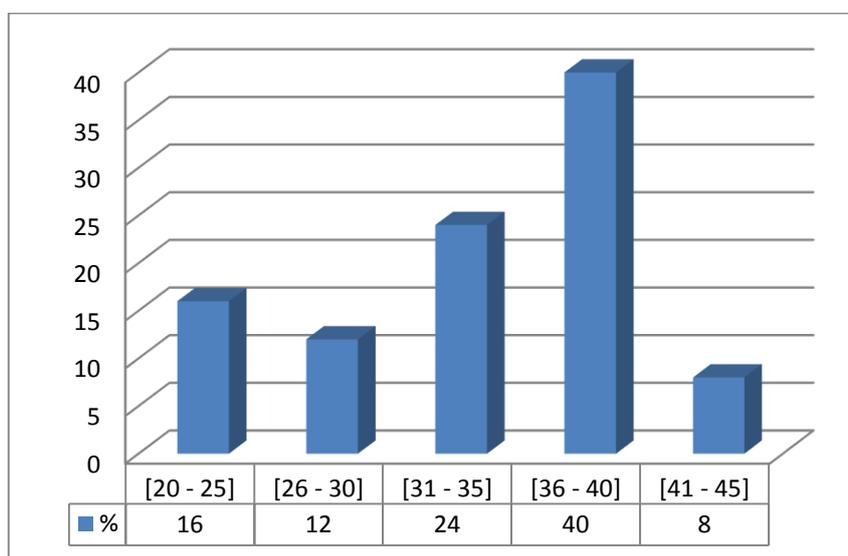


Figure 4 : Répartition des patientes selon les tranches d'âge

Des résultats retenus à travers des études faites sur une population française et une population canadienne révèle que l'âge de 35ans ou plus est un facteur de risque pour le diabète gestationnel (Feig *et al.*, 2013).

Résultats et discussion

Ainsi, une étude britannique note que les femmes atteintes de diabète gestationnel sont significativement plus âgées (32,3ans versus 28,3ans, $p < 0,001$) (National Collaborating Centre for Women's and Children's Health, 2015).

3. Indice de masse corporelle (IMC)

La répartition de notre population d'étude révèle que 36% des femmes se situe dans la catégorie du surpoids ($30\text{kg/m}^2 > \text{IMC} < 35\text{kg/m}^2$). De plus, des taux similaires pour la catégorie ($35\text{kg/m}^2 > \text{IMC} < 40\text{kg/m}^2$). Nous avons noté aussi qu'il ya une prévalence légèrement plus élevée pour la catégorie ($25\text{kg/m}^2 > \text{IMC} < 30\text{kg/m}^2$) (16%) (Figure 5).

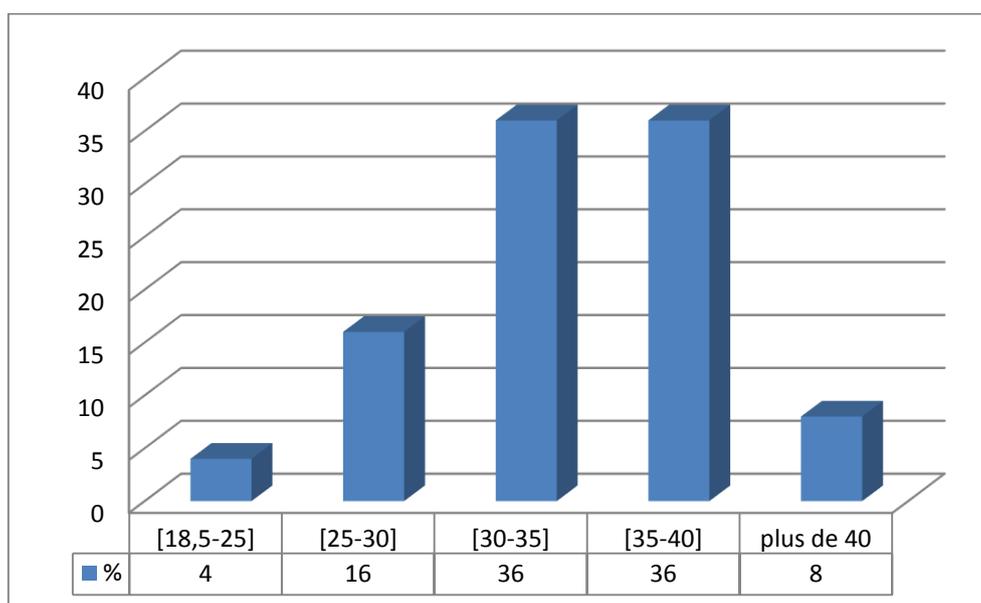


Figure 5 : Classification des patientes selon l'indice de masse corporelle

Il existe en effet une association très forte entre le surpoids à l'âge adulte et le risque de diabète gestationnel dans la Nurses Health Study, un IMC > 25 à l'âge adulte multipliait par 2,36 le risque de développer un diabète gestationnel (Hieronimus, 2010).

Torloni et al. estiment que pour chaque augmentation de 1kg/m^2 de l'IMC, la prévalence du diabète gestationnel augmentait de 0,92%, le risque relatif de diabète gestationnel pour le surpoids ($\text{IMC} > 25\text{kg/m}^2$), l'obésité modérée ($\text{IMC} > 30\text{kg/m}^2$) et l'obésité morbide ($\text{IMC} > 40\text{kg/m}^2$) (Hieronimus, 2010).

4. Origine géographique

Les patientes qui ont été inclus dans cette étude proviennent de 7 wilayas (Tableau 4).

Tableau 4: Répartition des patientes selon les villes d'Algérie

Ville	%
Constantine	44
Mila	36
Skikda	4
Oum el bouaghi	4
Guelma	4
Alger	4
Bejaïa	4

Il faut noter que la majorité des femmes proviennent de la ville de Constantine avec une fréquence de 44%.

Nous pouvons expliquer ces résultats par le fait que le recrutement a été réalisé au niveau de l'unité GHR (grossesse à haut risque), service du gynéco-obstétrique du CHU Ibn Badis de Constantine.

Selon notre enquête, nous avons trouvé que 56% de nos patientes sont d'origine rurale (Figure 6).

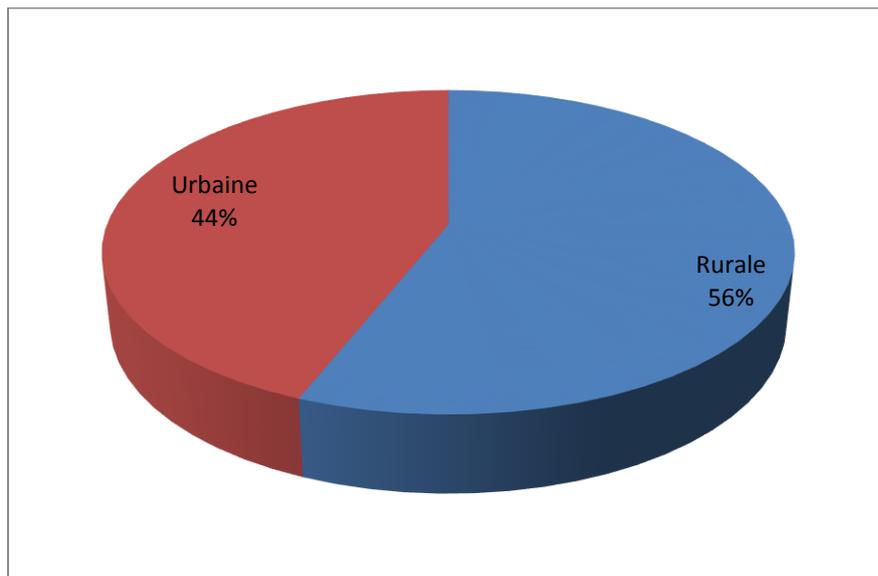


Figure 6 : Répartition des patientes selon l'origine urbaine ou rurale

5. Statut Tabagique

Dans notre société le tabac est une habitude toxique plutôt masculine, il n'est pas moralement justifié dans notre société où les femmes fument sont jugé par une mauvaise réputation, cela peut expliquer l'absence de toute femme fumeuse dans notre questionnaire. En effet même s'il avait des femmes fumeuses parmi celle-ci elles nient.

Une étude randomisée sur des femmes multipares réalisée dans cinq centres médicaux américains de 1992 à 1995, sur 4 589 femmes inscrites, le statut de diabète sucré gestationnel était connu pour 3 602 femmes. Les résultats montrent que les femmes qui fument, présentent un risque accru de diabète sucré gestationnel, ce qui confirme une association entre le tabagisme et le diabète sucré gestationnel (England, 2004).

6. Groupe sanguin ABO

Dans notre cohorte, nous avons noté que la proportion du groupe A est dominante (44%) suivi du groupe O (24%) et du groupe B (20 %) puis du groupe AB (12%) (Figure 7).

En ce qui concerne le système Rhésus, toute la population est de RH+.

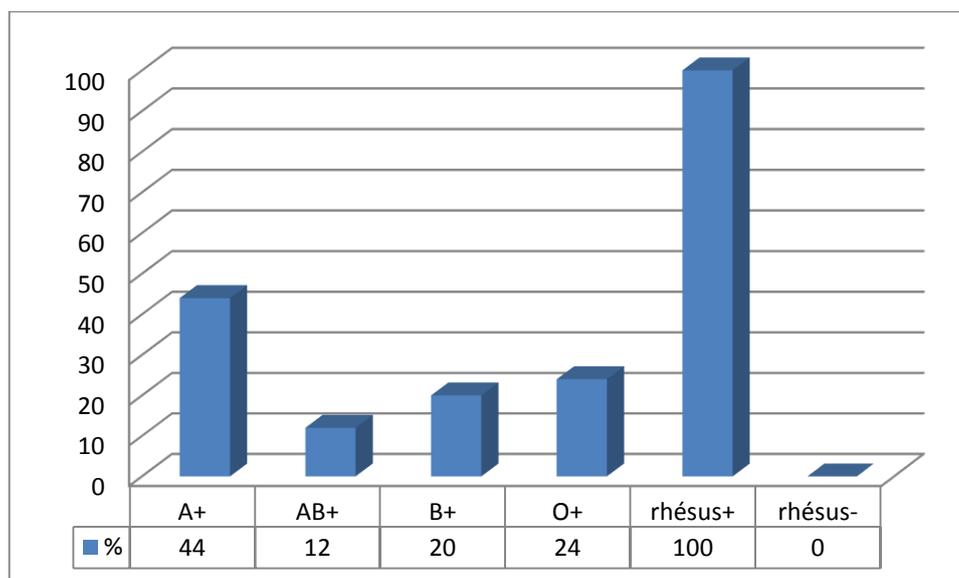


Figure 7 : Répartition des patientes selon leur phénotype sanguin

Des travaux qui concordent avec nos résultats, ont signalé que les femmes des groupes sanguins A, B ou O étaient fortement associées au diabète gestationnel par rapport au groupe sanguin AB (Zhang *et al.*, 2015).

