

**RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ CONSTANTINE -1-
FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE CELLULAIRE
ET MOLÉCULAIRE**



MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

En Biochimie

Option : Analyse Protéomique et Santé

THEME

**Effet des facteurs environnementaux sur
l'homocystéine chez le sujet sain**

Présenté par :

KADECHE SAIDA

MOKHNACHE IBTISSAM

Devant le jury

- ❖ Président : M^{me} MECHAKRA A. Professeur Université Constantine 1
- ❖ Promoteur : M^{me} HANACHI S. Docteur Université Constantine 3
- ❖ Examineur : M^{me} SIFI K. Maître de conférence Université Constantine 3

Année Universitaire : 2013/2014

Remerciements

Au terme de ce travail, il nous est très agréable de rendre hommage à tous ceux qui nous ont aidés, soutenues et supportés.

*Qu'il nous soit permis tout d'abord, d'adresser nos vifs remerciements à Mme le Dr **Hanachi Sabah**, pour avoir consacré son précieux temps à la valorisation de ce travail.*

*Nous remercions très sincèrement Madame le Pr **Mechakra Aicha**, Madame Pr **Sifi Karima**, pour avoir accepté d'être membre de jury de ce mémoire. Nous leur sommes très reconnaissante pour le temps et l'énergie consacrés à l'évaluation de ce travail.*

Je dédie ce modeste travail à :

*Ma mère: Benzahra Tafaha et mon mari :
Fennouche Yahia Qui m'a donné tout le soutien et le temps
pour atteindre les plus hauts échelons et obtenir les meilleures
certifications.*

*Je remercie également tous les membres de ma famille et toutes
mes amies.*

Saida

Dedicaces

À mes parents,

*Qui au long de mon existence m'ont couvert d'amour et d'affection et pour
tout leurs sacrifices et efforts à faire à moi ce que je suis*

À mes frères,

Pour son aide et soutien

À mes sœurs,

Pour son présence, son intimité, merci

À mes amies,

À toute ma famille

Ibtissam

Table des matières

Remerciements

Résumé (Français, anglais, Arabe)

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction1

Partie I

Revue bibliographique

1-Historique de l'homocystéine	2
2- Métabolisme de l'homocystéine.....	2
2-1- Les voies de la reméthylation.....	3
2-2- La voie de la transulfuration.....	3
3- Les différentes formes physicochimiques d'homocystéine circulantes.....	5
4- Valeurs normales et pathologiques de l'homocystéine.....	6
5-.-Facteurs déterminants de la concentration de l'homocystéine dans la population générale.....	7
5-1- Les facteurs environnementaux.....	7
5-1-1- Age et sexe.....	7
5-1-2- Habitudes de vie toxiques.....	8
5-1-2-1- Café.....	8
5-1-2-2- Alcool.....	8
5-1-2-3- Tabac.....	8
5-1-3- Activité physique.....	9
5-1-4- Obésité.....	9
5-1-5- Hormones.....	9
5-1-6- Produits pharmaceutiques.....	10
5-1-7-La grossesse.....	12
5-2- Les facteurs nutritionnels.....	13

5-2-1- Les folates ou vitamine B9.....	13
5-2-2- La vitamine B12.....	15
5-2-3- La vitamine B6.....	15
5-3- Les facteurs génétiques.....	16
5-3-1- Gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase MTHFR (EC 1.5.1.20).....	17
5-3-2- Gène de la méthionine synthase MS ou MTR (EC 2.1.1.13).....	18
5-3-3- Gène de la méthionine synthase réductase MSR ou MTRR (EC 2.1.1.135).....	19
5-3-4- Gène de la cystathionine β -synthase CBS (EC 4.2.1.22).....	19
5-3-5- Gène de la transcobalamine TCN II.....	20

Partie II

Partie Pratique

I- Matériel et Méthodes

I-1- Population étudiée.....	21
I-2- Conditions de prélèvements des échantillons sanguins.....	21
I-3-Recueil des échantillons.....	21
I-4-Méthode de dosage	22
I-5- Principe du test.....	22
I-6- Interférence.....	22
I-7- Limite.....	23
I-8- Valeur normale.....	23

II-Résultats

Résultats Epidémiologique.....	24
II-1- Caractéristique de l'échantillon.....	24
II-1-1- données selon le sexe et l'âge.....	24
II-1-2- données sur l'indice de masse corporelle et le tour de taille.....	26
a-Répartition de la population par niveau de l'indice de masse corporelle.....	26
b-Répartition des hommes et des femmes en fonction de leur tour de taille.....	27
II- 2-Données sociologiques.....	29
II-2-1- Répartition de la population en fonction de l'activité physique.....	29
II-2-2- Répartition de la population en fonction de tabagisme.....	29

II- 3- Variation du taux d'homocystéine.....	30
II-3-1- Variation du taux d'homocystéine selon le sexe.....	30
II-3-2- Variation du taux d'homocystéine selon l'âge.....	31
II-3-3- Variation du taux d'homocystéine selon l'IMC.....	31
II-3-4- Variation du taux d'homocystéine selon l'activité physique... ..	32
II-3-5- Variation du taux d'homocystéine selon le tabagisme.....	33
III- Discussion.....	34
Conclusion.....	37
Références bibliographique	
Annexe	

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN: Acide Ribonucléique

ATP: Adenosine Triphosphate

CBP: Cortisol Binding Protein

CBS: Cystathionine-Beta-Synthetase

CGL: Cystéine γ Lyase.

DHF: Dihydrofolate

Hcy: Homocystéine

HHcy : Hyperhomocystéinémie

IMC : L'indice De Masse Corporelle

MAT: Methionine-Adenosyl Transferase

MCV: Maladies Cardiovasculaires

MTHFR: 5-10-Methylene Tetrahydrofolate Reductase

MTR (MS): Methionine Synthase MS

MTRR : Méthionine Synthase Réductase

NO: Monoxyde D'azote

OMS : Organisation Mondiale De La Santé

PL: Pyridoxal

PLP: Pyridoxal 5'-Phosphate

PM: Pyridoxamine

PMP : Pyridoxamine 5'-Phosphate

PN: Pyridoxine

PNP: Pyridoxine 5'-Phosphate

SAM: S-Adenosyl-L-Methionine

SNP: Single nucleotide pair

TCN II: Transcobalamine II

tHcy: Homocystéine Totale

THF: Tetrahydrofolate

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau I: Valeurs normales et pathologiques de l'homocystéine.....	6
Tableau II: Substances médicamenteuses influençant le taux d'Hcy plasmatique.....	10
Tableau III: Distribution de l'échantillon selon le sexe.....	24
Tableau IV: Distribution de l'échantillon selon les tranches d'âge.....	25
Tableau V: Distribution de l'échantillon selon les tranches d'âge et le sexe.....	25
Tableau VI: Distribution des différentes classes d'IMC.....	27
Tableau VII: Distribution des fréquences de tour de taille selon le sexe.....	27
Tableau VIII: Distribution de l'échantillon selon l'activité physique.....	29
Tableau IX: Distribution de l'échantillon selon le tabagisme.....	29
Tableau X: La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon le sexe	30
Tableau XI: La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon l'âge.....	31
Tableau XII: La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon l'IMC.....	31
Tableau XIII : La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon l'activité physique.....	32
Tableau XIII : La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon le tabagisme.....	33

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : Structure de l'homocystéine.....	2
Figure 2 : Métabolisme de l'homocystéine.....	4
Figure 3 : Formes circulantes de l'homocystéine.....	6
Figure 4 : Action des différentes hormones sur le métabolisme de l'homocystéine.....	10
Figure 5 : folates et synthèse de l'ADN.....	13
Figure 6 : Représentation schématique du métabolisme intermédiaire des folates.....	14
Figure 7 : Gènes des enzymes intervenant dans le métabolisme de l'homocystéine.....	17
Figure 8 : Fréquence des homozygotes 677TT pour différentes régions géographiques.....	18
Figure 9 : Répartition de l'échantillon selon le sexe.....	24
Figure 10 : Répartition de l'échantillon selon les tranches d'âge.....	25
Figure 11 : Répartition de l'échantillon selon les tranches d'âge et le sexe.....	26
Figure 12 : Répartition selon les différentes classes d'IMC.....	27
Figure 13A : Répartition des hommes en fonction de leur tour de taille (cm).....	28
Figure 13B : Répartition des femmes en fonction de leur tour de taille (cm).....	28
Figure 14 : Répartition selon l'activité physique.....	29
Figure 15 : Répartition de l'échantillon selon le tabagisme.....	30
Figure 16 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$) selon le sexe.....	30
Figure 17 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$) selon l'âge.....	31
Figure 18 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$) selon l'IMC.....	32
Figure 19 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$) selon l'activité physique.....	32
Figure 20 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$) selon le tabagisme.....	33

Introduction

Introduction

Les maladies cardiovasculaires sont à l'origine de 10 des 40 millions de décès annuels dans les pays en développement, et certaines prévisions de l'OMS estiment qu'en 2015, elles pourront atteindre 20 millions de décès par an (OMS 2007). En Algérie, chaque année, 70 000 à 75 000 personnes meurent de pathologies cardiovasculaires. Selon l'INSP (Projet TAHINA 2004), 26 % des décès sont liés aux maladies cardiovasculaires dont 43,1% sont des hommes et 46,2% des femmes (**Bougherbal S**, 2005).

L'histoire de l'homocystéine comme facteur de risque potentiel a commencé alors dans les années 60. Depuis, l'homocystéine fut mesurée dans le plasma d'hommes et de femmes en bonne santé et bientôt différents auteurs émirent l'hypothèse d'un rôle possible du métabolisme de la méthionine dans la pathogenèse de l'athérosclérose, en particulier au niveau des artères coronaires et cérébrales. Une méta-analyse de 27 études épidémiologiques a suggéré qu'une augmentation de 5 μ mol/l en Hcy pourrait être associée à un risque de maladies coronariennes artérielles de 1,6 pour les hommes et 1,8 pour les femmes soit la même augmentation de risque qu'une augmentation de 0,5 mmol/l du cholestérol.

L'hyperhomocystéinémie (HHcy) a pour principaux déterminants des facteurs nutritionnels tels qu'un déficit en vitamines de type B [essentiellement les folates (vitamine B9) et les vitamines B12, B6 et B2] (**Mouchabac**, 2008), ainsi que des mutations génétiques qui peuvent toucher les principales enzymes impliquées dans le métabolisme de l'Hcy, notamment, la cystathionine bêta-synthétase (CBS), la méthionine synthétase (MS) et la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) (**Homocysteine**, 2008). D'autres facteurs non spécifiques contribueraient à l'élévation de l'Hcy, notamment le sexe masculin et l'âge (**Refsum H** et al., 2004), certaines maladies rénales, hépatiques et thyroïdiennes (**Kothekar**, 2007), les médicaments antagonistes de l'absorption des folates ou de la vitamine B12 (**Guilland J. C** et al., 2003), ainsi que certains éléments du mode de vie en particulier le tabagisme et le manque d'exercice, de même que la consommation de café (**Faeh H** et al., 2006 ; **Refsum H** et al., 1998). La relation entre l'HHcy et les facteurs environnementaux a fait l'objet de quelques études épidémiologiques.

Notre étude a pour objectif de connaître l'effet de l'âge, du sexe, de l'IMC, tabagisme et l'activité physique sur le taux d'Hcy chez le sujet sain.

Partie I :
Revue
Bibliographique

1. Historique de l'homocystéine

Au cours de la dernière décennie, un nombre important d'études a porté sur la physiopathologie de l'hyperhomocystéinémie et sur ses conséquences pour le système vasculaire. Les observations initiales mettant en relation l'homocystéine(Hcy) et l'athérosclérose ont été rapportées en 1969 par Mc Cully (**Mc Cully KS**, 1969). Déjà, en 1962, Carlson et Neil (**Carson NAJ et al.**, 1962) ont publié des travaux établissant un lien entre une anomalie du métabolisme des acides aminés soufrés conduisant à une élimination urinaire importante d'Hcy et un retard mental, accompagnés entre autres, d'anomalies thromboemboliques.

Aujourd'hui, l'Hcy continue à susciter un intérêt scientifique important. L'enthousiasme manifesté par différentes équipes de recherche de disciplines diverses au cours de la 2eme conférence internationale sur le métabolisme de l'Hcy organisée du 26 au 29 avril 1998 à Nimègue (Pays-Bas), en a été la démonstration ; initialement étudiée dans l'exploration des anomalies métaboliques congénitales des acides aminés soufrés, l'analyse de l'Hcy s'est étendue à d'autres domaines cliniques dont les malformations du tube neural (Spina bifida, anencéphalie), les interruptions précoces de grossesse, la maladie d'Alzheimer, le syndrome de fatigue chronique (**Boushey J et al.**,1995 ; **Regland B et al.**,1997).

Malgré ces différentes observations, la relation entre l'Hcy et les pathologies évoquées est loin d'être évidente. La recherche des différentes causes d'hyperhomocystéinémie modérée associée à ces pathologies continue d'être actuellement l'objet des investigations (**Smith A. D et al.**, 1998).

2. Métabolisme de l'homocystéine

L'Hcy est un acide aminé soufré formé au niveau intracellulaire à partir de la méthionine apportée par l'alimentation (figure 1). L'Hcy n'est pas codée génétiquement et est absente des protéines. Elle est synthétisée par toutes les cellules de l'organisme.

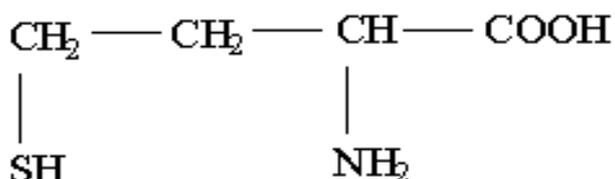


Figure 1: Structure de l'homocystéine (**Delattre J. et al.** 2003)

Revue bibliographique

Le catabolisme de l'Hcy se produit principalement dans le foie et dans les reins par deux voies : la voie de la reméthylation et la voie de la transulfuration.

2.1. Les voies de la reméthylation

Elles assurent la reméthylation de l'Hcy selon deux réactions enzymatiques distinctes. La principale réaction fait intervenir la 5-méthyl tétrahydrofolate-homocystéine méthyl transférase (méthionine synthase MS) dont le cofacteur est la méthyl cobalamine (dérivé de la vitamine B12). Dans cette voie de reméthylation, le groupement méthyl est apporté par le 5-méthyl tétrahydrofolate, dont la formation est sous la dépendance de la 5-10-méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), et la Méthionine Synthase (MS) dont le cofacteur est la vitamine B12. Ce transfert du groupement méthyl, qui permet la synthèse de la méthionine, n'est possible qu'en présence de méthylcobalamine ; d'où la synergie d'action entre la vitamine B9 et la vitamine B12. L'autre réaction se déroule en grande partie dans le foie. Elle est de faible activité et fait intervenir une enzyme hépatique, la bétaine –homocystéine méthyl transférase. Dans ce cas, le groupement méthyl est apporté par la bétaine, dont la formation est sous la dépendance de la choline déshydrogénase. Cette voie est moins importante que la précédente au niveau de la paroi vasculaire et même absente dans certains tissus, comme le tissu myocardique (**Chen J et al.**, 1999) (figure2).

2.2. La voie de la transulfuration

La majorité de l'Hcy n'est pas reméthylée mais catabolisée en cystéine par la voie de la transulfuration. Cette voie permet à la méthionine d'apporter un atome de soufre pour la formation de la cystéine. L'activation de la méthionine en S-adenosyl-L-méthionine (SAM) se fait sous l'influence de la méthionine-adenosyl transférase (MAT) et en présence d'ATP. La SAM, principal donneur de groupe méthyl de l'organisme, cède ensuite son groupement méthyl à un accepteur, pour donner naissance à la S-adenosyl-L-homocystéine.