D'autre ont étudié l'association de divers groupes sanguins à l'incidence du diabète sucré. Ils ont trouvé une différence substantielle entre la distribution des groupes sanguins "ABO" et le diabète gestationnel. Ils ont noté un risque plus élevé de diabète gestationnel chez les

Résultats et discussion

patientes des groupes sanguins "AB" et "O". De plus, le facteur RH + était également considéré comme un facteur de risque (Karagoz *et al.*, 2015).

Ces résultats ne sont pas bien compatibles avec ceux de notre étude ce qui pourrait être dû au nombre réduit de notre étude.

7. Antécédents personnels

- Antécédents médicaux

Sur les 28 patientes, 59 % présente le diabète gestationnel comme antécédent personnel médicale.

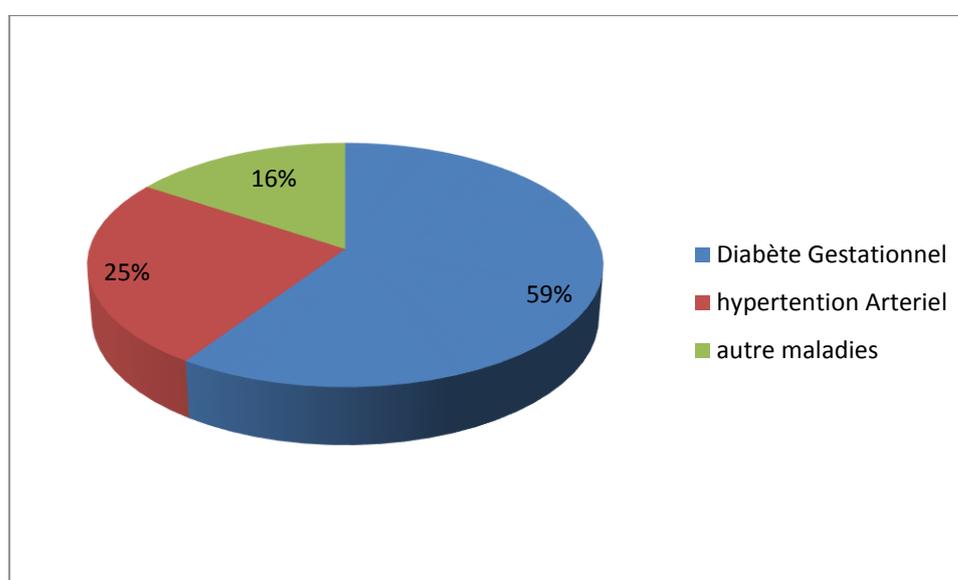


Figure 8 : Répartition des femmes selon les antécédents médicaux

Les femmes qui souffrent pendant une grossesse d'un diabète gestationnel pourraient déclencher une hypertension ou même une cardiopathie (Olivier ; 2015).

D'après une recherche faite entre 2007 et 2008, sur 62 958 femmes présentent un DG en France, les maladies hypertensives étaient significativement augmentés en cas d'antécédent de DG (Goueslard *et al.*, 2016), ce qui est compatible avec ce qu'ils disent docteur Caroline Spaight et al en 2013 ou ils trouvent que lorsque le diabète gestationnel n'est pas bien contrôlé durant la grossesse, l'une des complications qui pourrait survenir est l'hypertension artérielle.

Les médicaments pris par nos patientes de façon régulière est un paramètre qui peut être une favorable causante le diabète gestationnel.

Résultats et discussion

De nombreux contraceptifs hormonaux ont été associés à des modifications du métabolisme des glucides. Les altérations peuvent inclure une baisse de la tolérance au glucose et une hausse de la résistance à l'insuline, qui sont des facteurs de risque pour le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires (Lopez *et al.*, 2014).

On a assisté au cours des dernières années à la publication de plusieurs grandes revues étudiant le risque de diabète sucré sous antipsychotiques, ces derniers ainsi que les neuroleptiques conventionnels, sont associés à un risque accru de gain de poids et de diabète sucré (Schee, 2004)

Des expériences augmentant la concentration de cortisol dans l'organisme ont montré que sous l'influence du cortisol, l'organisme développait une insulino-résistance en atténuant sa sensibilité à l'insuline (Guillaume, 2017). Cette insulino-résistance pourrait expliquer le déclenchement d'un diabète gestationnel chez une femme qui a pris des médicaments à base de cortisol avant ou même pendant la grossesse.

Bien que le diabète est considéré comme une cause pour certain cancer comme celui du pancréas d'après le comité consultatif canadien de la statistique du cancer. Il y a des études qui affirment que les anticancéreux provoquent de leur côté le diabète en générale (Yun et K. Andersen, 2012).

- Antécédents obstétricaux

Sur le totale de 50 patientes, 2 ont déjà fait des avortements (4%) et 14 ont fait césarienne (65%) (Figure 9).

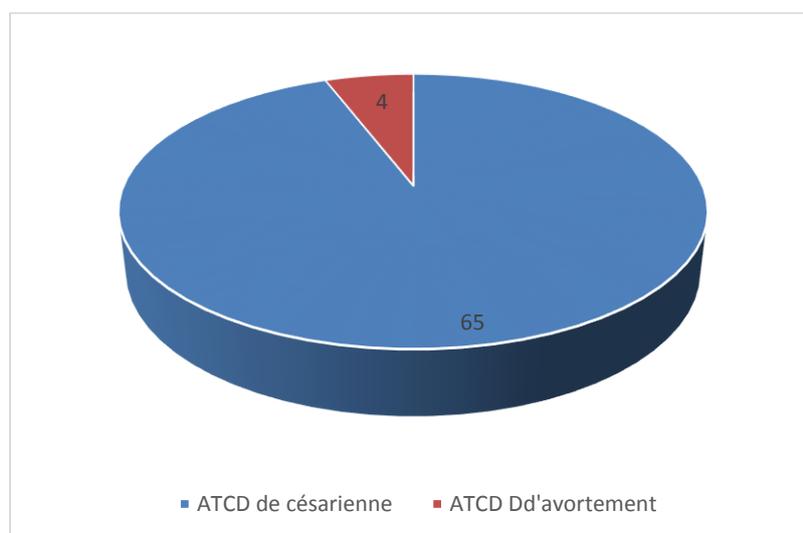


Figure 9 : Répartition des patientes selon les antécédents obstétricaux

Résultats et discussion

Il n'existe que peu d'études ayant évalué le taux de survenue de diabète gestationnel après césarienne. En comparant nos données avec celles de la littérature, les femmes diabétiques avec un bon contrôle métabolique ne sont pas plus susceptibles de perdre une grossesse que les femmes non diabétiques, mais les femmes diabétiques présentant des taux élevés de glucose sanguin et d'hémoglobine glycosylée au premier trimestre ont un risque significativement accru d'avortement spontané (Engl Med, 1988).

- Antécédents familiaux

Dans notre travail les patientes qui ont des antécédents familiaux de diabète gestationnel présentent une fréquence basse (16%), les patientes qui ont des antécédents familiaux de diabète familial présentent la fréquence la plus élevée (80%) (Figure 10) ce qui est en concordance avec l'étude de Mimouni (2011).

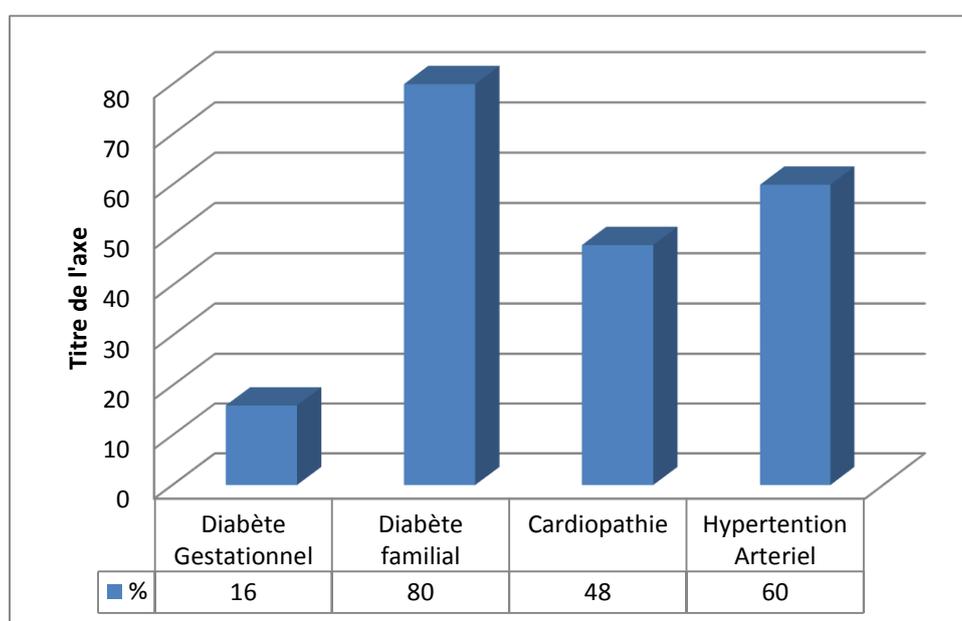


Figure 10 : Répartition des patientes selon leurs antécédents familiaux

Le diabète sucré gestationnel (GDM) est associé au développement du diabète de type 2, mais très peu d'études ont examiné son effet sur le développement d'une maladie cardiovasculaire (Daly, 2018).

II. Données cliniques

1. Age gestationnel

A partir de notre enquête, la plus part des patientes sont au 3^{ème} semestre avec une fréquence de 52%, puis celles en 2^{ème} trimestres avec une fréquence de 28%, et une absence totale des femmes en 1^{er} trimestre (Figure 11). Ceci peut expliquer par un examen non précoce ou autre.

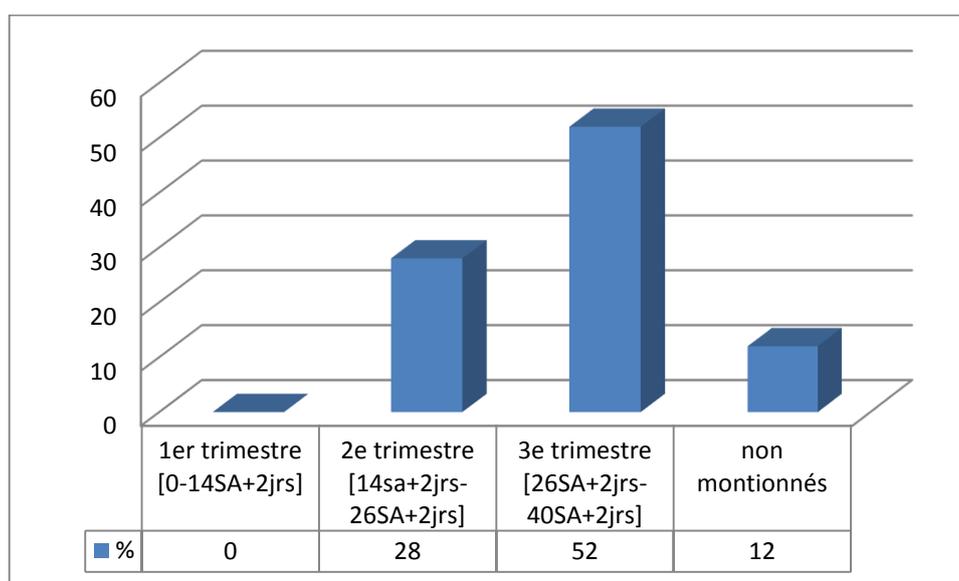


Figure 11 : Répartition des patientes selon l'âge gestationnel

Cela est bien en concordance avec ce qui est prouvé par Feig et al. en 2018 que le diabète gestationnel reste méconnu au début et que cette forme de diabète se développe pendant la grossesse, généralement durant le 2^e trimestre (Feig *et al.*, 2018).

2. Mode d'accouchement

Pour l'ensemble de nos patientes, nous avons relevé l'existence d'antécédents de césarienne chez 14 parturientes, soit une fréquence de 56% (Tableau 7).

Tableau 5 : Répartition des patientes selon antécédent de césarienne.

ATCD de césarienne	Effectifs (n)	Pourcentages (%)
Des femmes avec ATCD de césarienne	14	56%
Des femmes sans ATCD de césarienne	11	44%

Résultats et discussion

Il n'existe que peu d'études ayant évalué le taux de survenue de diabète gestationnel après césarienne. Une grossesse avec un diabète gestationnel augmente le risque de césarienne (Billionnet, 2017).

La césarienne est associée à des lésions de la paroi vasculaire plus importantes qu'un accouchement par voie basse, d'autant plus si celle-ci est réalisée en urgence (Olié *et al.*, 2016).

3. Données biologiques

- Glycémie à jeun

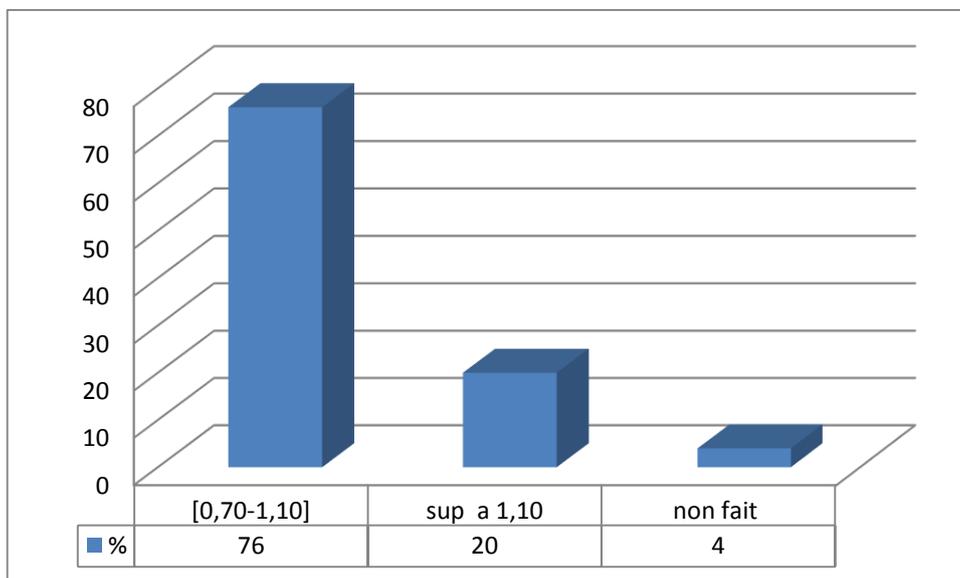


Figure 12 : Répartition des patientes selon leur taux de glycémie à jeun

- Glycémie postprandiale

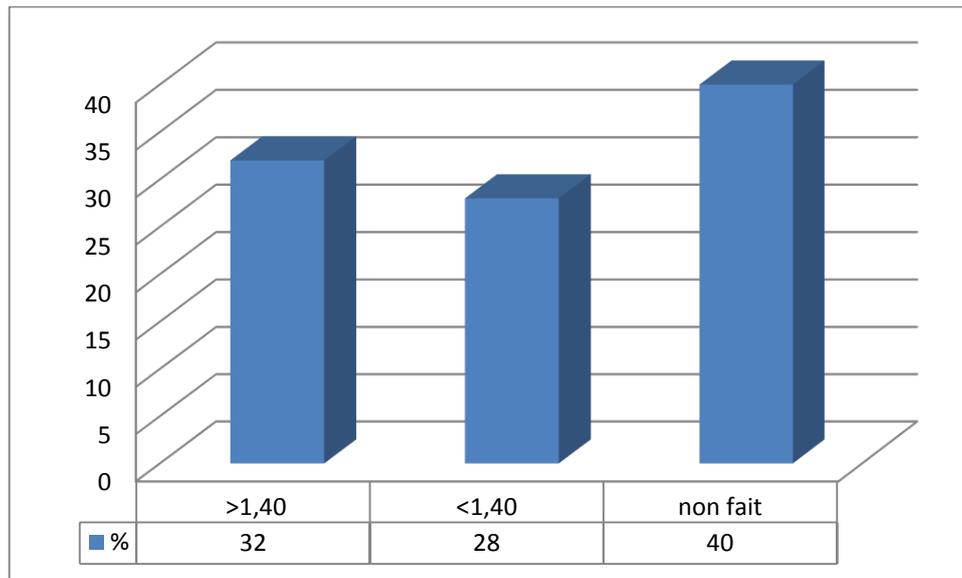


Figure 13 : Répartition des patientes selon leur taux de glycémie postprandiale

Résultats et discussion

- Bilan rénal

Dans notre étude toutes les patientes présentent un taux sérique d'urée équilibré. Ceci pourrait être expliqué par ce qui est prouvé par Rolande et al 2011 que le taux de l'urée sanguine dépend de nombreux facteurs tels que les apports protéiques et l'hydratation. Cependant, selon Dussol et ses collaborateurs, le dosage de l'urée sanguine est moins précis pour évaluer la fonction rénale que celui de la créatinine et doit donc être abandonné (Dussol *et al.*, 2011).

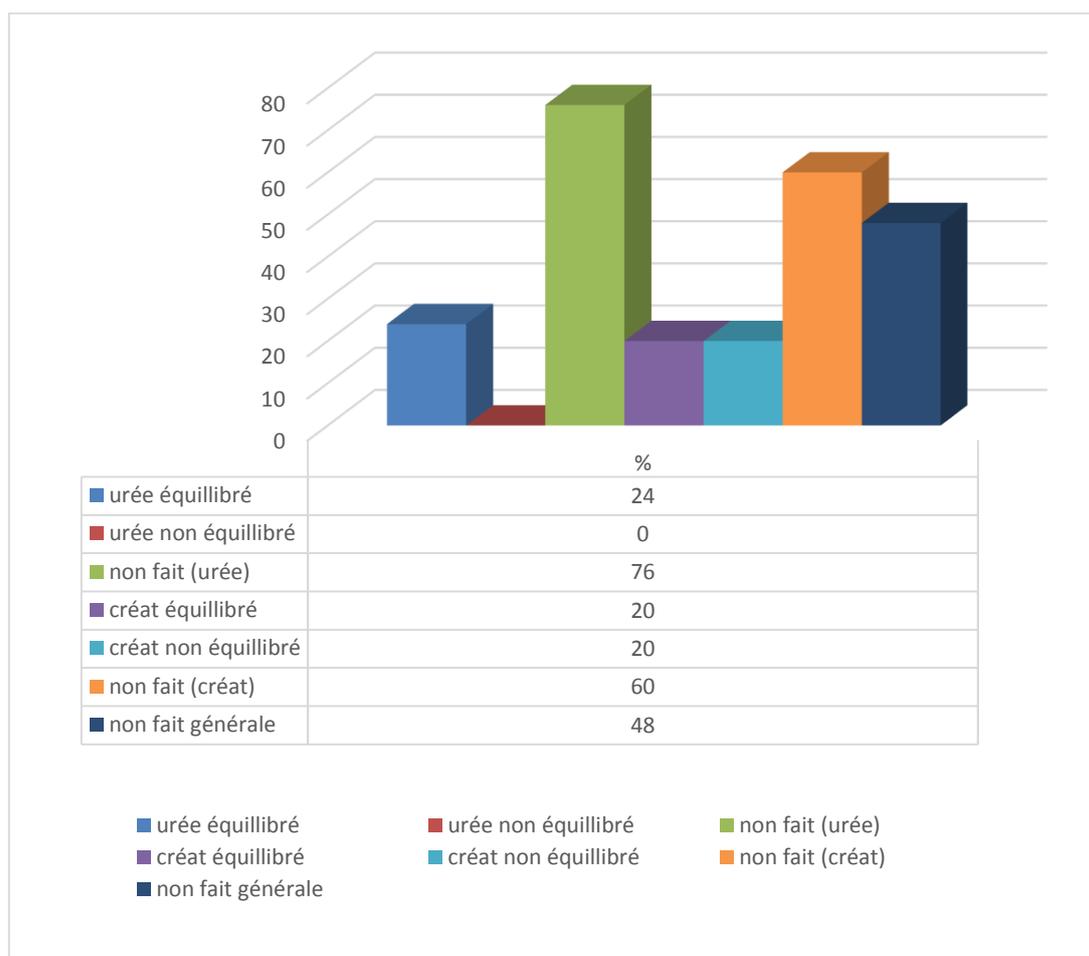


Figure 14 : Répartition des patientes selon leurs résultats de bilan rénal

D'après une étude établie sur 20 femmes enceintes ; 10 ne présentent aucune pathologie, et 10 femmes atteintes de diabète gestationnel recruté au niveau de service de gynécologie obstétrique de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé Mère-Enfant du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Badi, 2017). Trouvé que la teneur plasmatique en créatine et d'urée chez les femmes enceintes atteintes d'un diabète gestationnel présente une augmentation très significative comparée aux femmes enceintes témoins.