La S-adenosyl-L-homocystéine est alors hydrolysée en adénosine et en Hcy par la S-adenosyl-L homocystéine hydrolase. Sous l'influence de la cystathionine β-synthase (CBS) dont le cofacteur est le phosphate de pyridoxal (vitamine B6), l'Hcy se condense ensuite avec la sérine pour former la cystathionine. La cystathionine est enfin clivée et

Revue bibliographique

désaminée en cystéine et en α -cétobutyrate sous l'influence de la cystathionase, autre enzyme à phosphate pyridoxal. Contrairement aux autres voies, cette dernière est irréversible, ce qui a pour conséquence que la cystéine ne peut être un précurseur pour la synthèse de méthionine. Ce fait revêt surtout une importance dans le cadre de recommandations diététiques. En cas d'apport protéique excessif, la voie de la transulfuration est favorisée par rétrocontrôle positif de la cystathionine β -synthase (CBS) et rétrocontrôle négatif de la 5-10-méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), le régulateur allostérique étant la S-adénosyl-L-méthionine (SAM). Dans ce cas, la cystéine formée à partir de l'Hcy est incorporée dans le glutathion ou convertie en sulfates qui sont excrétés dans les urines. A l'inverse, la voie de la reméthylation est favorisée et l'Hcy est recyclée afin de maintenir un pool suffisant en méthionine. Dans les deux cas, l'Hcy est métabolisée dès sa formation (Demuth K *et al.*,2000) (figure2).

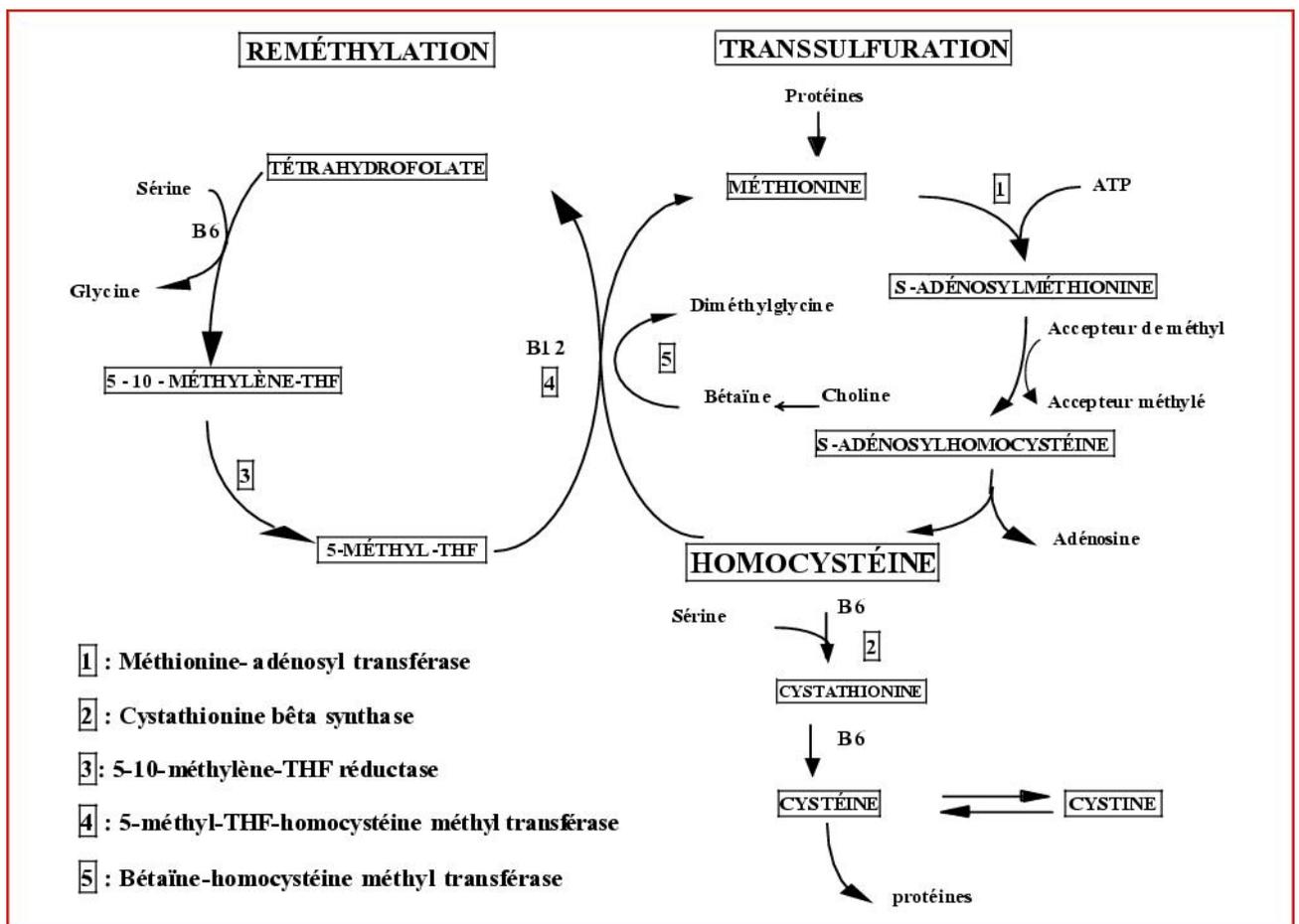


Figure 2: métabolisme de l'homocystéine (BLACHER J. 2007).

3. Les différentes formes physicochimiques d'homocystéine circulantes

La présence de groupement sulfhydrile rend l'Hcy sensible aux réactions d'oxydation au pH physiologique et entraîne la formation de ponts disulfure avec d'autres thiols ; Dans le plasma humain, elle existe sous forme libre et liée aux protéines. Environ 70 à 80% de l'Hcy plasmatique totale sont liées aux protéines plasmatiques, en particulier à l'albumine ; les 20 à 30% restant sont dits « abandonnées », comprenant le disulfure mixte homocystéine-cystéine, des traces d'Hcy (disulfure Hcy-Hcy) et un faible pourcentage (2 à 5%) d'Hcy sous forme réduite. L'Hcy libérée par traitement par des composés réducteurs est appelée Hcy totale (tHcy) ; c'est elle qui est dosée classiquement (figure 3) (Ducros V *et al.*, 2001).

En raison de cette répartition, seulement 20% de l'Hcy plasmatique totale peut être filtrée par le rein. Par ailleurs, la majorité de ces 20% étant catabolisées par les cellules tubulaires, l'excrétion urinaire d'Hcy est très faible (3,5 à 10 µmol/24 heures) (Delattre J *et al.*, 2003).

Homocystéine	REDUITE NH ₃ + -OOCCHCH ₂ CH ₂ – SH	1%
Homocystéine	OXYDÉ NH ₃ + -OOCCHCH ₂ CH ₂ – S -OOCCHCH ₂ CH ₂ – S NH ₃ +	5-10%
Homocystéine liée aux protéines	NH ₃ + -OOCCHCH ₂ CH ₂ – S	80-90%

	$\begin{array}{c} \\ \text{Protéine} - \text{S} \end{array}$	
Homocystéine-cystéine	$\begin{array}{c} \text{NH}_3 + \\ \\ -\text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2 - \text{S} \\ \\ -\text{OOCCHCHCH}_2 - \text{S} \\ \\ \text{NH}_3 + \end{array}$	5-10%

Figure 3 : Formes circulantes de l'homocystéine (Ducros V. *et al.* 2001).

4. Valeurs normales et pathologiques d'homocystéine

Les valeurs normales d'Hcy varient légèrement entre les différents laboratoires et suivant les techniques utilisées. Sur la base des travaux menés, la gamme de la concentration totale en Hcy dans le plasma des adultes en bonne sante est de 5-15 $\mu\text{mol/l}$ (Tableau I) (Ueland P. M *et al.*, 1993).

Tableau I : Valeurs normales et pathologiques de l'homocystéine (Ueland P. M *et al.*, 1993).

	Homocystéine ($\mu\text{mol/l}$)
Normale	5-15
Souhaitable	<10
Hyperhomocystéinémie	
<input type="checkbox"/> Modérée	16 – 25
<input type="checkbox"/> Intermédiaire	26-100
<input type="checkbox"/> Sévère	>100

Cependant, il faut être prudent dans l'utilisation de « gammes normales » pour l'Hcy. Le risque pour les maladies cardiovasculaires (MCV) est représenté par un continuum de concentration totale en Hcy, avec le risque substantiel se produisant entre 10 et 15 $\mu\text{mol/l}$. Dans la plupart des cas, les événements cardiovasculaires surviennent avec des hyperhomocystéinémies modérées (Ueland P. M *et al.*, 2000).

Cependant, si la fonction rénale est altérée, le taux de tHcy peut atteindre les concentrations intermédiaires (**Boston A. G et al.**, 1997).

Une valeur de 16 $\mu\text{mol/l}$ à jeun représente le 95eme percentile de la distribution dans la plupart des études et cette valeur est donc généralement considérée comme la limite supérieure de la normale (**Ueland P. M et al.**, 1993).

5. Facteurs déterminants de la concentration de l'homocystéine dans la population générale

Les déterminants de tHcy plasmatique sont complexes et impliquent des facteurs environnementaux, nutritionnels et génétiques.

5.1. Les facteurs environnementaux

Les principaux facteurs environnementaux qui contribuent à une hyperhomocystéinémie modérée incluent l'âge, le sexe, certains médicaments.

5.1.1. Age et sexe

Selon Selhub et al (**selhub et al.**, 1993), la prévalence de l'hyperhomocystéinémie atteignait en moyenne 30% chez les sujets âgés (65 à 80 ans) et 40 à 60% chez les sujets très âgés (au-delà de 80ans). Cette plus grande fréquence de l'hyperhomocystéinémie dans la population gériatrique a été expliquée par une prévalence également accrue de déficit en vitamines du groupe B, évaluée à 29% chez les sujets âgés et a 55% chez les sujets très âgés (**Hermann W et al.**, 1999).

Les hommes ont une Hcy plus élevée que les femmes, dues à une plus grande masse musculaire ou aux effets des hormones sexuelles (**Norland L et al.**, 1998), ce qui a été confirmé par une étude réalisée sur des hommes et des femmes transsexuels (**Giltay E. J et al.**, 1998). Une part de la relation entre l'âge des femmes et l'hyperhomocystéinémie pourrait s'expliquer par la ménopause. Chez les femmes, une augmentation d'homocystéinémie est observée après la ménopause et peut rejoindre celle des hommes (**Uelan D. M et al.**, 2001 ; **Refsum H et al.**, 2006).

5.1.2. Habitudes de vie toxiques

5.1.2.1. Café

La consommation de café est positivement corrélée avec les concentrations en tHcy chez les hommes et les femmes dans la majorité des études d'observation (**Stolzenberg Solomon R. Z et al.**, 1999 ; **Saw S. M et al.**, 2001).

La caféine est un facteur qui élève les concentrations en tHcy car elle inhibe la conversion de l'Hcy en cystéine en agissant comme antagoniste de la vitamine B6 (**Grubben M. J et al.**, 2000). De plus, l'étude d'Olthof et al (**Olthof M. R et al.**, 2001) a montré que l'acide chlorogénique, un polyphénol présent dans le café en même proportion que la caféine, est responsable de l'augmentation des concentrations de tHcy. En effet, pour être métabolisé, les polyphénols nécessitent les groupements méthyle de la méthionine ce qui entraîne la formation excessive d'Hcy. La caféine et l'acide chlorogénique sont également présents dans le thé mais à faibles doses ce qui explique l'absence d'une association positive entre l'Hcy et la consommation de thé (**Grubben M. J et al.**, 2000).

5.1.2.2. Alcool

Les données épidémiologiques concernant les relations entre alcool et Hcy sont assez nombreuses, mais s'avèrent peu claires (**Schlienger J. L.**, 2004 ; **Hillman R. S et al.**, 1982). Le sujet est pourtant d'importance compte tenu des données épidémiologiques établissant qu'une consommation modérée régulière d'une boisson alcoolisée contribue à réduire la mortalité cardiovasculaire (**Schlienger J. L.**, 2004).

La consommation d'alcool est un modulateur de la concentration d'Hcy, mais ses effets sont variables, voire discordants. Saw et al (**Saw S. M et al.**, 2001) rapportent une corrélation positive entre alcool et Hcy alors que d'autres décrivent une association inverse (**Halstedt C. H et al.**, 2002). Le mode de consommation et la nature des boissons alcooliques consommées pourraient expliquer ces résultats contrastés.

5.1.2.3. Tabac

Le tabagisme est positivement corrèle avec les concentrations de tHcy (**de Bree A et al.**, 2001 ; **Koehler K. M et al.**, 2001). Les fumeurs présentent un faible appétit surtout pour les légumes riches en vitamines du groupe B. Le mécanisme exacte derrière l'augmentation de l'Hcy n'est pas identifié, mais le tabac peut changer le statut redox des groupements thiols ou inhibe les enzymes comme la méthionine synthase (**Bergmark C et al.**, 1997). Fumer des cigarettes interfère également avec la synthèse du pyridoxal de phosphate, et il a été reporté que les fumeurs ont des concentrations significativement inférieures de pyridoxal de phosphate que les non fumeurs (**George N et al.**, 1998).

5.1.3. Activité physique

Une étude d'intervention a montré que l'exercice physique n'affecte pas les concentrations d'Hcy (**Wright M et al.**, 1998). De Bree et al (**de Bree A et al.**, 2001) ont démontré une association inverse entre l'activité physique et les concentrations en Hcy plasmatique.

5.1.4. Obésité

L'obésité est évaluée par l'indice de masse corporelle (IMC) (poids/taille²). Il y a surpoids lorsque l'IMC est supérieur à 25 et obésité au delà de 30 (**Menu P et al.**, 2002). Au delà de la corpulence totale, la répartition de l'adiposité a un impact important sur le risque cardiovasculaire. En effet l'obésité abdominale (répartition de type centrale) majore le risque de façon plus significative (**Assmann G et al.**, 1998 ; **Herpin D et al.**, 2003).

5.1.5. Hormones

Les hormones stéroïdes ou peptidiques peuvent influencer l'homocystéinémie plasmatique. De ce fait, l'excès ou l'insuffisance de sécrétion de certaines hormones peuvent agir soit directement sur la voie de la transsulfuration ou de la reméthylation, soit indirectement (**Catargi B et al.**, 2000).

En effet, le statut hormonal modifie fréquemment d'autres acteurs importants intervenant dans le métabolisme de l'Hcy et principalement la fonction rénale, l'acide folique

Revue bibliographique

ou la vitamine B12. L'observation de valeurs moyennes plus élevées chez l'homme et chez la femme ménopausée par rapport à la femme non ménopausée a suggéré la notion que les stéroïdes sexuels soient des facteurs de variation physiologiques de l'Hcy plasmatique. Après la ménopause, le taux d'Hcy augmente pour atteindre des niveaux similaires à ceux des hommes d'âge égal (Catargi B *et al.*, 2000).

Inversement, la très nette diminution (de plus de 60%) de l'Hcy durant la gestation a été un argument fort en faveur de la modulation de l'Hcy par les stéroïdes circulants (Anderson A *et al.*, 1992). La diminution de l'Hcy durant la grossesse, attribuée à l'élévation des stéroïdes sexuels, semble en fait principalement due à l'augmentation du cortisol. Le cortisol favorise la reméthylation de l'Hcy en augmentant de 300% l'activité de la bêtaïne-homocystéine méthyltransférase hépatique (Finkelstein J. D *et al.*, 1971) (figure4).