III. Résultats de l'analyse moléculaire du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR

L'étude génétique de la mutation C677T du gène de la MTHFR a concerné 25 femmes enceintes malades et 14 témoins.

Les génotypes du polymorphisme C677T du gène MTHFR sont déterminés selon les bandes obtenues (Figure 15).

- L'homozygote sauvage « CC » est caractérisé par la présence d'une seule bande de 198pb.
- L'hétérozygote « CT » est précisé par la présence de deux bandes de 198pb et 175pb.
- L'homozygote muté « TT » est définie par la présence de deux bandes de 175pb et une petite de 23pb.

La bande de 23pb pour le génotype homozygote muté n'est pas visible sur le gel d'agarose à cause de sa petite taille et ainsi on ne visionne qu'une seule bande de 175pb.

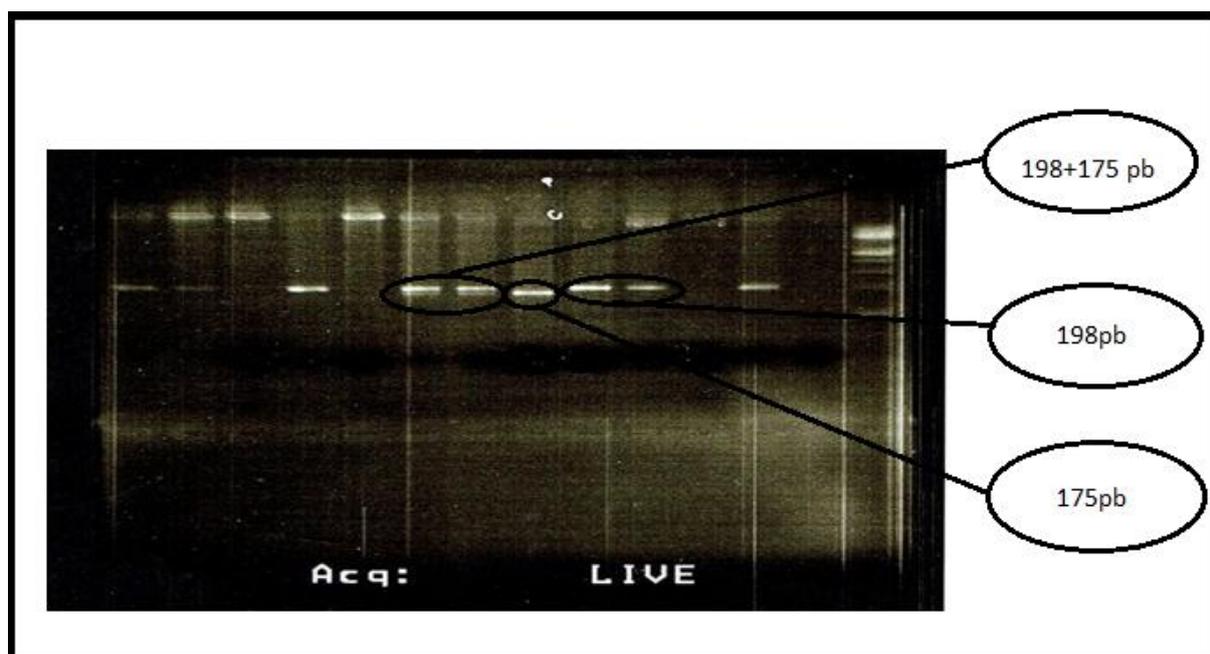


Figure 15 : Photographie du profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 3% des fragments après digestion par l'enzyme HinfI (les trois génotypes sont présent par 9 patientes)

Après une digestion par l'enzyme HinfI et une migration par l'électrophorèse, nous avons observé des bandes de différentes taille montrant la présence de trois génotype différents : le génotype homozygote sauvage, génotype homozygote muté et le génotype hétérozygote.

Résultats et discussion

1. Fréquences génotypiques et alléliques

A partir des résultats ainsi obtenus, les fréquences génotypiques ont été calculées (Tableaux 6 et 7).

Tableau 6 : Répartition des fréquences génotypiques du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR.

	Patientes		Témoins		OR	P-value
	N	%	N	%		
677CC	9	75	14	53,84	/	/
677CT	2	16,66	10	38,46	3,21 (0,47-27,2)	0,17
677TT	1	7,14	2	7,69	1,29 (0,07-42,06)	0,84

La distribution des fréquences génotypique du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR dans notre échantillon montre que le génotype homozygote sauvage (CC) est le prédominant dans les deux populations malades et sauvages avec des fréquences génotypiques 75% et 53,84% respectivement. Cependant le génotype hétérozygote (CT) est moins fréquent dans la population malade avec une fréquence de 16,66% et plus élevé dans la population témoin 38,46. Alors que le génotype homozygote sauvage (TT) est rare chez les deux populations avec des fréquences génotypiques convergentes 7,14% de la population malade et 7,69% de la population témoin (Figure 16).

Le calcul de l'OR et de la p-valu suggèrent que le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR n'est pas impliqué dans la survenue de la maladie de diabète gestationnel.

Résultats et discussion

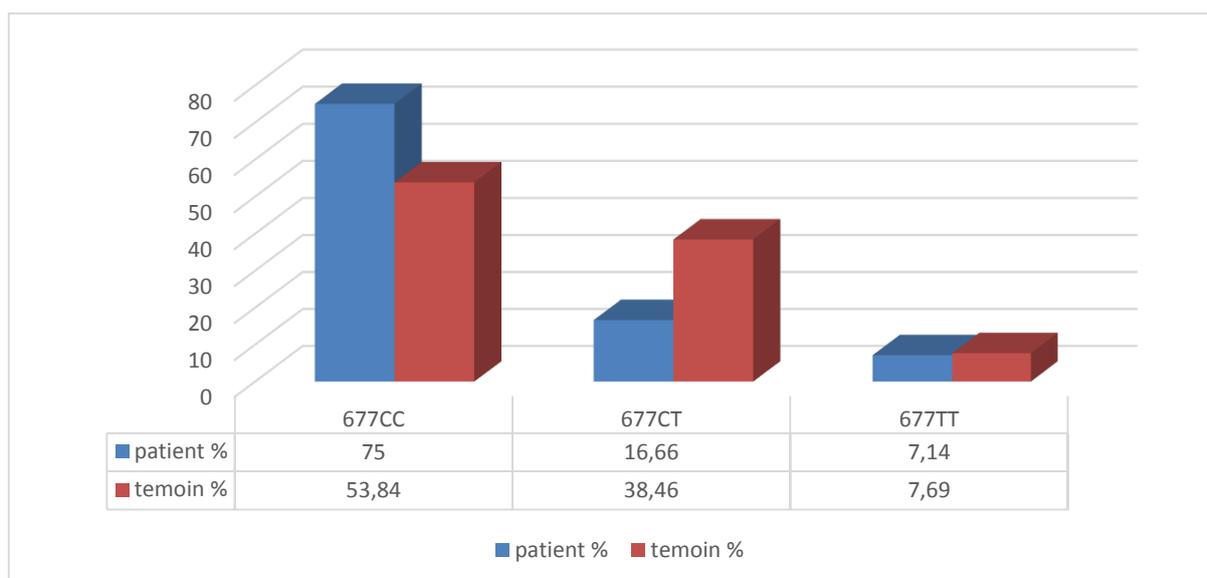


Figure 16 : Fréquence génotypique de C677T du gène de la MTHFR des patientes et des témoins

La répartition des fréquences allélique du C677T du *MTHFR*, indique que l'allèle C est retrouvé dans la majorité des patientes avec une fréquence allélique de 83,33 ; aussi que chez les témoins avec une fréquence de 73,07, l'allèle T est moins fréquent chez les patientes et les témoins avec des fréquences 16,66 et 26,92 respectivement.

Le calcul de l'OR et de la *p-value* montre qu'il n'y a pas de corrélation entre le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR et la maladie de diabète gestationnel.

Tableau 7 : Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR

		Patientes		Témoins		OR	<i>p-value</i>
		N°	%	N°	%		
Fréquences alléliques	C	20	83,33	38	73,07	0,54 (0,13-2,11)	0,32
	T	4	16,66	14	26,92		

Les résultats obtenus par notre étude sont similaires à ceux trouvés dans la majorité des pays du monde.

Résultats et discussion

En Tunisie, la fréquence de l'allèle T estimée dans l'échantillon de 100 femmes 52 était égale à 17,8%, 5,4% étaient homozygote TT, 24,9% étaient hétérozygotes CT et les 69,7% restants étaient homozygotes sauvages CC (Jerbi *et al.*, 2005).