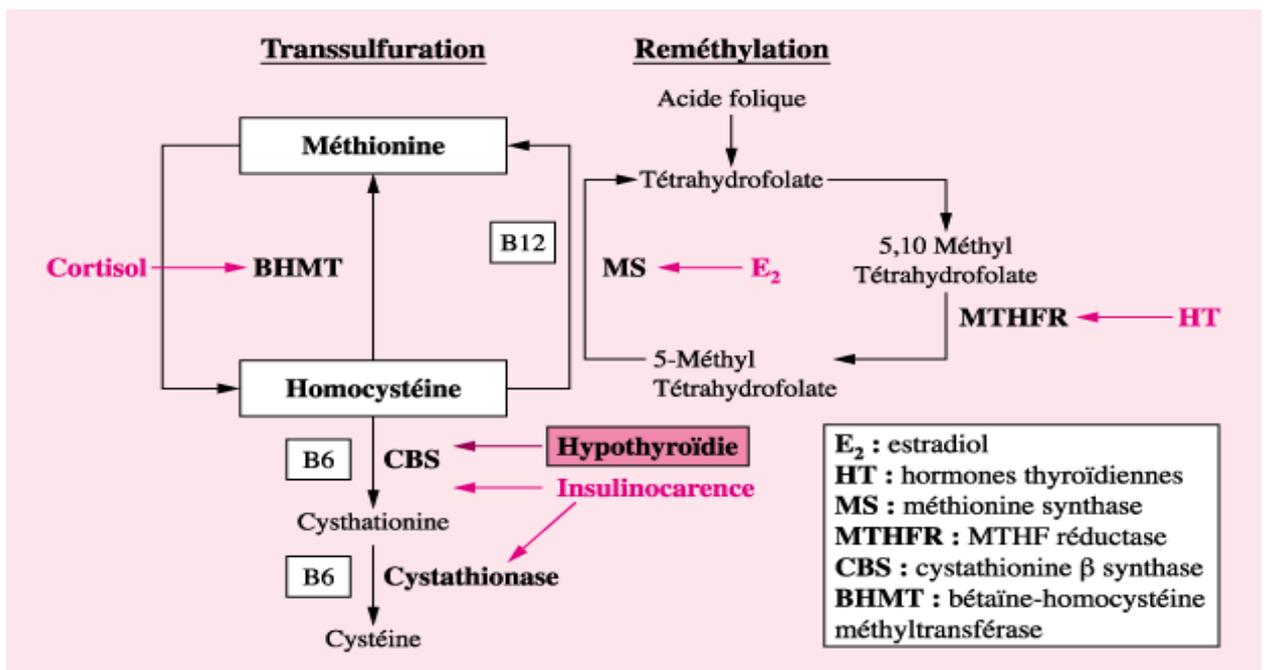


Figure 4: Action des différentes hormones sur le métabolisme de l'homocystéine (Catargi B. *et al.*, 2000).

5.1.6. Produits pharmaceutiques

Différents médicaments peuvent agir sur le métabolisme de l'Hcy, en augmentant ou en diminuant son taux. Certains d'entre eux sont reportés dans le tableau II.

Revue bibliographique

Tableau II : Substances médicamenteuses influençant les taux d'Hcy plasmatique
(Ueland P. M *et al.*, 1989 ; Refsum H *et al.*, 1990).

Nom du produit	Action	Effet
Méthotrexate	Diminution du 5 méthyl tétrahydrofolate	Augmente l'Hcy
Phénytoïne	Interférence avec les folates	-
Carbamazépine	Interférence avec les folates	-
Monoxyde d'azote(NO)	Inactivation de la méthionine synthase	-
Protoxyde d'azote(N2O)	Inactivation de la méthylcobalamine	-
Contraceptifs(œstrogènes)	Diminution du taux de vitamine B6	-
Azauridine	Analogue de la vitamine B6	-
Hydralazine	Analogue de la vitamine B6	-
Isoniazide	Analogue de la vitamine B6	-
Cyclosérine	Analogue de la vitamine B6	-
Phénelzine	Analogue de la vitamine B6	-
Procarbazine	Analogue de la vitamine B6	-
Pénicillamine	Analogue de la cysteine	Diminue l'Hcy

Hormones : les hormones sexuelles stéroïdiennes exercent un effet différent entre les deux sexes. Les hormones contraceptives orales peuvent élever les concentrations en tHcy. Le traitement hormonal substitutif à base d'œstrogènes diminue l'Hcy et serait considéré comme protecteur contre les MCV. Tamoxifen utilisé dans le traitement du cancer du sein semble également réduire les taux d'Hcy.

Drogues antiépileptiques: peu d'études ont été réalisées sur les populations afin de déterminer l'effet des antiépileptiques sur l'Hcy ; cependant, ces drogues sont suspectées d'interagir avec l'absorption des folates, le catabolisme et l'inhibition d'enzymes régulatrices du métabolisme des folates. La Phénytoïne est une drogue fortement associée avec les

Revue bibliographique

déficiences en folates, mais d'autres drogues comme le Phénobarbital, Carbamazépine, Primidone et Valproate peuvent également interférer avec la reméthylation de l'Hcy, la voie de la transulfuration de l'Hcy peut être également compromise à cause du déficit en vitamines B6 (**Ueland P. M et al**25., 1989).

Méthotrexate : les antifolates comme le Méthotrexate appauvrissent les cellules en folates car ils inhibent la conversion du dihydrofolate (DHF) en tétrahydrofolate (THF). Ce déficit perturbe la synthèse de l'ADN et de l'ARN, nécessaires pour les synthèses protéiques. Le Méthotrexate inhibe la division cellulaire et donc fortement prescrit comme traitement pour le cancer, psoriasis, arthrite rhumatoïde. D'autres anti-folates comme la Sulfasalazine, Raltritrexed, Trimetrexate peuvent également exercer le même effet sur les concentrations d'Hcy (**Refsum H et al.**, 1990).

Monoxyde d'azote (NO) : les concentrations d'Hcy augmentent rapidement chez les patients ayant été anesthésiés par le NO. En effet, le NO inactive la méthionine synthase (MS ou MTR), enzyme qui reméthyle l'Hcy en méthionine. Le traitement préopératoire consiste à prescrire de la bétaine qui reméthyle l'Hcy indépendamment de la MTR afin de minimiser ces augmentations. Théoriquement, ceci pourrait diminuer le risque d'événements athérotrombotiques postopératoires (**Ueland P. M et al.**, 1989).

5.1.7. La grossesse

La diminution de l'Hcy durant la gestation, attribuée à l'élévation des stéroïdes sexuels, semble en fait principalement due à l'augmentation du cortisol (**Kim M. H et al.**, 1997).

Ainsi la diminution considérable de l'Hcy durant la grossesse serait la résultante de l'augmentation de la fraction de cortisol lié à la *cortisol binding protein* (CBP) (dont la synthèse hépatique est augmentée par les œstrogènes au cours du premier trimestre), puis de l'augmentation de la fraction libre du cortisol en fin de grossesse. Cette observation est rapporté par de Finkelstein qui a étudié de façon systématique l'effet de plusieurs hormones sur le métabolisme de l'Hcy chez le rat. Cet auteur a montré que le cortisol favorise la reméthylation de l'Hcy en augmentant de 300 % l'activité de la bétaine-homocystéine méthyltransférase hépatique.(**Finkelstein J. D. et al.**, 1971) .

Revue bibliographique

Les œstrogènes favorisent aussi la voie de reméthylation de l'Hcy (**Blom H. J et al.**, 1988) en augmentant l'activité de la méthionine synthase rénale. (**Finkelstein J. D et al.**, 1971). L'effet des stéroïdes sexuels pourrait également s'exercer sur l'Hcy de façon indirecte en modulant l'homéostasie des folates.

Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer cette baisse de l'Hcy pendant la grossesse. Tout d'abord la simple hémodilution physiologique de la grossesse peut être en cause (**Obwegeser R et al.**, 1999). La baisse de l'albuminémie qui, comme nous l'avons vu, est le principal vecteur plasmatique de l'HC, est une autre cause possible (**Refsum H et al.**, 1997). La baisse des taux de vitamine B12 et de folates a également été incriminée (**Chesley L. C et al.**, 1972). L'activation des enzymes du métabolisme de l'Hcy due à l'augmentation gravidique des taux circulants de cortisol et d'estrogène est en cause pour d'autres auteurs (**Kim M. H et al.**, 1997) Enfin, une autre explication possible à ce phénomène est l'utilisation de l'Hcy maternelle par le fœtus (**Malinow M. R et al.**, 1998)

5.2. Les facteurs nutritionnels

5.2.1. Les folates ou vitamine B9

L'acide folique est une molécule relativement simple, l'acide ptéroylmonoglutamique, de poids moléculaire égal à 441KDa. Cependant, la vitamine «naturelle» est surtout présente dans les aliments sous la forme plus complexe de polyglutamates, appelés communément folates. L'absorption se fait au niveau du duodénum et du jéjunum, après hydrolyse en monoglutamate. Le sang portal achemine l'acide ptéroglytamique au foie où il est méthyle. C'est sous cette forme que la molécule est transportée dans le sang, excrétée dans la bile puis réabsorbée. Ce cycle entérohépatique représente une forte circulation quotidienne de folates (>80 µg/jour) et constitue une voie importante de redistribution de l'acide folique aux tissus périphériques (**Hillman R. S et al.**, 1982).

Les fonctions physiologiques des folates

Les folates facilitent le transfert des unités mono carbonées à partir de multiples biomolécules vers des nombreuses réactions biosynthétiques telles que la synthèse de purine et de pyrimidine, la synthèse de la méthionine à partir de l'Hcy. Un apport adéquat en folates

Revue bibliographique

est essentiel pour la division cellulaire et l'homéostasie, en produisant de l'ADN (Figure 5) (Scott J.M *et al.*, 1998).

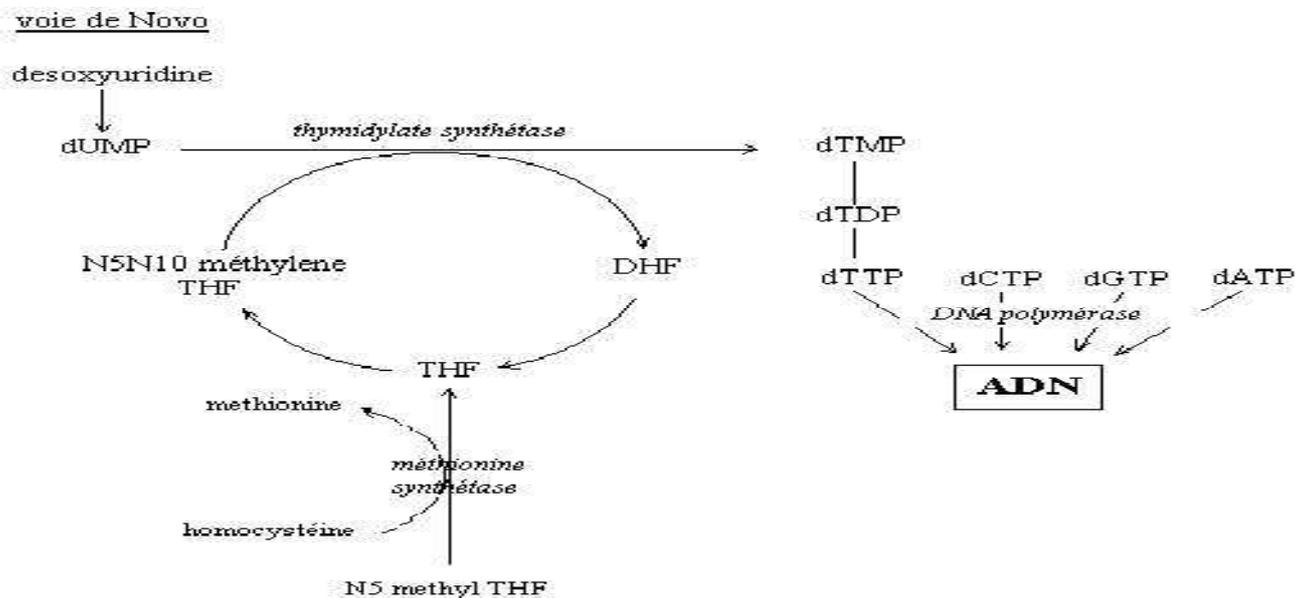


Figure 5 : folates et synthèse de l'ADN (Scott J. M *et al.*, 1998).

Réduction de l'acide folique :

Pour être métaboliquement active, la molécule doit être réduite par une enzyme, la dihydrofolate réductase qui fixe d'abord 2, puis 4 atomes d'hydrogène sur la molécule, ce qui explique sa grande sensibilité à l'oxydation. Ainsi, le ptéroglutamate subit une double réduction en THF (Tétrahydrofolate).

Méthylation du THF :

La fixation des groupements monocarbonés en 5 et 10 conduits aux formes circulantes et actives (5,10-MTHF et 5-MTHF).

Déméthylation du 5-MTHF :

La molécule de 5-MTHF véhiculée par le sérum doit être déméthylée pour intégrer le cycle folique cellulaire, et ce transfert de méthyl qui permet la synthèse de la méthionine, nécessite la MTHFR et son cofacteur enzymatique, la méthylcobalamine. C'est en tant que donneur de méthyl que l'acide folique joue un rôle fondamental dans le métabolisme de l'Hcy et, par voie de conséquence, dans le métabolisme cérébral et nerveux (neuromédiateurs en particulier) (figure 6) (Barbaux S *et al.*, 2000).

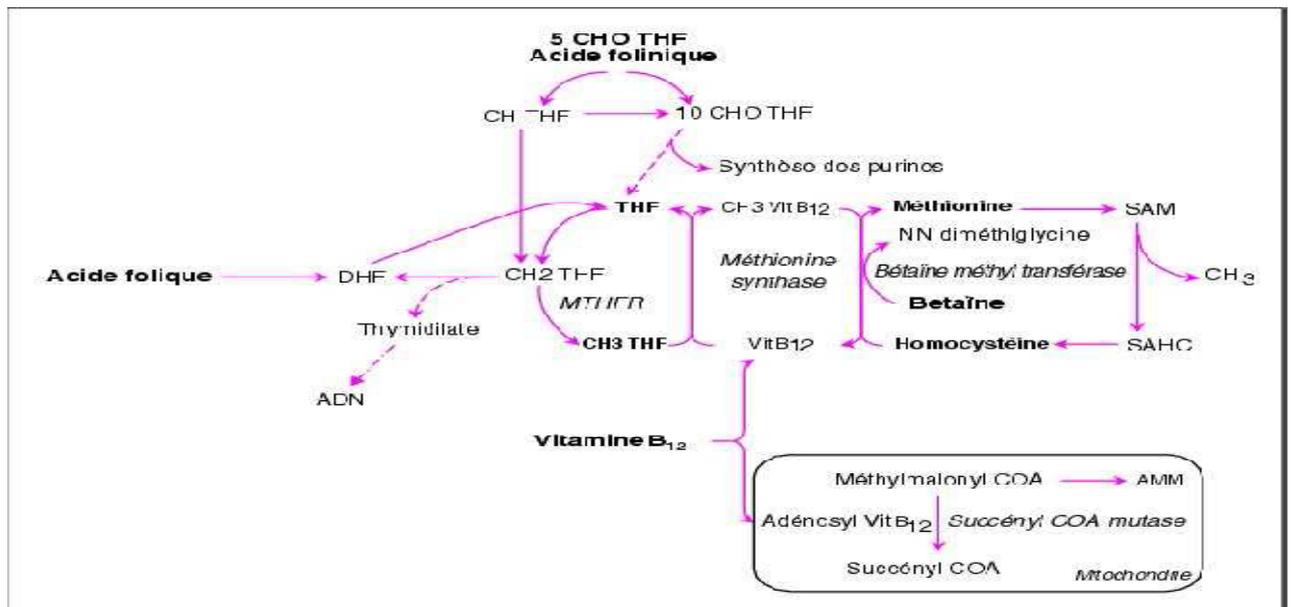


Figure 6 : Représentation schématique du métabolisme intermédiaire des (Potier de Courcy G. 2005).

THF : tétrahydrofolate ; CH-THF : méthényle THF ; CHO-THF : formyle THF ; CH₂-THF : méthylène THF ; CH₃-THF : méthyle THF ; CH₃ : groupe méthyle ; DHF : dihydrofolate ; MTHFR : méthylène-tétrahydrofolate réductase ; SAM : S-adenosyl méthionine ; SAHC : S-adenosyl homocystéine ; AMM : acide méthylmalonique.

Potier de Courcy (2005) a mis en évidence une forte corrélation inverse entre le niveau de folates circulants et l'homocystéinémie. Dans une méta-analyse regroupant les résultats de 12 essais randomisés de prévention des risques cardiovasculaires par les folates (et /ou la vitamine B12), et portant sur 52000 patients coronariens, la compilation indique que la supplémentation alimentaire en ces deux facteurs réduit l'homocystéinémie de 10 à 15% (Clarke R, 2005).

5.2.2. La vitamine B12

La vitamine B12 appartient à la famille des corrinoïdes. Elle est constituée d'un noyau corrine et d'un ribonucléotide reliés entre eux par un pont amino 2-propanol. La vitamine B12 est présente dans les aliments d'origine animale et est exclusivement synthétisée par les bactéries. Liée aux protéines, elle est libérée du support alimentaire dans l'estomac sous l'effet du pH acide. L'absorption digestive au niveau de l'iléon nécessite la liaison à une protéine, le facteur intrinsèque synthétisé par les cellules pariétales gastriques.