Au Maroc, une étude réalisée entre 2007 et 2008 sur une population de 182 sujets sains. Les résultats de la fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR sont suivants : 6% des personnes sont homozygotes TT, 40,7% hétérozygotes CT et 53,3% homozygotes sauvages CC (Paluku Thierry *et al.*, 2009).

La distribution mondiale du polymorphisme C677T est très hétérogène et correspond géographiquement à une répartition croissante Nord-Sud, notamment en Europe et en Amérique du Nord.

En Europe, la fréquence du génotype TT est faible au nord, elle est de 4 à 7% en Finlande et en Russie, intermédiaire au centre de 8 à 10% en France et 12 à 15% en Espagne et au nord de l'Italie, et élevée au sud de 20 à 26% en Sicile.

Un gradient similaire a été trouvé en Amérique du Nord, où la fréquence du génotype TT est faible au Canada (Alberta 6%), intermédiaire à Atlanta (11%) et atteint son pic au Mexique (32%) (Jerbi *et al.*, 2005).

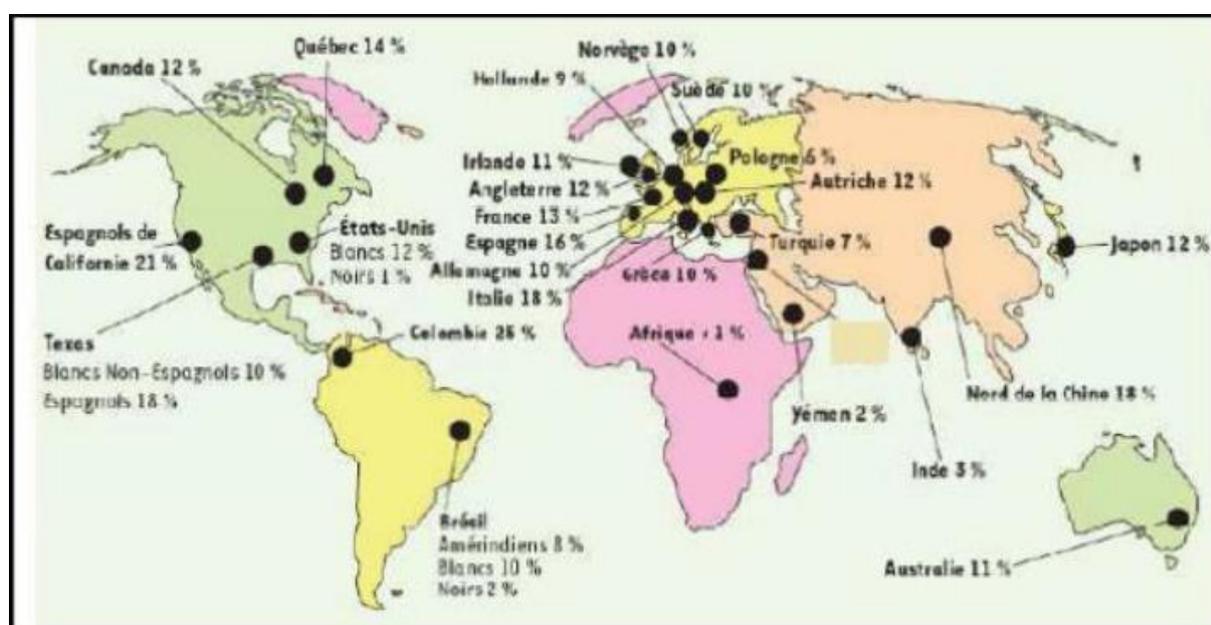


Figure 17 : Carte des fréquences des homozygotes 677TT dans le monde (Leclerc et Rozen, 2007)

La fréquence des mutations du gène MTHFR varie selon les groupes géographiques et ethniques. Par exemple, la fréquence de C677T dans les cas de Diabète de type 2 varie entre

Résultats et discussion

40 et 49%, en fonction de l'ethnie de la cohorte étudiée (Inde, 40%, Turquie, 49%, Turquie, 45%, Brésil, 46% et Chine, 44%).

Des facteurs tant environnementaux que génétiques contribuent au développement et à la progression du diabète gestationnel pendant la grossesse. A la recherche de la mutation C667T du gène MTHFR chez les 12 patientes recrutées pour cette étude nous avons constaté que les fréquences de génotype observées ; 0,75 pour l'homozygote sauvage (CC), 0,16 pour l'hétérozygote (CT) et 0,083 pour l'homozygote muté. Ce qui est cohérent avec les résultats obtenus par Imran Ali Khan *et al.* d'après une étude faite chez les individus d'origine sud-indienne examinée si les mutations C677T et G1691A sont associées au développement de diabète gestationnel dont ces fréquences des génotypes et des allèles étaient à l'équilibre de Hardy – Weinberg, Les fréquences de génotype pour C677T CC, CT et TT parmi les cas de diabète gestationnel étaient respectivement de 81,8, 18,2 et 0%. Où ils ont trouvé qu'il n'y avait aucune preuve d'association de maladie pour aucune des classes d'allèles ou de génotypes, autrement dit les mutations de MTHFR ne jouent aucun rôle dans le GDM chez les populations du sud de l'Inde (Ali Khan *et al.*, 2015).

D'après une étude incluant 249 patients atteints de diabète sucré de type II visait à étudier l'association du polymorphisme de la MTHFR (C677T) et de l'hypertrophie ventriculaire gauche dans la population turque. Aucune différence n'a été observée dans la distribution des génotypes MTHFR ou des fréquences d'allèles dans les cas par rapport aux témoins (Yilmaz *et al.*, 2003).

Une autre étude faite sur l'effet des polymorphismes des gènes MTHFR sur la susceptibilité au diabète chez des patients brésiliens ils n'avaient trouvé aucune preuve d'association entre l'allèle C677T MTHFR et le diabète millutus et qu'il est important de noter que la fréquence des homozygotes pour l'allèle C677T observée dans leur groupe de patients diabétiques était comparable à la fréquence du génotype TT précédemment estimée dans d'autres populations saines ethniquement mixtes (Erera *et al.*, 2006).

Ces résultats ne peuvent pas être concluants que si la taille de la population d'étude sera plus importante.

Conclusion et Perspectives

Nous avons mené une étude cas-témoins pour étudier l'association entre le polymorphisme C677T du gène MTHFR, et l'apparition d'un diabète sucré gestationnel, dans la population algérienne.

Au totale 25 patientes atteintes d'un diabète sucré gestationnel, parmi 463 accouchements enregistrés au niveau de CHU de Constantine.

Les résultats obtenus par l'étude des caractéristiques épidémiologiques concordent avec ce qui rapporté dans la littérature.

L'étude génétique avait révélé une association non significative entre le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR et le risque du diabète chez les femmes enceintes.

Cependant, il serait intéressant de pouvoir continuer ce travail en:

- élargir la taille de l'échantillon à fin d'augmenter la puissance statistique et de confirmer l'absence de l'association du polymorphisme C677T du *MTHFR* et le DG.
- étudiez les corrélations génotype-phénotype et génotype-facteurs de risque chez les femmes enceintes, prenant en considération les facteurs environnementaux.
- analyser les autres gènes qui sont impliqués dans le système de l'insulinorésistance et qui ont une relation avec le DG (*KCNJ11*, *CDKALI*, *GCK* et *MTNR1B*).

Références bibliographiques

Alberti KG, Zimmet PZ. Définition, diagnostic et classification du diabète sucré et de ses complications. Première partie: diagnostic et classification du diabète sucré: rapport provisoire d'une consultation de l'OMS. *Diabet Med.* 1998; 15: 539–553.

Ali Khan I, Ahmad Shaik N, Kamineni V, Jahan P, Qurratulain H, Pragna R. Evaluation of gestational diabetes mellitus risk in South Indian women based on MTHFR (C677T) and FVL (G1691A) mutations. *Article: Front. Pediatr.* 2015.

Anna L. Mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell K_{ATP} channel subunits Kir6.2 (*KCNJ11*) and SUR1 (*ABCC8*) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. 2006.

Aouiech S, sante-science-technologie. *Algérie Presse Service.* 2017.

Berrut G, Ghali A, Quere I, Ternisien C, Gallois I, Roy PM, Marre M, Fressinaud P. La mutation C677T du gène de la 5, 10 méthyltétrahydrofolate réductase est associée aux thromboses veineuses idiopathiques. *La Revue de médecine interne.* 2003; 24(9): 569-76.

Beucher G, J. Lepercq. Extrait de Médecine des maladies Métaboliques-G. 2010 ; 4, 6.

Blazevic S, Horvaticcek M, Kesic M, Zill P, Hranilovic D, Ivanisevic D, Desoye G, Stefulj J. Epigenetic adaptation of the placental serotonin transporter gene (SLC6A4) to gestational diabetes mellitus. *PLoS One.* 2017: 10-1371.

Bovin S, Derdour-Gury H, Perpetue J, Jeandidier N, Pinget M. Diabète et grossesse. *Ann Endocrinol.* 2002 ; 63(5) : 480-487.

Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 2005; 115(3):485-91.

Carlesso C-O. Etat des lieux des pratiques de suivi à court et moyen termes après un diabète gestationnel par les médecins généralistes de Haute-Vienne. 2018 :27-55.

Cypryk K, Szymczak W, Czupryniak L, Sobczak M, Lewinski A. Gestational diabetes mellitus-an analysis of risk factors. *Endokrynol Pol.* 2008; 59(5): 393-7.

Daly B, Toulis KA, Thomas N, Gokhale K, Martin J, Webber J, Keerthy D, Jolly K, Saravanan P, Nirantharakumar K. Increased risk of ischemic heart disease, hypertension, and type 2 diabetes in women with previous gestational diabetes mellitus, a target group in general practice for preventive interventions: A population-based cohort study. *PLoS Med.* 2018.