Revue bibliographique

Le transport est assuré par des transporteurs spécifiques : les transcobalamines I, II, III. La transcobalamine II est la plus importante car elle fixe plus de 80% de la vitamine B12 absorbée. C'est une glycoprotéine de 38 000 Da synthétisée par divers tissus et cellules (hépatocytes, anthérocytes, macrophages, cellules médullaires). Elle délivre la vitamine B12 aux cellules utilisatrices (moelle osseuse, foie, glandes endocrines) par un mécanisme d'endocytose récepteur-dépendant. Les transcobalamines I et III sont des glycoprotéines ubiquitaires (PM= 120 000 Da) produites essentiellement par les granulocytes, surtout les promyélocytes et myélocytes. Elles transportent la B12 sans la distribuer aux cellules utilisatrices (**Peterson J. C et al.**, 1998).

5.2.3. La vitamine B6

La vitamine B6, en tant que cofacteur de la cystathionine-beta-synthétase(CBS) et de la (CGL) (voie de transulfuration) est un important modulateur des taux plasmatiques d'Hcy. Le terme «vitamineB6 »désigne 6 composés : le pyridoxal (PL), la pyridoxine (PN), la pyridoxamine (PM), et leurs dérivés phosphorylés respectifs, le pyridoxal 5'-phosphate (PLP), la pyridoxamine 5'-phosphate (PMP) et la pyridoxine 5'-phosphate (PNP).

Dans la lumière de l'intestin grêle, le PLP et le PMP présents dans les produits animaux sont hydrolysés par une phosphatase pour être absorbés sous forme de PL et de PM par l'entérocyte, par un mécanisme de diffusion passive non saturable. Le PLP est formé par phosphorylation du PL catalysé par la pyridoxal kinase. Certains tissus (le foie, le cerveau et les érythrocytes) peuvent synthétiser le PLP à partir de la PN (présents dans les produits végétaux). Le foie est le principal site de synthèse du PLP et c'est le seul organe capable de libérer dans le sang la vitamine B6 sous forme de PLP (**Peterson J. C et al.**, 1998)

5.3. Les facteurs génétiques

Tout déficit portant sur l'un des systèmes enzymatiques impliqués dans le métabolisme de l'Hcy entraîne une augmentation de ses concentrations cellulaire, plasmatique et urinaire (**Demuth K et al.**, 2000).

Les cinq polymorphismes les plus communs des gènes impliqués dans le métabolisme des folates/homocystéine sont : la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) C677T et A1298C, la méthionine synthase (MTR) A2756G, la méthionine synthase réductase (MTRR) A66G et la cystathionine β -synthase (CBS) 844ins68. De plus, un polymorphisme portant sur une protéine de transport de la vitamine B₁₂, la transcobalamine (TCN II) C776G, a été rapporté et peut également s'associer à une hyperhomocystéinémie relative (Barbaux S *et al.*, 2000) (figure 7).

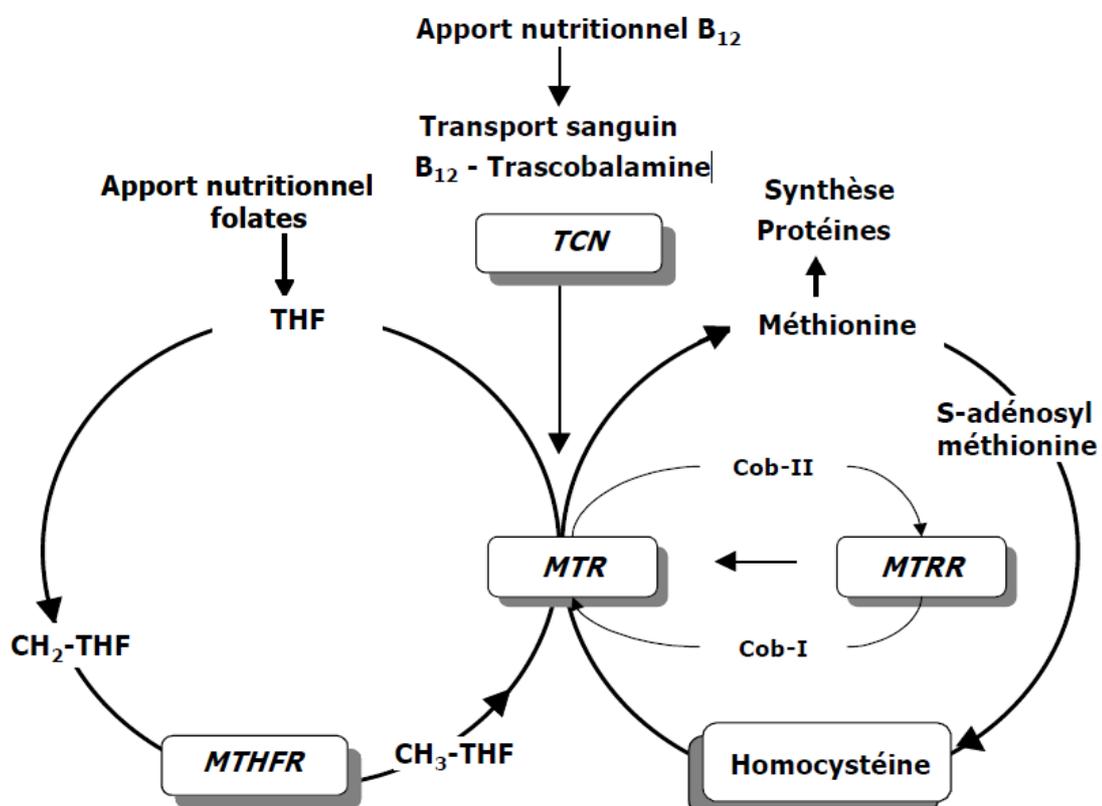


Figure 7: Gènes des enzymes intervenant dans le métabolisme de l'homocystéine (Barbaux S *et al.*, 2000).

5.3.1. Gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase MTHFR

(EC 1.5.1.20) :

Le gène de la MTHFR fut localisé par Goyette *et al.* En 1994 sur le chromosome 1 (Goyette P *et al.*, 1994). Le gène de la MTHFR comprend 11 exons (Goyette P *et al.*, 1998) Plus tard, Gaughan *et al.* ont montré que le gène ne contient pas TATA box, mais contient plusieurs îlots CpG très importants pour les sites d'union pour des autres facteurs de

Revue bibliographique

transcription. MTHFR catalyse la formation de 5 méthyl- THF à partir de méthylène-THF 5.10 (Gaughan D. J *et al.*, 2000) Ce dérivé méthylé du THF est nécessaire pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine. Le polymorphisme C677T (substitution d'une alanine pour une valine), rend MTHFR thermolabile avec une diminution de 50% de son activité (Frosst P *et al.*, 1995) Deux autres polymorphismes de type SNP ont été identifiés dans le gène *MTHFR*, *A1298C* et une mutation silencieuse *T1317C* (Akar N *et al.*, 2000).

La prédominance du polymorphisme *C677T* est relativement élevée dans la population Générale. (Brattstrom L *et al.*, 1998) la prédominance des homozygotes 677TT est particulièrement commune au nord de la Chine (20%), le sud de l'Italie (26%), Mexico (26%), la population caucasienne (5 a 15%). La figure 8 montre la prévalence de l'homozygotie de l'allèle 677T par régions. Heureusement, l'interaction entre les prédispositions génétiques (677TT) et des paramètres non-génétiques (acide folique alimentaire, suppléments vitaminiques) est susceptible de prévenir certaines manifestations cliniques associées a une légère déficience en MTHFR (Leclerc D *et al.*, 2007).

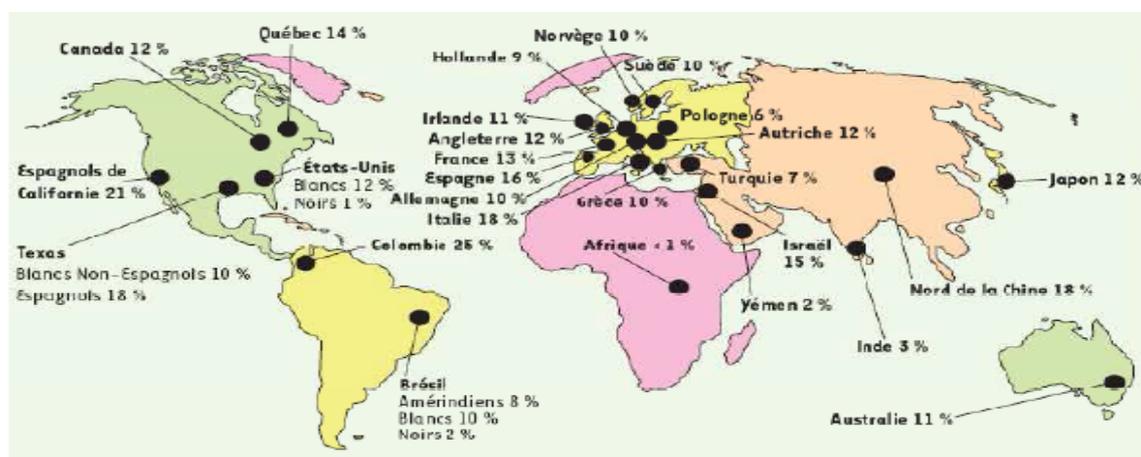


Figure 8 : Fréquence des homozygotes 677TT pour différentes régions géographiques (Leclerc D *et al.*, 2007) L'origine ethnique est aussi indiquée pour certaines populations.

5.3.2. Gène de la méthionine synthèse MS ou MTR (EC 2.1.1.13)

L'augmentation du niveau d'Hcy peut aussi résulter du dysfonctionnement de la MTR. Le substrat de cette enzyme est le 5-méthyltétrahydrofolate qui est produit par les réactions catalysées via la MTHFR. Le cofacteur de la méthionine synthase est la cobalamine

qui participe au transfert du groupe méthyl de la 5-méthylènetétrahydrofolate à l'Hcy. Les produits de cette réaction sont la méthionine et le tétrahydrofolate qui entrent encore dans le cycle des folates. La liaison de la cobalamine avec l'enzyme peut prendre trois formes : le premier est la (cob (I) alamine) qui peut être oxydée en (cob (II) alamine), menant à l'inactivation de l'enzyme. L'activation de l'enzyme dépend des réactions de méthylation, qui produisent la forme active de la cobalamine (cob(III) alamine). Le donneur du groupe méthyl dans cette réaction est le SAM, les électrons proviennent du NADPH et tout le processus est catalysé par la MTR. Le gène humain qui code pour la MTR a été localisé sur le chromosome 1 (1q43). Il est composé de 12 exons et code pour une protéine composée de 1265 acides aminés (**Monika G et al.**, 2002).

Le polymorphisme le plus courant dans le gène de la MTR est la substitution A2756G sur l'exon 8 qui mène au changement de l'acide aspartique en glycine. Les mutations de la MTR peuvent produire une diminution de son activité et par conséquent l'augmentation de l'Hcy et jouer un rôle dans la tumorigénèse, le retard mental (Syndrome de Down) et les MCV (**Monika G et al.**, 2002).

5.3.3. Gène de la méthionine synthase réductase MSR ou MTRR

(EC 2.1.1.135)

La MTR est responsable de la régulation de la MS par méthylation. La MTRR est un membre de la famille des transférases d'électrons et possède trois sites caractéristiques qui lient le FMN, le FAD et le NADPH. Le gène de la MTRR a été localisé sur le chromosome 5 (5p15.3- p15.2), c'est un gène de « ménage » car son niveau d'expression est bas et presque le même dans les tissus examinés. Le gène est composé de 15 exons et sa région promotrice ne contient pas de TATA box (**Monika G et al.**, 2002)

Le polymorphisme le plus commun dans le gène de la MTRR est la substitution A66G menant à une substitution de l'isoleucine par la méthionine. MTRR 66GG peut théoriquement influencer le métabolisme de la vitamine B12 (**Jaimie D et al.**, 2004).

5.3.4. Gène de la cystathionine β -synthase CBS (EC 4.2.1.22)

La CBS catalyse la condensation de la serine et de l'Hcy pour former la cystathionine. C'est une protéine cytoplasmique formée de quatre monomères identiques. Chaque sous unité peut lier le phosphate de pyridoxal (PLP : dérive de la vitamine B6), la molécule de SAM (un activateur allostérique de la protéine) et la molécule de l'hème. Le gène qui code pour la CBS a été localisé sur le chromosome 21 (21q22.3) dans la région correspondante au phénotype du syndrome de Down. Ce gène est constitué de 23 exons mais seulement les exons 1, 14 et 16 codent pour la séquence peptidique de 551 acides aminés (**Monika G et al.**, 2002).

Environ 100 mutations dans le gène de la CBS associées à l'homocystéinurie ont été identifiées. Les deux mutations les plus fréquentes se trouvent sur l'exon 8, représentent 55% des mutations recensées : une transition T833C qui conduit à une substitution de l'isoleucine à la thréonine (I278T) et une transition G919A qui conduit à la substitution G307S.

La variation la plus courante dans le gène de la CBS consiste en une insertion de 68 pb (844ins68) dans la région codante pour l'exon 8 et devrait conduire à une enzyme ayant une activité plus importante par rapport à l'enzyme normale (**Causse E et al.**, 2001; **Ge Y et al.**, 2002). La fréquence de ce polymorphisme est de 5 à 10% chez les caucasiens. Il est absent chez les asiatiques et a une large prédominance chez les noirs (37,7% d'hétérozygotes et 4% d'homozygotes) (**Ankri et al.**, 2001)

5.3.5. Gène de la transcobalamine TCN II

La transcobalamine II (TCN II) est une globuline plasmatique de transport de la vitamine B12. Son absence provoque une anémie mégalo-blastique sévère détectée dès l'enfance. Le gène de la TCN II localisé sur le chromosome 22 (22q12.q13) et composé de 9 exons et 8 introns, peut présenter plusieurs polymorphismes à l'origine de modifications de la concentration plasmatique en Hcy.

La mutation la plus commune correspond à la substitution d'une base cytosine par une base guanine en position 776 (C776G). La conséquence au niveau protéique est le remplacement d'une arginine par une proline en position 259. L'allèle TCN 776G diminue la

transcription de la TCII et il existe par conséquent une diminution de la concentration plasmatique en TCII. L'influence faible de l'allèle TCN 776G sur la concentration de l'Hcy a été documentée dans des populations caucasiennes. Par contre, l'association des formes mutées de la MTHFR et de la TCN favorise l'apparition d'une hyperhomocystéinémie sévère chez l'embryon et augmente le risque d'avortement spontané. (**Quere I** *et al.*, 1998).

Partie II :

Partie Pratique

I-Matériel
et
Méthodes

I.1. Population d'étude

Il s'agit d'une étude d'observation portant sur 30 sujets (hommes et femmes), volontaires et en bonne sante apparente, âgés entre 35 et 65 ans, recrutés parmi la population de différentes régions de Constantine, dans la période du 01 Mars au 30 Mai.

Tous étaient recrutés sur la base de l'absence de maladies connues. Tous les sujets ont répondu à un questionnaire, une mesure des paramètres anthropométriques et une prise de sang.

I.2. Conditions de prélèvements des échantillons sanguins

Les prélèvements sanguins ont été réalisés au niveau de la veine du pli du coude après pose d'un garrot ; chez des sujets à jeun et en position demie-assise.

Nous avons prélevé pour chaque patient 3ml de sang sur un tube contenant de l'héparinate de lithium. Immédiatement conservé dans de la glace, rapidement centrifugé à 4000 tr/mn pendant 15 mn et conservé à -80°C jusqu'à analyse.

I.3. Recueil des échantillons

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

Les plasmas héparine ou EDTA sont particulièrement recommandés, mais le sérum est également utilisable. Il est important de séparer le plasma ou sérum des cellules dès que possible après prélèvement, car la synthèse d'homocystéine peut avoir lieu dans les hématies après le prélèvement. Les échantillons doivent être conservés dans la glace entre le prélèvement et la centrifugation.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Les conditions de conservation sont de 14 jours à 2 à 8 °C ou 6 mois à -20 °C.

I.4. Méthode de dosage

Dans notre travail, le dosage de l'Homocystéine total a été réalisé au niveau de laboratoire de biochimie du CHU de Constantine selon la technique d'immuno-chimiluminescence sur analyseur de type IMMULITE 1000 (siemens).

I.5. Principe du test

C'est un dosage quantitatif de la L-homocystéine dans le plasma ou sérum dans un analyseur qui est l'IMMULITE 1000, et qui est fait par un immunodosage par compétition. Le test IMMULITE homocystéine inclut une étape préliminaire manuelle de prétraitement des échantillons. La solution de travail de prétraitement est préparée comme suit : On fait une dilution de la solution B de prétraitement (dithiothreitol) au 1/10 dans l'eau distillée ou désionisée, la solution obtenue est mélangé à une quantité égale avec la solution A de prétraitement (S-adénosyl-L-homocystéine). La quantité de la solution de travail de prétraitement est préparée en fonction du nombre d'échantillons à analysés.

Exemple : 1 ml de solution A avec 1 ml de solution B suffit pour 6 échantillons.

On ajoute par la suit 300 μ l de solution de travail de prétraitement avec 15 μ l du sérum.

L'homocystéine des échantillons plasmatique ou sériques de patients est séparée des protéines de liaison et convertie en S-adénosyl homocystéine (SAH) après une incubation de 30 minutes à 37°C en dehors du système et en présence des deux solutions de prétraitement A et B.

L'échantillon prétraité et l'anticorps anti-SAH marqué à la phosphatase alcaline sont introduits simultanément dans l'unité test qui contient une bille de polystyrène recouverte de SAH. Pendant une incubation de 30 minutes, le SAH provenant de l'échantillon prétraité entre en compétition avec le SAH fixé pour se lier à l'anticorps anti-SAH marqué à la phosphatase alcaline. Le conjugué non lié est éliminé par le lavage et séparé par centrifugation.

I.6. Interférence

-Bilirubine : La présence de la bilirubine conjuguée et non conjuguée ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

-Hémolyse : la présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 512 mg/dl.

-Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

I.7. Limite

Les échantillons provenant de patients suivant une thérapie médicamenteuse comprenant S-adenosyl méthionine peuvent donner des résultats d'homocystéine faussement élevés. Bien que l'analyse de composés apparentés à la carbamazépine, à la 6-azauridine et à l'anthoptérine n'indique pas de réaction croisée, les échantillons prélevés sur des patients traités avec l'un de ces médicaments ainsi qu'avec du méthotrexate, de l'oxyde nitreux ou autre anti-convulsivant, doivent être interprétés avec précaution, ces substances montrant des interférences avec certains tests de l'homocystéine.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosage in vitro (voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies : a problem for all immunoassays Clin Chem 1988 :34:27-33.) les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

I.8. Valeurs normales

Les taux d'homocystéine peuvent varier avec l'âge, le sexe, le lieu géographique et les facteurs génétiques, aussi il est important pour les laboratoires d'établir leurs propres valeurs de référence en fonction de la population locale. La littérature suggère un domaine de référence de 5-15 micromole/l pour les hommes et femmes adultes, mais fait également remarquer que les hommes ont tendance à avoir des taux plus élevés que chez les femmes et que les femmes ménopausées ont tendance à avoir des taux plus élevés que les femmes non ménopausées.

II-Résultats

Résultats Epidémiologique

II.1. Caractéristique de l'échantillon

II.1.1. données selon sexe et âge

Notre étude a porte sur 30 adultes volontaires et en bonne sante apparente, âges de 35 à 65 ans. Notre échantillon comporte 13 hommes et 17 femmes, représentent des proportions respectives de 56.66% et 43.33%(tab III et fig 9).

Tableau III: Distribution de l'échantillon selon le sexe.

Sexe	F	H	Totale
Effectifs	17	13	30
%	56.66%	43.33%	100%

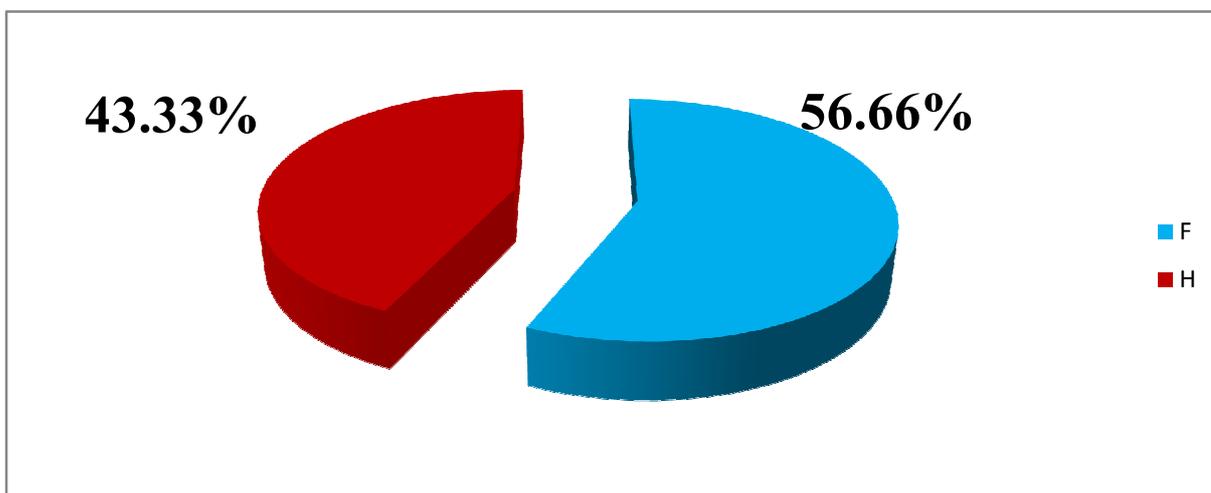


Figure 09 : Répartition de l'échantillon selon le sexe.

L'âge moyen est compris entre $46,36 \pm 16.66$ ans, avec une distribution de 50% d'individus âgés entre 35-44 ans, 33.33% âgés entre 45-54ans et 16.66% âgés entre 55-65ans. (Tab IV et fig 10).

Résultats

Tableau IV: Distribution de l'échantillon selon la tranche d'âge.

tranche d'âge (ans)	35-44	45-54	55-65
Effectifs	15	10	5
%	50%	33.33%	16.66%

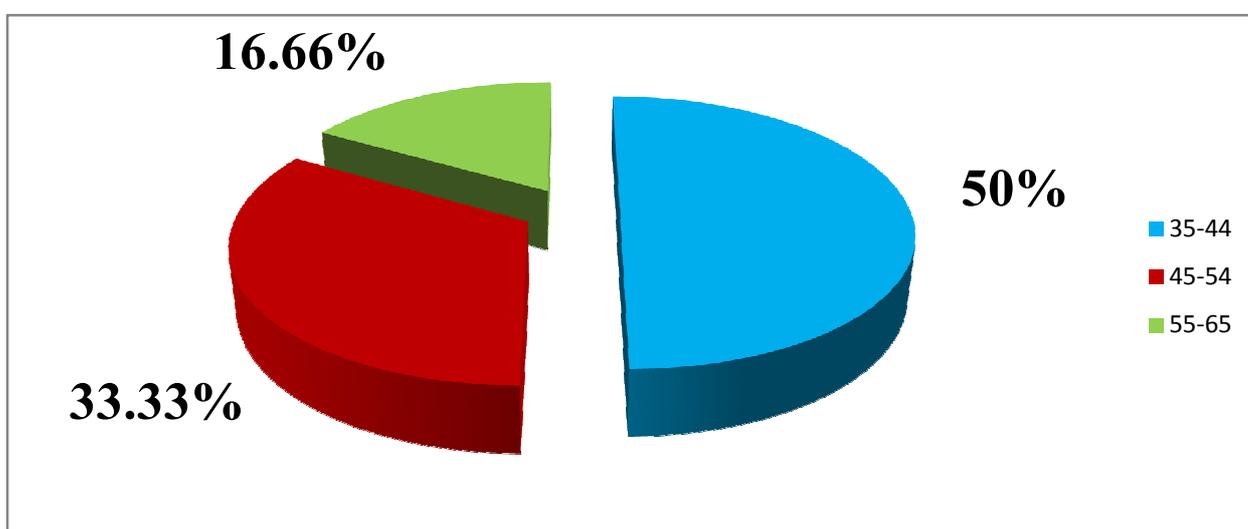


Figure 10 : Répartition de l'échantillon selon la tranche d'âge.

L'âge moyen chez les femmes est $45,59 \pm 5.9$ ans, 47.05% entre 35-44 ans, 41.17% entre 45-54 ans et 11.76% entre 55-65 ans.

Chez les hommes l'âge moyen est $47,38 \pm 7.70$ ans, avec une distribution de 53.84% d'individus âgés entre 35-44 ans, 23.07% âgés entre 45-54 ans et 23.07% d'âge compris entre 55-65 ans. (Tab V et fig 11).

Tableau V: Distribution de l'échantillon selon la tranche d'âge et le sexe.

Femmes			
tranche d'âge(ans)	35-44	45-54	55-65
Effectifs	8	7	2
%	47.05%	41.17%	11.76%
Hommes			
tranche d'âge(ans)	35-44	45-54	55-65
Effectifs	7	3	3
%	53.84%	23.07%	23.07%

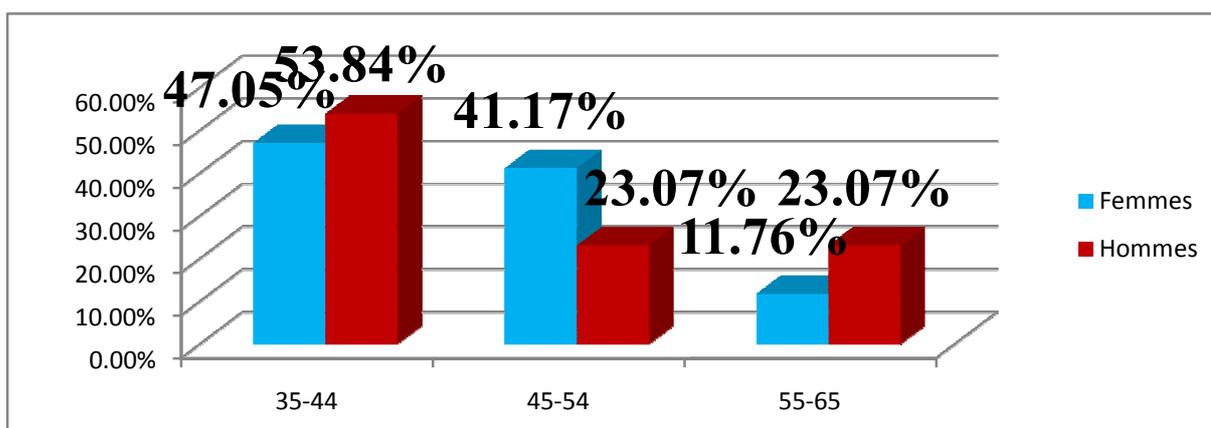


Figure 11 : Répartition de l'échantillon selon la tranche d'âge et le sexe

II.1.2. données sur l'indice de masse corporelle et leur tour de taille

II.1.2.a. Répartition de la population adulte par niveau d'IMC

Les valeurs de l'indice de la masse corporelle obtenues, dans la population enquêtée, sont indiquées dans le tableau VI et figure 12. Ces dernières font apparaître que 63.33% de personnes représentent un poids normal (IMC compris entre 25-34 Kg/m²) et 23.33% sont d'un poids insuffisant (IMC < 25 Kg/m²). Il est à noter que 6.66% (IMC compris entre 35-45 Kg/m²) représentent une obésité sévère ou de classe II et 6.66% (IMC ≥ 46 Kg/m²) une obésité morbide ou de classe III.

Résultats

Tableau VI : Distribution des différentes classes d'IMC

IMC(Kg/m ²)	<25	25-34	35-45	≥46
Effectifs	7	19	2	2
%	23.33%	63.33%	6.66%	6.66%

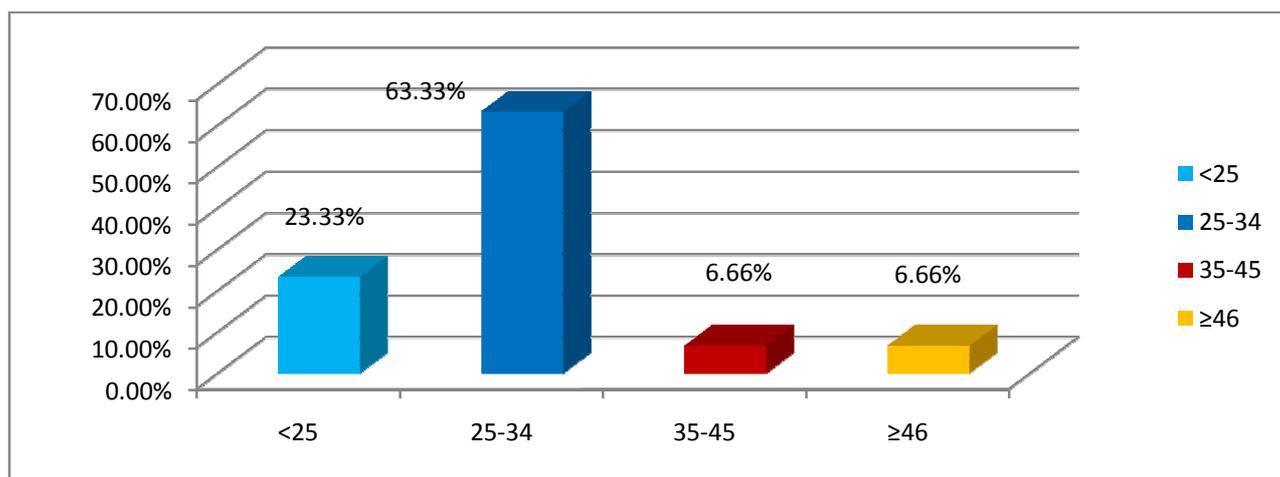


Figure 12 : Répartition selon les différentes classes d'IMC.

II.1.2. b. Répartition des hommes et des femmes en fonction de leur tour de taille

La répartition de l'échantillon par tour de taille (Tab VII et fig13), montre que 17.64% de femmes ont un tour de taille de 95-105cm et 32.52% pour 106-116 cm. 0% d'hommes présentent un tour de taille de 106-116 cm.

Tableau VII: Distribution des fréquences de tour de taille selon le sexe

Femmes							
Tour de taille (cm)	73-83	84-94	95-105	106-116	117-127	≥128	Totale
Effectifs	3	6	3	4	1	0	17
%	17.64%	35.29%	17.64%	32.52%	5.88%	0%	100%
Hommes							
Tour de taille (cm)	73-83	84-94	95-105	106-116	117-127	≥128	Totale
Effectifs	2	5	4	0	0	2	13
%	15.38%	38.46%	30.76%	0%	0%	15.38%	100%

Résultats

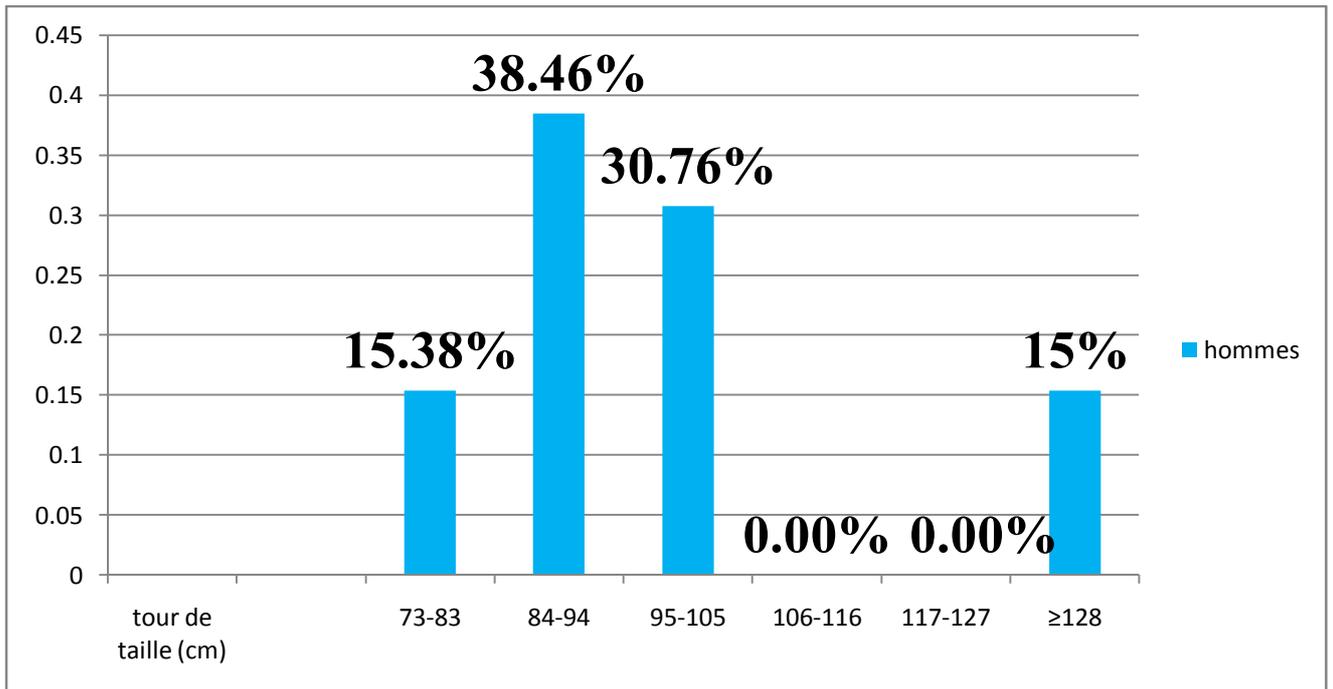


Figure 13A : Répartition des hommes en fonction de leur tour de taille (cm).