Références bibliographiques

- Derangere N.** Suspicion de macrosomie : évolution des conduites à tenir pour l'accouchement entre 2005 et 2007 dans les centres hospitaliers de Chambéry et de Bel Air à Thionville. 2009 : 11.
- Driguez D.** Apport du dosage de la fructosamine comme marqueur de complications obstétricales dans le diabète gestationnel, Etude prospective. 2011: 5-9.
- Dussol B.** Méthodes d'exploration de la fonction rénale : intérêt et limites des formules permettant d'estimer la fonction rénale. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*. 2011 ; 26: 6-12.
- England LJ1, Levine RJ, Qian C, Soule LM, Schisterman EF, Yu KF, Catalano PM.** Glucose tolerance and risk of gestational diabetes mellitus in nulliparous women who smoke during pregnancy. *Am J Epidemiol*. 2004; 160(12): 1205-13.
- Errera1 FIV, Silva MER, Yeh E, Maranduba1 CMC, Folco B, Takahashi W, Pereira W, Krieger JE, Passos-Bueno MR.** Effect of polymorphisms of the MTHFR and APOE genes on susceptibility to diabetes and severity of diabetic retinopathy in Brazilian patients. 2006.
- Feig D, Berger H, Donovan L.** Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada: Diabetes and Pregnancy. *Can J Diabetes*. 2018; 42(1): 255-282.
- Froguel F,** Génétique du diabète non insulino-dépendant, *médecine/sciences*.1994; 8-9(10): 798.
- Gagné A, Tremblay L.** Diabète et grossesse, *M.Ed*. 2013: 10.
- Gaughan D. J, Barbaux S, Kluijtmans L A, Whitehead AS.** The human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes: genomic organization, mRNA structure and linkage to the CLCN6 gene. *Gene*. 2000; 257: 279-289.
- George H.** Endocrinologie. Série Claude Bernard. *sciences médicales*. 2001 ; 7(1): 128-141.
- Godin C, Kovitch I, Dannenbaum D.** Diabète de grossesse et Diabète préexistant et grossesse, Diabète gestationnel. 2012: 3.
- Gos M, Szpecht-Potocka A.** Genetic basis of neural tube defects, Genes correlated with folate and methionine metabolism. *Journal of applied genetics*. 2002; 43(4): 511-24.

Références bibliographiques

Goueslard K, Cottenet J, S.Mariet A, Giroud M, Cottin Y, M.Petit J, Quantin C. Précocité des pathologies cardiovasculaires chez les femmes ayant un antécédent de diabète gestationnel. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*. 2016.

Gunderson EP, Jacobs DR. Jr, Chiang V. Durée de la lactation et incidence du syndrome métabolique chez les femmes en âge de procréer en fonction du statut du diabète sucré gestationnel: étude prospective de 20 ans sur le diabète, CARDIA (développement du risque artériel coronarien chez les jeunes adultes). 2010; 59: 495–504.

Haire-Joshu D, Glasgow RE, Tibbs TL. Smoking and diabetes. *Diabetes Care*. 1999; 22(11): 1887-1898.

Hieronimus S, Diabète gestationnel : qui dépisté?. 2010.

Holleville Guillaume M. le diabète gestationnel ses causes et ses conséquences pour la mère et son enfant rôle du pharmacien d'officine dans sa prise en charge. 2017.

Igor KJ, Kamgaing N, Nguifo FEJ, Fondop J, Billong S, Djientcheu VP. Health Sci. Dis.2017, 18 (4): 53.

Jardena P, Pralong F. Syndrome des ovaires polykystiques et résistance à l'insuline, *Rev MedSuisse*. 2009, 5: 779-782.

Jerbi Z, Abdennebi M, Douik H, Romdhane H B, Harzallah L, Guemira F, et Ghanem A. Étude du polymorphisme C677T du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population tunisienne. *In Annales de Biologie Clinique*. 2005; 63 (5): 487-491.

Kamla JI, Kamgaing N, Nguifo FEJ, Fondop J, Billong S, Djientcheu VP. Épidémiologie des Malformations Congénitales Visibles à la Naissance à Yaoundé. Health Sci. Dis. 2017; 18 (4): 53-60.

Karagozh.erden A , Ozer O, Esmeray K, Cetinkaya A ,Avcid, Karahan S, Basak M, Bulut K, Mutlu H, Simsek Y. The role of blood groups in the development of diabètes mellitus after gestational dibetes mellitus. *The Clin Risk Manag*. 2015.

Kim C, Berger DK, Chamany S. Recurrence of gestational diabetes mellitus: a systematic review. *Diabetes Care*. 2007; 30(5):1314-9.

Références bibliographiques

Lahlou H, *diabète et grossesse*. 2011 ; 88.

Laurent L. Diabète et grossesse, Diabétologie. *Diabète Québec*, 2013: 11.

Leclerc D, Rozen R. Molecular genetics of MTHFR polymorphisme are not all benign. *Médecine Science (Paris)*. 2007; 23 (3): 297-302

Levoye A, Dam J, Ayoub M , Guillaume, J. Couturier C, Delagrangre P, & Jockers, R. The orphan GPR50 receptor specifically inhibits MT1 melatonin receptor function through heterodimerization. *The EMBO journal*. 2006; 25(13) : 3012-3023.

Leyrat-Savin A. Le diabète gestationnel : nouvelles recommandation. 2012: 14-27.

Martin AO, Simpson JL, Ober C, Freinkel N Am J. Frequency of diabetes mellitus in mothers of probands with gestational diabetes: possible maternal influence on the predisposition to gestational diabetes. *Obstet Gynecol*. 1985; 151(4):471-5.

McTaggart JS, Clark RH, Ashcroft FM, Physiol J. Le rôle du canal KATP dans l'homéostasie du glucose dans l'état de santé et dans le traitement des maladies 2010; 588 : 3201-9.

Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, et al. Summary and recommendations of the Fifth international workshop-conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2007; 30(2): 251-60.

Michel P, Buresi C, JulieLee PH, Gill S, Jason, Kong M, Deborah, Money M, Eric, Yoshida M. On behalf of the Hepatitis C Vertical Transmission Study Group. 2016.

Mimouni-Zerguini S, Smail M, Boudiba M, Derguini M. Diabète gestationnel : facteurs de risque, évolution et conséquences périnatales: Expérience du CHU Mustapha Bacha, Alger (Algérie). *Médecine des Maladies Métaboliques*. 2011; 5(1): 34-41.

M.Jolly N. Sebire J. Harris S. Robinson L. Regan. The risks associated with pregnancy in women aged 35 years or older. *Human Reproduction*. 2000; 15(11): 2433–2437.

Monnier L. Diabétologie issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, 2018.

Moumhil N. Diabète et grossesse : à propos de 50 cas. 2013: 30-36.

Références bibliographiques

Murphy C, Han G, Cohen SR. Dermatologic manifestations of diabetes mellitus: *a review Endocrinol Metab Clin North Am.* 2013; 42(4):869-98.

Nielsen J, Christiansen J, Lykke-A, Wewer AH, Nielsen UM, Johnsen FC. Une famille de protéines liant l'ARNm du facteur de croissance analogue à l'insuline II réprime la traduction en fin de développement. *Molec. Cellule. Biol.* 1999; 19: 1262-1270.

Nouvier M. Néphrologie & Thérapeutique. 2015 ; 11: 35.

Olivier M, Cardenas J. La grossesse chez la femme diabétique. 2015.

Paluku Thierry TT, Nadifi S, Mazabraud A, et Hamzi K. Fréquence du polymorphisme C677T du gene de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) dans les population arabes et berbère du Maroc. *Antropo.* 2009; 20: 11-7.

Parveen F, Shukla A, Agrawal S. Should factor V Leiden mutation and prothrombin gene polymorphism testing be done in women with recurrent miscarriage from North India? *Arch Gynecol Obstet.* 2013; 287:375.

Pintiaux, J-M. Foidart. *revue de médecine Liege A.* 2005 ; 5-6 :339.

Quibel T, Bultez T, Nizard J, Subtil D, Huchon C, Rozenberg P. Morts fœtales in utero In utero fetal death. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction .* 2014 ; 43 (10) : 883-907.

Raza ST, Abbas S, Ahmed F, Fathima J, Zaidi ZH, Mahdi F. Association of MTHFR and PPAR γ 2 gene polymorphisms in relation to type 2 diabetes mellitus cases among north Indian population. *Gene.* 2012; 15: 375–9.

Regnault N, Salanave B, Castetbon K, Cosson E, Vambergue A, Barry Y, et al. Diabète gestationnel en France en 2012 : dépistage, prévalence et modalités de prise en charge pendant la grossesse. *Bull Epidémiol Hebd.* 2016;(9):164-73.

Reppert SM, Godson C., Mahle CD, Weaver DR, Slaugenhaupt SA, Gusella JF. Caractérisation moléculaire d'un second récepteur de la mélatonine exprimé dans la rétine et le cerveau humains: le récepteur de mélatonine Mel (1b). *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1995; 92: 8734-8738.

Références bibliographiques

Robitaille J. The genetics of gestational diabetes mellitus: evidence for relationship with type 2 diabetes mellitus. *Grant AM Genet Med.* 2008; 10(4): 240-50.

Sachse D, Sletner L, Mørkrid K, Karen Jenum A, Kare I. Birkeland , Rise F, Armin P, Piehler, Berg JP. Changements métaboliques dans l'urine pendant et après la grossesse dans une vaste étude de cohorte multiethnique sur le diabète gestationnel. 2012.

Saffroy R, Lemoière A, Debuire B. MTHFR (5,10-Méthylentetrahydrofolate reductase). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2005.

Seshiah V , Balaji V , Madhuri S, Balaji , Sanjeevi CB. Gestational Diabetes Mellitus in India Care and Research Institute, Molecular Medicine. 2004.

Shaukat SMH, Toledo-Garcia A, Torosoff M. Recurrent Myocardial Infarction Despite Normal C-reactive Protein in a Patient with Behcet's Disease and Compound Heterozygous Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Mutations (C677T and A1298C). *Cureus.* 2019.

Solomon CG, Willett WC, Carey VJ, Rich-Edwards J, Hunter DJ, Colditz GA, Stampfer MJ, Speizer FE, Spiegelman D, Manson JE. A prospective study of pregravid determinants of gestational diabetes mellitus. *JAMA.* 1997; 278(13):1078-83.

Splawski I, Shen J, Timothy KW, Vincent GM, Lehmann MH, Keating MT. Structure génomique de trois gènes du syndrome du QT long: KVLQT1, HERG et KCNE1. *Genomics.* 1998; 51: 86-97.