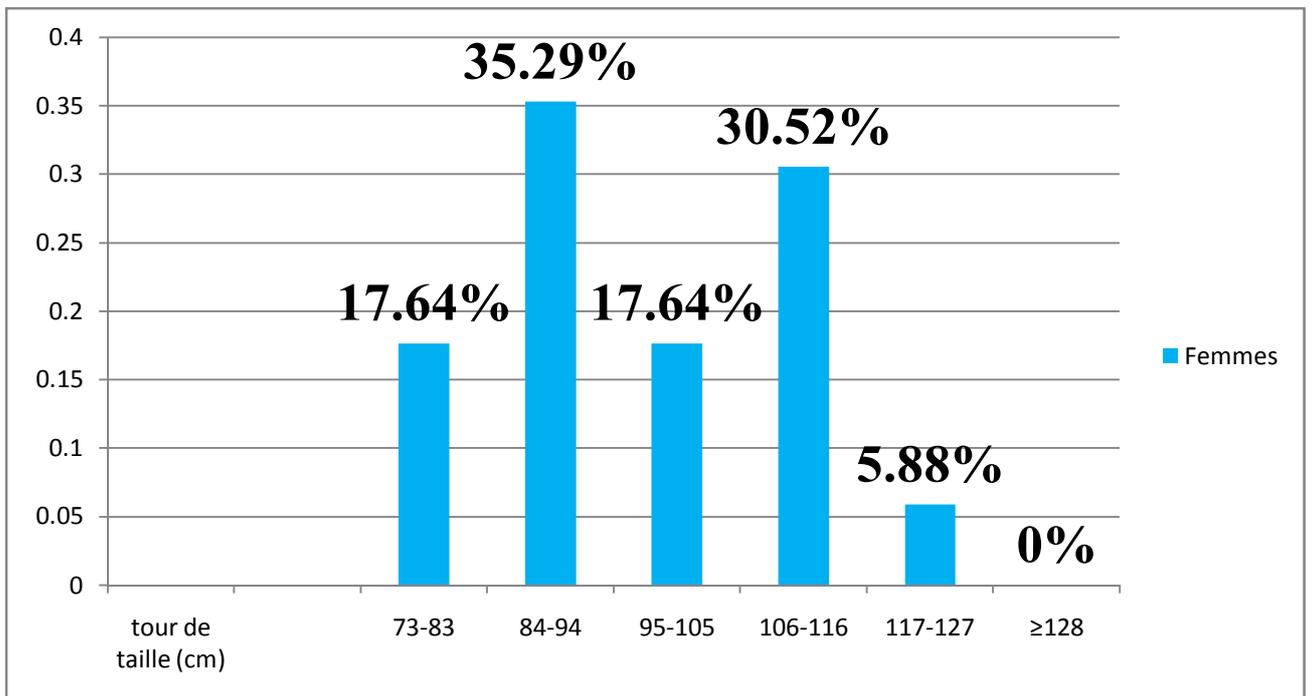


Figure 13B : Répartition des femmes en fonction de leur tour de taille (cm).

II.2. Données sociologiques

II.2.1. Répartition de la population adulte en fonction de l'activité physique

Le tableau VIII et la figure 14, indiquant la répartition de l'échantillon selon l'activité physique montrent que 23,33% d'individus pratiquent le sport et 76.66% n'exercent aucune activité physique.

Tableau VIII: Distribution de l'échantillon selon l'activité physique

	Non sportifs	Sportifs	Totale
Effectifs	23	7	30
%	76.66%	23.33%	100%

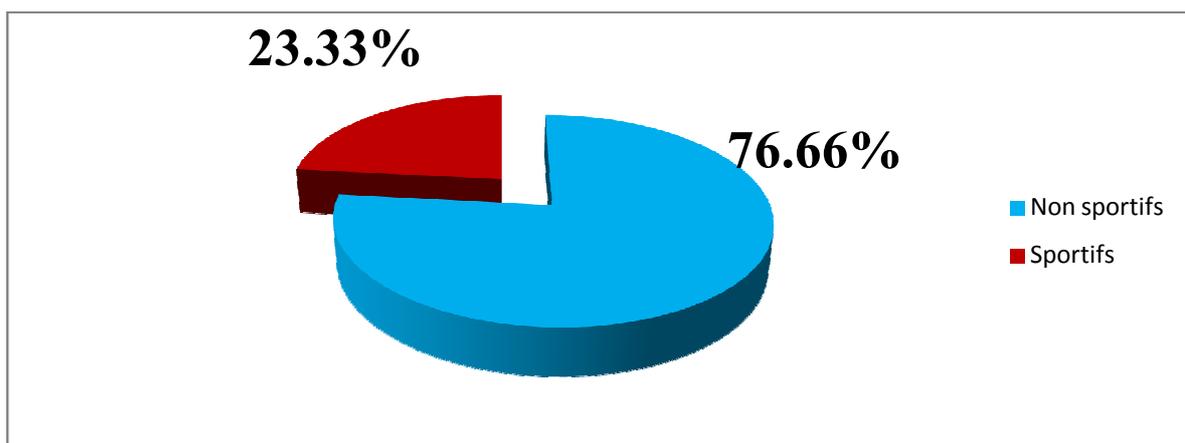


Figure 14 : Répartition selon l'activité physique.

II.2.2. Répartition de la population adulte en fonction de tabagisme :

Tableau IX et figure 15, indiquant la répartition de l'échantillon selon le tabagisme montrent que 23,33% d'individus fumeur et 76.66% non fumeur.

Tableau IX: Distribution de l'échantillon selon le tabagisme

	Non fumeur	Fumeur	Totale
Effectifs	23	7	30
%	76.66%	23.33%	100%

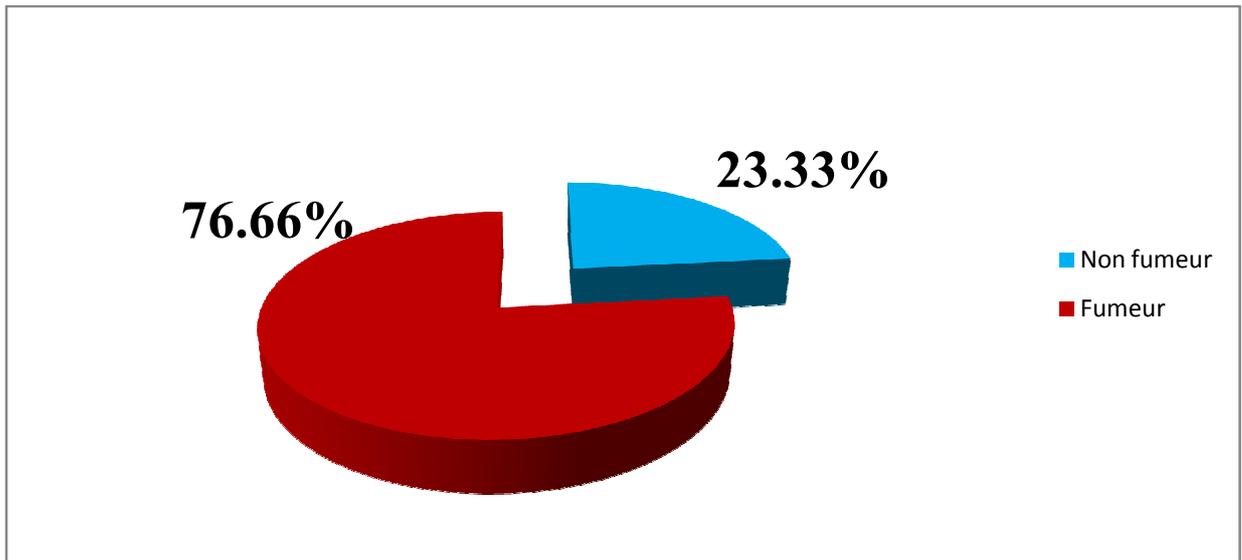


Figure 15 : Répartition de l'échantillon selon le tabagisme.

II.3. Variation du taux d'homocystéine

II. 3.1. Variation du taux d'homocystéine selon le sexe

Tableaux X: La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon le sexe :

Sexes	Hommes	Femmes
Moyenne d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$)	9.65 \pm 1.89	8,01 \pm 2.19

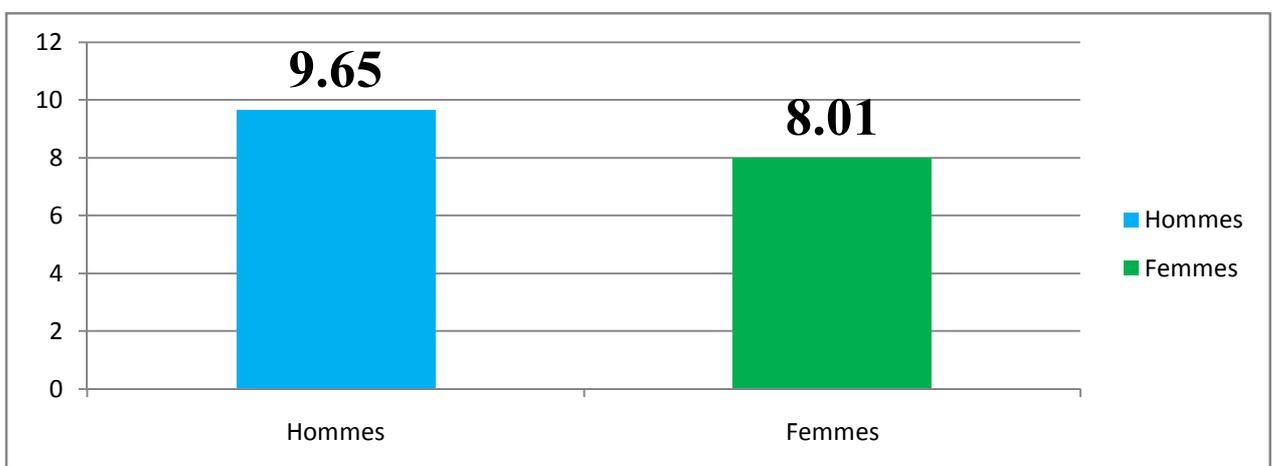


Figure 16 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$) selon le sexe.

La moyenne d'Hcy chez l'homme plus élevée chez la femme.

II. 3.2. Variation du taux d'homocystéine selon l'âge

Tableaux XI: La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon l'âge.

Tranche d'âge (ans)	35-44	45-54	55-65
Moyennes ($\mu\text{mol/l}$)	8.91 \pm 2.29	8.34 \pm 2	8.93 \pm 2.68

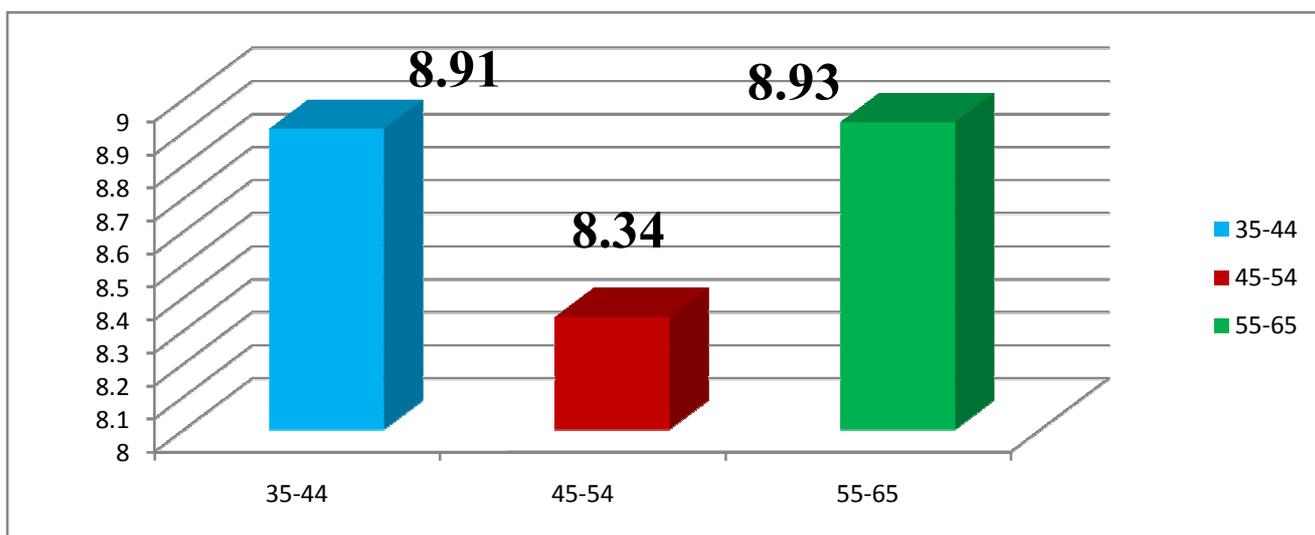


Figure 17 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$) selon l'âge.

Le taux d'homocystéine est très élevé surtout dans les tranches d'âge 35-44ans et 55-65ans.

II.3.3. Variation du taux d'homocystéine selon l'IMC

Tableau XII : La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon l'IMC

IMC(Kg/m ²)	<25	25-34	35-45	\geq 46
Doyennes d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$)	10.07 \pm 1.94	8.29 \pm 2.38	8 \pm 0.8	8.9 \pm 1.30

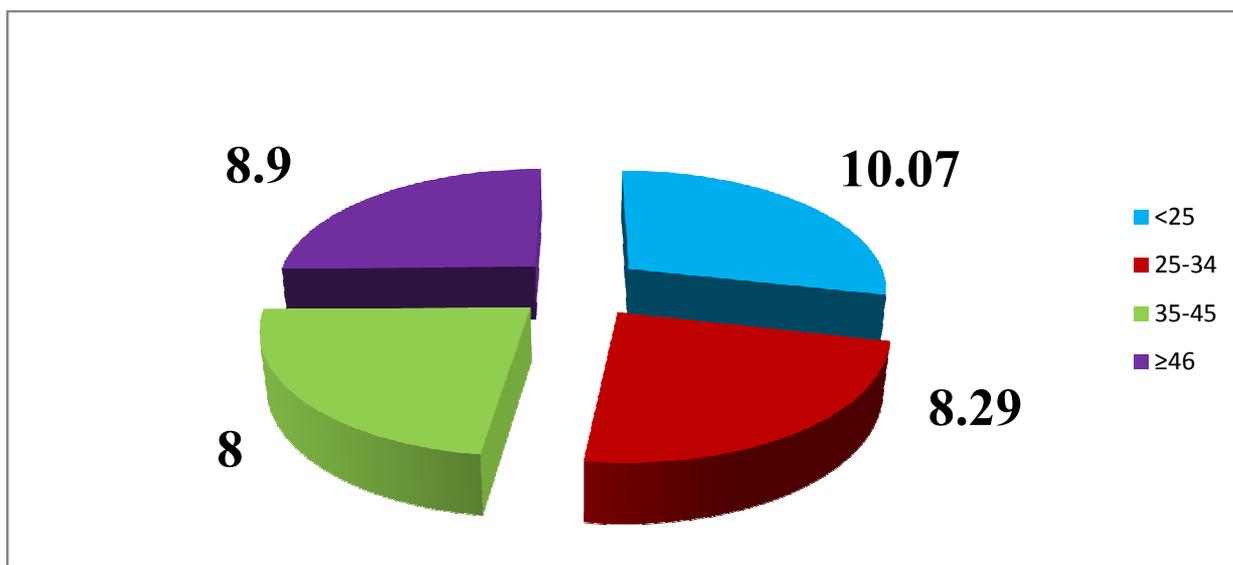


Figure 18 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy (µmol/l) selon l'IMC.

Le taux d'homocystéine est très élevé surtout dans l'IMC<25Kg/m2 et l'IMC≥46Kg/m2.

II.3.4. Variation du taux d'homocystéine selon l'activité physique

Tableau XIII : La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon l'activité physique

	Non sportifs	Sportifs
Moyenne d'Hcy (µmol/l)	8.68±2.30	8.85±1.97

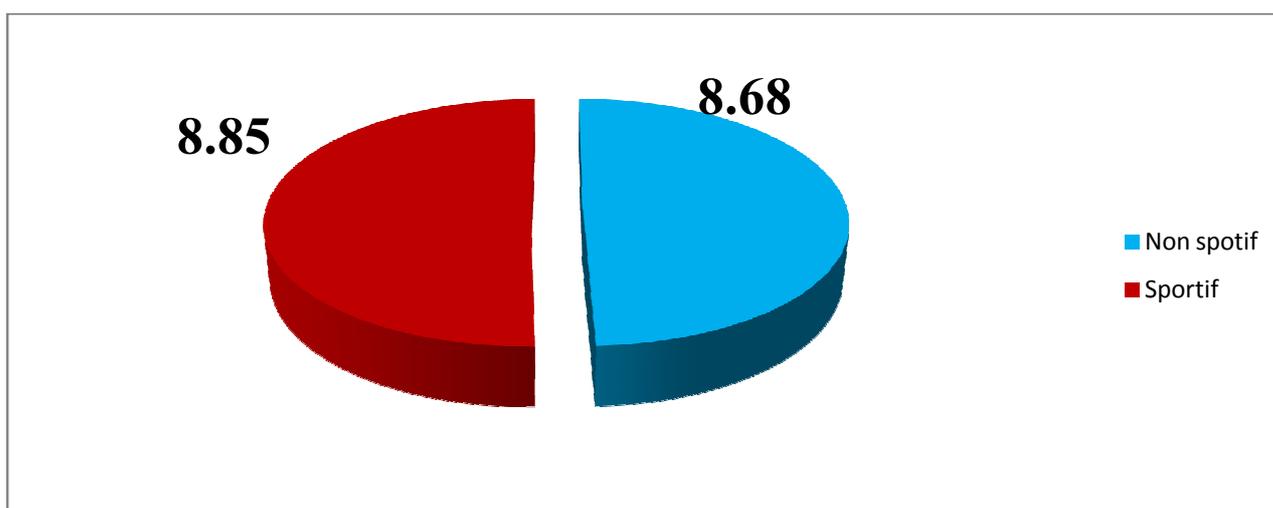


Figure 19 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy (µmol/l) selon l'activité physique.

Le taux d'homocystéine est élevé chez les sportifs par rapport à les non-sportifs.

II.3.5. Variation du taux d'homocystéine selon le tabagisme

Tableau XIII : La Distribution de la moyenne et de l'écart-type du taux d'homocystéine selon le tabagisme

	Non-fumeur	Fumeur
Moyenne d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$)	8.14 \pm 1.9	10.64 \pm 2.13

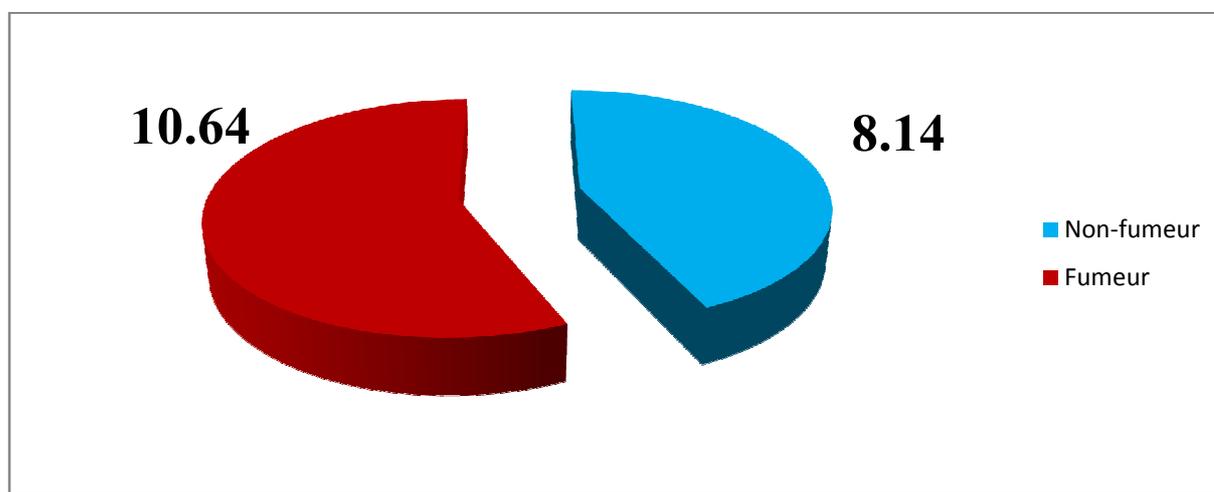


Figure 20 : Répartition de la moyenne du taux d'Hcy ($\mu\text{mol/l}$) selon le tabagisme. Le taux d'homocystéine est élevé chez les fumeurs par rapport à les non-fumeurs.

III-Discussion

III. Discussion

Dans les résultats de notre travail âge minimal de 35 ans et un âge maximal de 65 ans. La moyenne d'âge de notre échantillon est de 46,36 ± 16.66 ans. La moyenne d'Hcy est élevée dans les tranches d'âge [35-44] [55-65] (8,91±2.29 et 8,34±2 μmol/l) par rapport à la tranche d'âge [45-54] (8.93±2.68 μmol/l).

Cependant, Plusieurs études publiées et réalisées sur des échantillons de petite ou de grande taille ont rapporté que les taux de tHcy sont positivement corrélés avec l'âge et plus élevés dans le sexe masculin que féminin (**Brattstrom L et al.**, 1994; **Koehler et al.**, 1996; **Ma et al.**, 1996; **Friedman et al.**, 1999; **Russo et al.**, 2003). Une part importante de la relation avec l'âge chez les femmes peut être attribuée à la ménopause. En effet, les concentrations élevées en tHcy ont été trouvées essentiellement chez les femmes postménopausées (**Andersson A et al.**, 1992).

L'augmentation croissante de la concentration moyenne de l'Hcy en fonction de l'âge, retrouvée dans notre étude, était en accord avec ce qui a été rapporté dans la littérature (**Abdella N et al.**, 2000; **Vangelber E et al.**, 2006 ; **Ferjani w et al.**, 2011).

Concernant la différence selon le sexe, il a été démontré que les hommes ont une augmentation moyenne de 1 μmol/L de tHcy par rapport aux femmes, alors qu'aux États Unis, cette augmentation était de l'ordre de 1,9 μmol/L (**Ganji V et al.**, 2003). La moyenne d'âge des sujets de sexe masculin est de 47,38±7.70 ans, elle est à 45,59±5.9 ans pour les sujets de sexe féminin. Similairement ce qu'on a présagé, les moyennes d'Hcy chez les hommes (9.65±1.89 μmol/l) sont élevées par rapport à les femmes (8,01±2.19 μmol/l). La différence des valeurs entre les deux sexes pourrait être expliquée par l'état hormonal de la femme, la masse musculaire de l'homme et les différences liées au style de vie des deux sexes (**Chadefaux-Vekemans B**, 1993 ; **Buyschaert M et al.**, 2003).

Dans notre étude l'augmentation des moyennes d'Hcy n'est pas associée avec l'augmentation de l'IMC, où la moyenne d'Hcy est très élevée surtout dans l'IMC<25Kg/m² et l'IMC≥46Kg/m² (10.07±3.79 μmol/l, 8.9±1.7 μmol/l). Dans notre étude La prévalence de l'obésité est 6.66%. Elle a presque doublée durant 10 ans au sein de la population constantinoise (7.55 %) (**Abadi N**, 1998). Cependant elle est inférieure à celle trouvée en

Discussion

Europe de (25.7 à 26.3%) (**Winiszewski P et al.**, 1991) et à celle de l'USA (33%) (**Erica Research Group**, 1988).

La moyenne de l'IMC dans notre étude est de $(8.9 \pm 1.30 \mu\text{mol/l})$, elle est intermédiaire entre celle trouvée en Asie d'une part et d'autre part en Europe, en Amérique du Sud, et en Afrique. L'IMC était le plus faible en Asie du Sud-Est (24.9), en Chine (24.4) ; intermédiaire en Europe centrale et de l'Est (26.7), en Amérique du Sud (26.7), en Afrique (26.7) et en Europe occidentale (26.5). L'IMC le plus élevé était noté en Amérique du Nord (27.7), au Moyen-Orient (27.4), en Australie et en Nouvelle-Zélande (27.0). On noté de plus une répartition différente d'un pays à l'autre en fonction de l'IMC.

Grand intérêt l'étude transversale par Saw et al (**Saw S. M et al.**, 2001), qui a trouvé plusieurs déterminants pertinents des concentrations plasmatiques d'homocystéine chez les sujets chinois. Plusieurs facteurs alimentaires et de mode de vie ont été abordés dans les analyses, Augmentation de l'adiposité corporelle peut être associée à une augmentation de l'homocystéine plasmatique (**Jacques P. F et al.**, 2001), et l'étude semble avoir été bien adaptée pour étudier cet effet. Les auteurs devraient également envisager indice de masse corporelle comme un facteur de confusion dans les associations qu'ils ont trouvé entre l'âge et le sexe et l'homocystéine plasmatique.

Dans notre résultats la moyennes d'Hcy chez les sujet actifs est $(8.85 \pm 1.97 \mu\text{mol/l})$ élevé légèrement Par rapport chez les sujet non actif qui est $(8.68 \pm 2.30 \mu\text{mol/l})$ cette résultats ne concordent avec ceux qui indiquent que le manque d'exercice résulte l'élévation de la concentration plasmatique de l'homocystéine (**Buysschertm et al.**, 2003). Mais elle est conforme à l'étude de Francesco Fazio et al (**Francesco Fazio et al.**, 2010) qui déduisent que l'activité physique provoque biochimique changements qui peuvent influencer sur la voie métabolique de l'homocystéine.

En plus d'autre étude montre que l'activité physique peut diminuer les concentrations d'homocystéine en augmentant le catabolisme méthionine et la disponibilité de la vitamine B (**Konig et al.**, 2003; **Nascimento et al.**, 2011; **Paul et al.**, 2012).

Concernant la variation d'Hcy selon le tabagisme dans notre résultats l'élévation de la concentration plasmatique en Hcy est observé chez les fumeurs $(10.64 \pm 2.13 \mu\text{mol/l})$ par

Discussion

rapport les non fumeurs ($8.14 \pm 1.97 \mu\text{mol/l}$), ces résultats confirment le travail des autres dans l'étude Norvégienne "Hordaland" de près de 25 000 d'âge moyen (40-42 ans) et plus âgés (65-67 ans) adultes de la concentration plasmatique de l'homocystéine totale était positive

en corrélation avec le nombre de cigarettes fumées (**Nygaard O** *et al.*, 1995; **Anna Stanislawska-Sachadyn** *et al.*, 2008). Une autre étude a révélé que La consommation régulière de tabac à l'origine de nombreuses pathologies en altérant le métabolisme des folates mais peut être également en diminuant les réserves en vitamine B6 (**Chellak S** *et al.*, 2005 ; **Héline Delish**, 2010). Cependant d'autre étude montre que l'augmentation du taux d'Hcy chez les fumeurs à cause d'une substance qu'est l'acide nicotinique (**Stalder M** *et al.*, 2007).

Conclusion

CONCLUSION

L'étude que nous avons entreprise est une étude d'observation qui a porté sur 30 sujets (hommes et femmes), volontaires et en bonne santé apparente, âgés entre 35 et 65 ans, recrutés parmi la population de Constantine.

Le dosage de l'Homocysteine totale a été réalisé au niveau de laboratoire de biochimie du CHU de Constantine selon la technique d'immuno-chimiluminescence sur analyseur de type IMMULITE 1000 des laboratoires siemens.

Au cours de notre étude nous avons essayé d'établir les liens possibles entre les facteurs environnementaux et la variation du taux d'Hcy. Suite aux résultats obtenus nous avons trouvé une association positive entre l'âge, le sexe masculin, le tabac et l'élévation du taux plasmatique de l' Hcy.

Cependant l'IMC et l'activité physique ne montrent pas de corrélation avec le tHcy ; cela peut être due au petit nombre de sujets étudiés. Des travaux complémentaires sur des effectifs plus grands restent nécessaires.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abadi N. (1998) Contribution à l'étude des lipides dans la population de référence de la ville de Constantine et les maladies cardio-vasculaires.

Abdella N., Mojiminiyi O., Akanji A. (2000) Homocysteine and endogenous markers of renal function in type 2 diabetic patients without coronary heart disease. *Diab Res Clin Pract*; 50: 177-85.

Akar N., Akar E., Akcay R., Avcu F., Yalcin A., Cin S. (2000) Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-T, 1298 A-C, and 1317 T-C on factor V 1691 mutation in Turkish deep vein thrombosis patients. *Thromb Res*; 97: 163-7.

Andersson A., Brattstrom L., Israelson B., Isaksson A., Hamfelt A., Hultberg B. (1992) Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender and menopausal status. *Eur J Clin Investig*; 22: 79–87.

Anderson A., Hultberg B., Brattstrom L., Isaksson A. (1992) Decreased serum homocysteine in pregnancy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*; 30: 377-379.

Anderson J. L., Mulhalestein J. B., Horne B. D. (2000) Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Circulation*; 102: 1227-1232.

Ankri. et al. (2002) Journées nationales homocystéine Paris, 28 et 29 septembre 2001. *Ann Biol Clin*; 60(3): 356-369.

Anna Stanislawska-Sachadyn., Jayne V., Woodside., Karen S., Brown., Ian S., Young., Liam Murray., Helene McNulty., Strain J. J., Colin A., Boreham., John M., Scott., Alexander S., Whitehead., Laura E., Mitchell. (2008) Evidence for sex differences in the determinants of homocysteine concentrations *Molecular Genetics and Metabolism*. 93; 355–362.

Asma El Mabhour., Victoire Agueh., Hélène Delisle. (2010) Homocystéinémie: déterminants et relation avec les facteurs de risque cardiométabolique au Bénin (Afrique de l'Ouest) *Presse Med*; 39: 238–246.

Assmann G., Carmena R., Valencia P. C., Münster J. C., Fruchart, Lewis B., Mancini M., Olsson A., Linköping R., Paoletti, Milan M. T., Helsinki. (1998) Maladie coronarienne : réduire le risque. *Nouvelle Société Française d'Athérosclérose*.