Stofell JP et al. Identification of glucokinase mutation in subjects with gestationnel diabetes mellitus, *Diabetes.* 1993; 42: 937.

Stoffel M, Espinosa R, Keller, Lienhard SR. Génesubstrat-1 du récepteur de l'insuline humaine (IRS1): localisation chromosomique à 2q35-q36.1 et identification d'un simple polymorphisme d'ADN en répétition en tandem. *Diabetologia.* 1993; 36: 335-337.

Tran C, Philippe J, Boulvain M. Prise en charge du diabète gestationnel : nouvelles connaissances et perspectives futures. *Rev Med Suisse.* 2011; 7: 1250-1254.

Timsit J. Diabètes monogéniques, *MCED.* 2018; 95: 71.

Références bibliographiques

Ueland PM, Rozen R. MTHFR polymorphisms and disease. *Georgetown: Landes Bioscience/Eurekah.com.* 2005: 210.

Vambergue A. Le diabète gestationnel, *Diabetes & Metabolism.* 2010; 36(6): 511-700.

Vambergue A et Al. Le diabète gestationnel, physiopathologie du diabète gestationnel, *Journal Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2002; 6: 31.

Vambergue A et al. Le diabète gestationnel, Médecine Clinique, *endocrinologie & diabète.* 2011; 50: 27-28.

Vinatier D, Dufour P, Bérard J. Avortement spontanée à répétition. Extrait des mises à jour en Gynécologie et Obstétrique. 1997 ; XXI : 165.

Watanabe RM. Inherited destiny: Genetics and gestational diabetes mellitus. *Genome Med.* 2011; 3(3):18.

Who. Définition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1999.

YunFeng C, Dana KA. Diabète et cancer du pancréas. 2012.

Yilmaz H, Agachan B, Ergen A, Karaalib ZE, Isbir T. Methylene tetrahydrofolate reductase C677T mutation and left ventricular hypertrophy in Turkish patients with type II diabetes mellitus. 2003.

Zhang C, Bao W, Rong Y, Yang H, Bowers K, Yeung E, Kiely M . "Genetic variants and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review". *Human Reproduction Update.* 2013; 19 (4): 376–90.

Zhang C, Li Y, Wang L, Sun S, Liug G, Leng J, Guo J, Lv L, Li W, Hu G, Yu Z, Yang X. Blood group AB is protective population-based study in Tinjin , China. *Diabetes metab.* 2015.

Zhu L, Xie Z, Lu J, Hao Q, Kang M, Chen S, Tang W, Ding H, Chen Y, Liu C, Wu H. TCF7L2 rs290481 T>C polymorphism is associated with an increased risk of type 2 diabetes mellitus and fasting plasma glucose level. *Oncotarget.* 2017; 8 (44): 77000–77008

Zoulaykha B. Evaluation de quelques paramètres biochimiques chez les femmes enceintes atteintes de diabète gestationnel. 2017.

ANNEXES

Annexe N°1 (Carlesso , 2018).

Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel : Qu'est-ce que c'est ?

Cela correspond à un taux de sucre dans le sang trop élevé (hyperglycémie)découvert pendant la grossesse.

Est-ce fréquent ?

Il représente **8% des grossesses** en France en 2015, et a malheureusement tendance à progresser.

Qu'est-ce que je risque après un diabète gestationnel ?

Dans la plupart des cas, la glycémie se normalise après l'accouchement. Cependant, un suivi régulier auprès de votre médecin traitant ou gynécologue est indispensable, pour vous et votre enfant car :

- Le risque de développer un véritable diabète dans les années qui suivent est **multiplié par 7**. Ce risque augmente avec le **surpoids** ou l'**obésité**.
- Les récurrences pour les futures grossesses sont fréquentes (jusqu'à 80%)
- Cela augmente le risque de pathologies cardiovasculaires.

Que va-t-il se passer ?

Un **dépistage de diabète de type 2** vous sera proposé lors de votre consultation post natale (environ 2 mois après l'accouchement). Le diabète gestationnel devra être mentionné dans le **cahier de santé** de votre enfant.

Un **suivi régulier** vous sera proposé, tous les 1 à 3 ans, pendant 25 ans :

Pas d'inquiétude, il s'agit d'un examen clinique classique et d'un dosage du taux de sucre dans le sang.

Il vous faudra veiller à bien renseigner les valeurs de taille et de poids de votre enfant dans son cahier de santé ; **N'oubliez pas de l'emmener avec vous à chacun de vos entretiens médicaux.**

Que dois-je faire au quotidien ?

Après cet heureux événement, la vie reprend son cours, et aucune obligation ne vous est imposée. Cependant, une hygiène de **vie saine et équilibrée** incombe à chacun d'entre nous, diabète gestationnel ou non, sans oublier notre entourage.

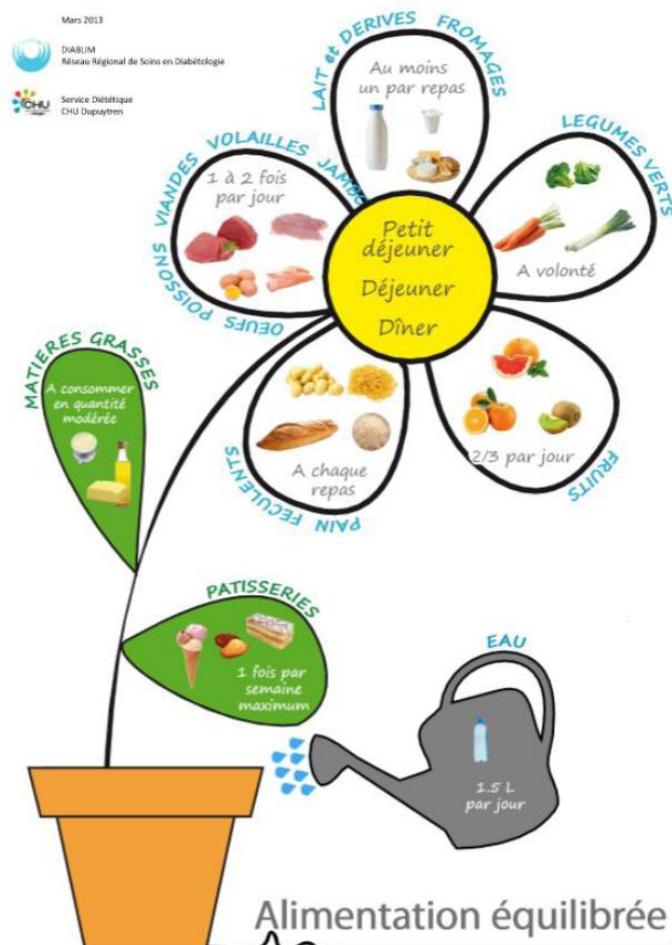
La **lutte contre la sédentarité et le surpoids est indispensable**, et est **FACILE** au quotidien en mettant en place quelques règles simples :

- ⇒ Manger **équilibré** en s'aidant du guide des aliments ci-dessous : **CECI N'EST PAS UN REGIME, simplement du bon sens !** Et **vos enfants** ont le droit d'en profiter !



- ⇒ Pratiquer une **activité physique quotidienne, régulière**, et surtout **adaptée** : **pas de panique**, on parle de sport mais aussi de bricolage, jardinage, ménage, ou encore courir après vos bambins :)
- ⇒ **Consultez votre médecin** à la moindre inquiétude ou interrogation
- ⇒ Vous pouvez prendre conseil auprès d'une diététicienne
- ⇒ **Bouger, bouger, bouger** : préférez marcher plutôt que de prendre la voiture, prenez les escaliers, allez chercher le pain à pied...

Ces gestes simples participent à **diminuer la masse grasse**, aide à **perdre du poids**, et **luttent contre l'hypertension**.



Sans compter que ces petits exercices diminuent aussi le nombre de **cancers du sein**, de cancers du **côlon**, de **dépression** et même de **démence !!**



Annexe N° 2

Fiche de renseignement du patient

Numéro de dossier :

Date d'entrée : date de sortie :

Médecin traitant :

➤ **Données générales :**

- Nom /prénom
- Age
- Poids/taille
- Groupe sanguin : A B AB O Rh
- Tabac : Oui Non
- Origine :Rurale : Urbain :
- N°Tél :
- Adresse :

➤ **Antécédents familiaux :**

- Diabète gestationnel :
 - Grande mère mat
 - Mère
 - Sœurs
- Diabète familiale :
 - Grand père (mat et pat)
 - Grande-mère (mat et pat)
 - Père Mère
 - Sœurs Frères
- Cardiopathie :
 - Grand pères (mat /pat)
 - Grande-mère (mat/pat)
 - Père Mère
 - Sœurs Frères
- Hypertension artérielle :
 - Grand père (mat/pat)
 - Grande mère (mat/pat)
 - Père mère
 - Sœurs Frères

➤ **Antécédents personnels :**

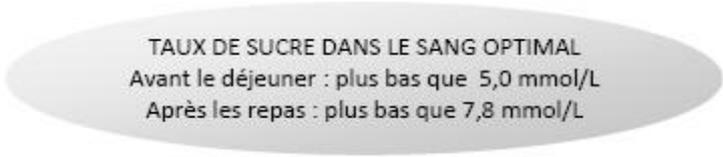
- Diabète gestationnel

Annexes

- Diabète familial
- Cardiopathie
- Hypertension artériel
- Autres maladie :.....
- Médicaments à prendre de façon régulière
 - À base de cortisone.....
 - Traitement du système nerveux
 - Antiviraux.....
 - Anti cancéreux
 - Les médicaments diurétiques
 - Des contraceptifs hormonaux
- **ATCD chirurgicaux**
.....
- **Symptômes cliniques :**
 - Fatigue inhabituelles (asthénie)
 - Polydipsie Polyurie
 - Hyperglycémie → nombre de fois marquées
 - Amaigrissement Décoloration de la peau
 - Syndrome des ovaires poly kystiques
- **Grossesse et bébé :**
 - Gésité :.....
 - Accouchement
 - Vois basse
 - Césarienne
 - Etat de naissance du bébé vivant mort
 - Sexe F/ M Poids :....
 - Etat de santé du bébé :.....
- **Examen complémentaire :**
 - GLY a jeun.....
 - GLY postprandiale
 - Hémoglobine glyquée.....
 - Chimie des urines.....
 - Profil de prise de tension artérielle.....
 - Bilan rénal : urée...../ créat...../iono.....
 - Bilan hépatique TGO...../TGP..... Paal..... biliribine (total/conjugée).....

Annexe N°3 (Godin C et *al.*, 2012)

Nom : _____



TAUX DE SUCRE DANS LE SANG OPTIMAL
Avant le déjeuner : plus bas que 5,0 mmol/L
Après les repas : plus bas que 7,8 mmol/L

Feuille de soin pour la glycémie du Diabète gestationnel.

Annexes

d'absorption des protéines) qui doit être compris entre 1,5 à 2 (Miller S.A, Dykes D.D.et Polesky H.F. (1988) Nucleic acid research 16(3) 1215).

2. Préparation des leucocytes

1. Dans un tube falcon de 50ml, mettre le sang et compléter à 25ml avec du TE 20 :5. Laisser 10 min dans la glace.
2. Centrifuger 10min à 3900g (3800rpm).
3. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
4. Ajouter quelques ml de TE (20 :5) au culot et le remettre en suspension avec une pastette stérile.
5. Compléter à 25ml du TE 20 : 5 et laisser 10min dans la glace.
6. Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
7. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : Obtention d'un culot des leucocytes (si on veut s'arrêter à ce niveau les mettre dans un tube nunc de 1,5ml avec du TE 10 : 1 et les conserver à -20°C dans le réfrigérateur).

3. Extraction de l'ADN

1. Transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon de 15ml.
2. Ajouter 3ml de tampon de lyse (NaCl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, pH 8,2) en dilacérant le culot avec une pastette stérile.
3. Ajouter 200 μl de SDS à 10%.
4. Ajouter 100 μl de protéinase K à 10mg/ml.
5. Agiter le tube sur une roue à 37°C une nuit.
6. Le lendemain, refroidir dans la glace.
7. Ajouter 1ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main.
8. Remettre 5min dans la glace (précipitation des protéines).
9. Centrifuger 15min à 2500rpm.

Annexes

10. Transvaser le surnageant dans un tube flacon de 15ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : La pelote d'ADN se forme.

11. Laisser éventuellement 30min à -20°C si la pelote ne se forme pas.

12. Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette Pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70%.

13. Mettre la pelote dans un tube nunc.

4. Solubilisation

1. Ajouter entre 300 et 1000µl de TE 10 :1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.

2. Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

Résumé

Les grossesses associées à un diabète sont parmi les principales grossesses à haut risque de survenue de complications maternelles et fœtales, que le diabète soit préexistant ou découvert au cours de la grossesse : « diabète gestationnel »

Le diabète gestationnel est une augmentation anormale du taux de sucre dans le sang (hyperglycémie) qui se produit pendant la grossesse chez une femme qui n'était pas connue diabétique auparavant.

On est prédisposé au diabète gestationnel, en cas de surpoids, plus on avance en âge (et notamment après 35 ans), en cas d'antécédents de diabète dans la famille, de diabète gestationnel lors d'une précédente grossesse, ou si l'on a déjà eu un bébé de plus de 4 kg à la naissance.

L'objectif Notre étude était de préciser les caractéristiques phénotypiques, cliniques et obstétriques et d'examiner d'éventuelles l'implication du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR dans la maladie de diabète sucré chez les femmes enceintes.

Méthodes : notre étude menée sur 14 témoins et 25 femmes enceintes, qui ont un diabète gestationnel, recrutés à partir du CHU de Constantine, et colligées sur une période de deux mois. L'identification de l'association entre le polymorphisme C677T du *MTHFR* et la survenue de DG a été réalisée par la technique de PCR/RFLP.

Résultats : Des facteurs tant environnementaux que génétiques contribuent au développement et à la progression du diabète gestationnel pendant la grossesse. A partir de notre enquête, nous avons trouvés que la fréquence de diabète gestationnel est de 5.39%

Conclusion : l'analyse statistique des résultats préliminaire du génotype moléculaire, indique qu'il n'y aucune preuve d'association de diabète gestationnel avec le polymorphisme C677T de la MTHFR. Cependant la taille de notre échantillon ne permet pas d'infirmer ou de confirmer avec une certitude la présence ou l'absence de cette association.

Mots clés : femme enceinte, diabète gestationnel, polymorphisme C677T, MTHFR

Abstract

Pregnancies associated with diabetes are among the major pregnancies at high risk for maternal and fetal complications, whether diabetes is pre-existing or discovered during pregnancy: "gestational diabetes"

Gestational diabetes is an abnormal increase in blood sugar (hyperglycemia) that occurs during pregnancy in a woman who was not previously known to have diabetes.

We are predisposed to gestational diabetes, in case of overweight, the more we advance in age (and especially after 35 years), in case of a history of diabetes in the family, gestational diabetes in a previous pregnancy, or if we already had a baby over 4 kg at birth.

The objective of our study was to specify the phenotypic, clinical and obstetric characteristics and to examine the possible involvement of the polymorphism C677T of the MTHFR gene in diabetes mellitus in pregnant women.

Methods: our study of 14 controls and 25 pregnant women, who have gestational diabetes, recruited from the University Hospital of Constantine, and collected over a period of two months. The identification of the association between the MTHFR C677T polymorphism and the occurrence of DG was performed by the PCR / RFLP technique.

Results:Both environmental and genetic factors contribute to the development and progression of gestational diabetes during pregnancy. From our survey, we found that the incidence of gestational diabetes is 5,39%.

Conclusion: Statistical analysis of the preliminary results of the molecular genotype indicates that there is no evidence of association of gestational diabetes disease with the C677T polymorphism of MTHFR. However, the size of our sample does not allow to confirm or infirm with certainty the presence or absence of this association.

Key words: pregnant woman, gestational diabetes, C677T polymorphism, MTHFR

ملخص

يعد الحمل المرتبط بمرض السكري من بين حالات الحمل الرئيسية المعرضة لخطر كبير لمضاعفات الأم و الجنين سواء "كان السكري موجودًا مسبقًا أو تم اكتشافه أثناء الحمل : "سكري الحمل"

سكري الحمل هو زيادة غير طبيعية في نسبة السكر في الدم (ارتفاع السكر في الدم) التي تحدث أثناء الحمل لدى امرأة لم تكن مصابة بمرض السكري من قبل.

النساء معرضون للإصابة بسكري الحمل، في حالة زيادة الوزن، كلما تقدمن في العمر (وخاصة بعد 35 عامًا)، في حالة وجود سابق لمرض السكري في الأسرة، أو سكري الحمل في فترة حمل سابقة، أو إذا كان لدينا بالفعل طفل أكثر من 4 كجم عند الولادة.

الهدف من دراستنا تحديد الخصائص المظهرية و السريرية و التوليدية و دراسة التورط المحتمل لتعدد الأشكال الجيني

في داء السكري عند النساء الحوامل MTHFR C677T

الطريقة: تم إجراء دراسة على 24 شاهد و 25 امرأة حامل، مصابات بسكري الحمل، من مستشفى جامعة قسنطينة، و التي تم جمعها على مدى فترة ثلاثة اشهر. تم إجراء تحديد العلاقة بين تعدد الاشكال MTHFR C677T و حدوث DG بواسطة تقنية: PCR/RFLP

النتائج: العوامل البيئية و الوراثة تساهم في ظهور مرض السكري أثناء الحمل و تطوره، و من خلال مسحنا و جدنا أن نسبة الإصابة بسكري الحمل هي 5.39%.

الخلاصة: يشير التحليل الإحصائي للنتائج الأولية للنمط الوراثي الجزيئي، إلى عدم وجود دليل لوجود علاقة بين مرض سكري الحمل و بين تعدد الأشكال C677T من MTHFR. و مع ذلك، فإن حجم العينة لا يسمح بتأكيد وجود أو عدم وجود هذا الارتباط.

الكلمات المفتاحية: المرأة الحامل، سكري الحمل، تعدد الأشكال MTHFR، C677T

Implication du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR au diabète gestationnel

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Les grossesses associées à un diabète sont parmi les principales grossesses à haut risque de survenue de complications maternelles et fœtales, que le diabète soit préexistant ou découvert au cours de la grossesse : « diabète gestationnel ».

Le diabète gestationnel est une augmentation anormale du taux de sucre dans le sang (hyperglycémie) qui se produit pendant la grossesse chez une femme qui n'était pas connue diabétique auparavant.

On est prédisposé au diabète gestationnel, en cas de surpoids, plus on avance en âge (et notamment après 35 ans), en cas d'antécédents de diabète dans la famille, de diabète gestationnel lors d'une précédente grossesse, ou si l'on a déjà eu un bébé de plus de 4 kg à la naissance.

L'objectif Notre étude était de préciser les caractéristiques phénotypiques, cliniques et obstétriques et d'examiner d'éventuelles l'implication du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR dans la maladie de diabète sucré chez les femmes enceintes.

Méthodes : notre étude menée sur 14 témoins et 25 femmes enceintes, qui ont un diabète gestationnel, recrutés à partir du CHU de Constantine, et colligées sur une période de deux mois. L'identification de l'association entre le polymorphisme C677T du *MTHFR* et la survenue de DG a été réalisée par la technique de PCR/RFLP.

Résultats : Des facteurs tant environnementaux que génétiques contribuent au développement et à la progression du diabète gestationnel pendant la grossesse A partir de notre enquête, nous avons trouvés que la fréquence de diabète gestationnel est de 5.39%.

Conclusion : l'analyse statistique des résultats préliminaire du génotype moléculaire, indique qu'il n'y aucune preuve d'association de maladie de diabète gestationnel avec le polymorphisme C677T de la MTHFR. Cependant la taille de notre échantillon ne permet pas d'infirmer ou de confirmer avec une certitude la présence ou l'absence de cette association.

Mots-clefs femme enceinte, diabète gestationnel, polymorphisme C677T, MTHFR.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de biologie et génétique moléculaire

Président du jury : Dr Sedrati Khadidja (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Rapporteur : Dr DAOUI Zineb (MCB - Université Mostefa Ben Boulaïd, Batna 2).

Examineur : Dr Ziada Hadia (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).