Références bibliographiques

- Barbaux S., Kluijtmans L. A., Whitehead A. S.** (2000) Accurate and rapid “multiplex heteroduplexing” method for genotyping key enzymes involved in folate/homocystéine metabolism. *Clin Chem*; 46: 907-912.
- Bar-On H., Kidron M., Friedlander Y.** (2000) Plasma total homocysteine levels in subjects with hyperinsulinemia. *J Intern Med*; 247: 287-294.
- Bergmark C., Mansoor M. A., Svardal A., de Faire U.** (1997) Redox status of plasma homocysteine and related aminothiols in smoking and nonsmoking young adults. *Clin Chem*; 43: 1997-1999.
- Blacher J. M.** (2007) Homocystéine, vitamine du groupe B et pathologies cardiovasculaire.
- Blom H. J., Boers G. H., van den Elzen J. P., van Roessel J. J., Trijbels J. M., Tangerman A.** (1988) Differences between premenopausal women and young men in the transamination pathway of methionine catabolism, and the protection against vascular disease. *Eur J Clin Invest*; 18: 633-638.
- Boscato L. M.** (1988) Stuart MC. Hétérophile antibodies: a problem for all immunoassays *Clin Chem*; 34: 27-33.
- Boston A. G., Shemin D., Verhoef P., Nadeau M. R., Jacques P. F., Selhub J., Dworkin L., Rosenberg I. H.** (1997) Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients-a retrospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 17: 2554-2558.
- Bougherbal S.** (2005) Ce que le coeur est a la sante. *Le journal de la Societe Algerienne de Cardiologie*; 4: 2-5.
- Boushey J., Beresford S. A. A., Omenn G. S., Motulsky A. G.** (1995) A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA*; 274: 1049-1057.
- Brattstrom L., Lindgren A., Israelson B., Andersson A., Hultberf B.** (1994) Homocysteine and cysteine determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med*; 36: 633-41.
- Brattstrom L., Wilcken D.E., Ohrvik J., Brudin L.** (1998) Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation* ; 98: 2520-6.
- Buysschaert M., Hermans M.** (2003) Comment Je Traite Et Prends En Charge Une Hyperhomocustéinémie. *Flammarion Médecine-Science*; 9: 229-237.

Références bibliographiques

- Carson N. A. J., Neil D. W.** (1992) Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch Dis Child*; 37: 505-513.
- Catargi B., Vemhet I., Parrot-Rouland F.** (2000) Hormones et homocysteine. *Sang ThromboseVaisseaux*; 12(9): 564-568.
- Causse E.** (2001) Journées nationales homocystéine Toulouse, 21 septembre 2000. *Ann Biol Clin*; 59(3): 339-353.
- Chadefaux-Vekemans B.** (1993) Homocystéine. *Clin Chem*; 39: 1764-1779.
- Chellak S., Bigaillon C., El Jahiri Y., Garcia C., Ceppa F., Mayaudon H., Dupuy O., Garcin J. M., Baigts F., Bauduceau B., Burnat P.** (2005) Correlation results between plasma homocysteine, metabolic syndrome components and cardiovascular risk markers in 2045 french military subjects: EPIMIL cohort. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*; 20: 169–172.
- Chen J., Giovannuci E. L., Hunter D. J.** (1999) MTHFR polymorphism, methyl-replete diets and the risk of carcinoma and adenoma among U.S men and women : an example of gene-environment interactions in colorectal tumorigenesis. *J Nutr*; 129: 560S- 564S.
- Chesley L. C.** (1972) Plasma and red cell volumes during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*; 112: 440-50.
- Clarke R.** (2005) Homocysteine-lowering trials for prevention of heart disease and stroke. *Semin Vasc Med*; 5: 215-222.
- De Bree A., Verschuren W. M., Blom H. J.** (2001) Biological cardiovascular risk factors and plasma homocysteine levels in the general Dutch population. *Atherosclerosis*; 154: 513-4.
- De Bree A., Verschuren W. M., Blom H. J., Kromhout D.** (2001) Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Epidemiol*; 154: 150-154.
- Delattre J., Durand G., Jardillier J. C.** (2003) Biochimie pathologique, aspects moléculaires et cellulaires. Ed Medecine et Sciences; Flammarion. 317.
- Demuth K., Drunat S., Paul J. L., Moatti N.** (2000) Hyperhomocysteinémie et atherosclérose. *Med/Sci*; 16: 1081-1083.
- Ducros V., Candito M., Causse E., Couderc R., Demuth K., Diop M. E., Drai J., Gachon A. M., Garcia I., Gerhart M. F.** (2001) Dosage de l'homocystéine plasmatique: étude des facteurs de variations preanalytiques sur la concentration de l'homocystéine plasmatique totale. *Ann Biol Clin*; 59(1): 33-39.

Références bibliographiques

Erica Research Group. (1988) The CHD risk-MAP of Europe : the 1st report of the who-Erica project .European Heart J. 9: 1-36.

Faeh D., Chiolero A., Paccaud F. (2006) Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: should we (still) worry about it Swiss Med Wkly; 136: 745-56.

Ferjani W., Bouzid K., Khiari K., Tekaya R., Mchirgui N., Ben Abdallah N., Bahlous A., Abdelmoula J. (2011) Relation entre l'homocystéine et la créatinine sanguines chez des sujets atteints de syndrome métabolique et association entre l'hyperhomocystéinémie et le syndrome métabolique. Immuno-analyse et biologie spécialisée ; 26: 244-249.

Finkelstein J. D., Kyle W., Harris B.J. (1971) Methionine metabolism in mammals. Regulation of homocysteine methylenetransferases in rat tissue. Arch Biochem Biophys; 146: 84-92.

Francesco Fazio., Researcher., Giuseppe Piccione., Associate Professor., Stefania Casella., PhD student., PhD., Anna Assenza., Researcher., Vanessa Messina., PhD student., PhD, and Giovanni Caola, Full Professor. (2010) Influence of Acute Exercise on Serum Homocysteine in Horse; 30: 1.

Friedman G., Goldschmidt N., Friedlander Y., Ben-Yehuda A., Selhub J., Babaey S., Mendel M., Kidron M., Bar- On H. (1999) A common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: association with plasma total homocysteine and folate concentrations. J Nutr; 129(9): 1656-61.

Frosst P., Blom H. J., Milos R., Goyette P., Sheppard C. A., Matthews R. G., Boers G. J., den Heijer M., Kluijtmans L. A., van den Heuvel L. P., et al. (1995) A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet; 10: 111-3.

Ganji V., Kafai M. R. (2003) Demographic, health, lifestyle, and blood vitamin determinants of serum total homocysteine concentrations in The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. Am J Clin Nutr; 77: 826-33.

Gaughan D. J., Barbaux S., Kluijtmans L. A., Whitehead A. S. (2000) The human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes: genomic organization, mRNA structure and linkage to the CLCN6 gene. Gene; 257: 279-89.

George N., Loscalzo J. (1998) Homocysteine and atherothrombosis. N Engl J Med; 338(15): 1042-1050.

Références bibliographiques

Ge Y., Jensen T., James S. J., Becton D. L., Massey G. V., Weinstein H. J., Ravindranath L. H., Matherly L. H., Taub J. W. (2002) High frequency of the 844ins68 cystathionine- β -synthase gene variant in Down syndrome children with acute myeloid leukemia. *Leukemia*; 16: 2339-2341.

Giltay E. J., Hoogeveen E. K., Elbers J. M., Gooren L. J., Asschemen H., Stehouwer C. D. (1998) Effects of sex steroids on plasma total homocysteine levels: a study in transsexual males and femals. *Clin Endocrinol Metab*; 83: 550-553.

Goyette P., Pai A., Milos R., Frosst P., Tran P., Chen Z., Chan M., Rozen R. (1998) Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mamm Genome*; 9: 652-6.

Goyette P, Sumner J. S., Milos R., Duncan A. M., Rosenblatt D. S., Matthews R. G., Rozen R. (1994) Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet*; 7: 195-200.

Grubben M. J., Boers G. H., Blom H. J., Broekhuisen R., de Jong R., Van Rijt J., de Ruijter E., Swinkels D. W., Nagengast F. N., Katan M. B. (2000) Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: a randomized trial. *Am J Clin Nutr*; 71: 480-484.

Guilland J.C., Favier A., Potier de Courcy G., Galan P., Hercberg S. (2003) L'hyperhomocystéinémie : facteur de risque cardiovasculaire ou simple marqueur 1. Données fondamentales. *Pathol Biol*; 51: 101-10.

Halstedt C. H., Villanueva J. A., Devlin A. M., Chandler C. J. (2002) Metabolic interactions of alcohol and folate. *J Nutr*; 132: 2367-2372.

Hermann W., Quast S., Ulrich M., Schiltze H., Bodis M., Geisel J. (1999) Hyperhomocysteinemia in high-aged subjects: relation of B-vitamins, folic acid, renal function and the methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Atherosclerosis*; 144: 91-101.

Herpin D., Paillard F. (2003) Facteurs de risque cardio-vasculaire et prévention. Thème 129. <http://www.hbroussais.fr/Scientific/fram.html>.

Hillman R. S., Steinberg S. E. (1982) The effect of alcohol on folate metabolism. *Ann Rev Med*; 33: 345-354.

Homocystéine T. E. (2008) MTHFR gene polymorphisms, and cardio-cerebrovascular risk. *J Appl Genet*; 49: 267-82.

Références bibliographiques

- Jaimie D., Vaughn L. B., Bailey K. P.** (2004) Methionine synthase reductase 66AG polymorphism is associated with increased plasma homocysteine concentration when combined with the homozygous MTHFR 677CT variant. *J Nutr*; 134: 2985-2990.
- Kim M. H., Kim E., Passen E. L., Meyer J., Kang S. S.** (1997) Cortisol and estradiol: nongenetic factors for hyperhomocyst(e)inemia. *Metabolism*; 46: 247-9.
- Koehler K. M., Baumgartner R. N., Garry P. J., Allen R. H., Stabler S. P., Rimm E. B.** (2001) Association of folate intake and serum homocysteine in elderly persons according to vitamin supplementation and alcohol use. *Am J Clin Nutr*; 73: 628-637.
- Koehler K. M., Romero L. J., Stauber P. M., Pareo-Tubbeh S. L., Liang H. C., Baumgartner R. N., P. J., R. H., Stabler S. P.** (1996) Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in elderly men and women. *J Am Coll Nutr*; 15: 364-76.
- Konig D., Bisse E., Deibert P., Muller H. M., Wieland H., Berg A.** (2003) Influence of training volume and acute physical exercise on the homocysteine levels in endurance-trained men: interactions with plasma folate and vitamin B12. *Ann Nutr Metab*; 47: 114-118.
- Kothekar M. A.** (2007) Homocysteine in cardiovascular disease: a culprit or an innocent bystander *Indian J Med Sci*; 61: 361-71.
- Laraqui A., Bennouar N., Meggouh F., Allami A.** (2002) Homocysteine, lipoproteine: facteurs de risque de l'athérosclérose coronarienne. *Ann Biol Clin*; 60(5): 549-557.
- Leclerc D., Rozen R.** (2007) Génétique moléculaire de MTHFR. Les polymorphismes ne sont pas tous bénins. *Med & Sci*; 3(23): 297-302.
- Ma J., Stampfer M. J., Hennekens C. H., Frosst P., Selhub J., Horsford J., Malinow M. R., Willett W.C., Rozen R.** (1996) Méthylentétrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation*; 94: 2410-6.
- Malinow M. R., Rajkovic A., Druell P. B., Hess D. L., Upson B. M.** (1998) The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocysteine suggests a potential role for maternal homocysteine in fetal metabolism. *Obstet Gynecol*; 178: 228-33.
- Mc Cully K. S.** (1969) Vascular pathology of homocysteinemia: implication for the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Pathol*; 59: 111-128.

Références bibliographiques

- Mc Quillan B. M., Beilby J. P., Nidorf M., Thompson P. L., Hung J.** (1999) Hyperhomocysteinemia but not the C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase is an independent risk determinant of carotid wall thickening. The Perth Carotid Ultrasound Disease Assessment Study (CUDAS). *Circulation*; 99: 2383-8.
- Menu P.** (2002) physiopathologie cardiaque. Faculté de pharmacie. Université paris sud XI.
- Monika G., Agnieszka S. P.** (2002) Genetic basis of neural tube defects. *J Appl Genet*; 43: 511-524.
- Mouchabac S.** (2008) Homocystéinémie, hyperhomocystéinémie et dépression. *Neuropsychiatr Tend Deb*; 32: 9-18.
- Nascimento C. M., Stella F., Garlipp C. R., Santos R. F., Gobbi S., Gobbi L. T.** (2011) Serum homocysteine and physical exercise in patients with Parkinson's disease. *Psychogeriatrics*; 11: 105–112.
- Norland L., Grubb A., Fex G., Leksell H., Nilson J. E., Schenk H., Hultberg B.** (1998) The Increase Of Plasma Homocysteine Concentrations With Age Is Partly Due To The Deterioration Of Renal Function As Determined By Plasma Cystatin C. *Clin Chem Lab Med*; 36: 175-178.
- Nygard O., Vollset S. E., Refsum H., Stensvold I., Tverdal A., Nordrehaug J. E., Ueland P. M., Kvale G.** (1995) Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study *JAMA*; 274: 1526–1533.
- Obwegeser R., Hohlagschwandtner M., Sinzingia.** (1999) Homocysteine-a pathophysiological cornerstone in obstetrical and gynaecological disorders? *Human Reprod Update*; 5: 64-72.
- Olthof M. R., Hollman P. C., Zock P. L., Katan M. B.** (2001) Consumption Of High Doses Of Chlorogenic Acid, Present In Coffee, Or Of Black Tea Increases Plasma Total Homocysteine Concentrations In Human. *Am J Clin Nutr*; 73: 532-538.
- OMS.** (2007) Rapport Sur La Sante Dans Le Monde. Un Avenir Plus Sur. La Securite Sanitaire Mondiale Au Xxieme Siecle. Ed OMS.
- Paul D., Loprinzi., Bradley J., Cardinal.** (2012) Interrelationships among physical activity, depression, homocysteine, and metabolic syndrome with special considerations by sex. *Preventive Medicine*; 54: 388–392.
- Peterson J. C., Spence J. D.** (1998) Vitamins and progression of atherosclerosis in hyperhomocysteinemia. *Lancet*; 351: 263-264.

Références bibliographiques

- Philippe Durand., Michel Prost., Denis Blache.** (1998) Altération du métabolisme d'homocysteine et maladies cardiovasculaires. *Revue française des laboratoires*, novembre 1998, 307.
- Potier de Courcy G.** (2005) Le point sur le rôle des folates. *Chole-Doc*; 92.
- Quere I., Bellet H., Hoffet M., Janbon C., Mares P., Gris J. C.** (1998) A woman with five consecutive fetal deaths: case report and retrospective analysis of hyperhomocysteinemia with recurrent miscarriages. *Fertil Steril*; 69: 152-154.
- Refsum H., Fiskerstrand T., Guttormsen A. B., Ueland P. M.** (1997) Assessment of homocysteine status. *J Inher Metab Dis*; 20: 286-94.
- Refsum H., Nurk E., Smith D., Ueland P. M., Gjesdal C. G., Bjelland I., Tverdal A., Tell G. S., Nygard O., Vollset S. E.** (2006) The Hordaland Homocysteine study: A community-Based Study of homocysteine, its determinants, and associations with disease. *J Nutr*; 136: 1731S-40S.
- Refsum H., Smith D., Ueland P. M., Nexo E., Clarke R., McPartlin J. et al.** (2004) Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem*; 50: 3-32.
- Refsum H., Ueland P. M.** (1990) Clinical significance of pharmacological modulation of homocysteine metabolism. *Trends Pharmacol Sci*; 11: 411-416.
- Refsum H., Ueland P. M., Nygard O., Vollset S. E.** (1998) Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med*; 49: 31-62.
- Regland B., Anderson M., Abrahamsson L., Bagby J., Dyrehag L. E., Gottfries C. G.** (1997) Increased concentrations of homocysteine in the cerebrospinal fluid in patients with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. *Scand J Rheumat*; 26: 301-307.
- Russo G. T., Friso S., Jacques P. F., Rogers G., Cucinotta D., Wilson P. W., Ordovas J. M., Rosenberg I. H., Selhub J.** (2003) Age and gender affect the relation between methylenetetrahydrofolate reductase C677T genotype and fasting plasma homocysteine concentrations in the Framingham Offspring Study Cohort. *J Nutr*; 133(11): 3416-21.
- Saw S. M., Yuan J. M., Ong C. N., Arakawa K., Lee H. P., Coetzee G. A., Yu M. C.** (2001) Genetic, Dietary And Other Lifestyle Determinants Of Plasma Homocysteine Concentrations In Middle-Aged And Older Chinese Men And Women In Singapore. *Am J Clin Nutr*; 73: 232-239.

Références bibliographiques

- Schlienger J. L.** (2004) Alcool et Homocysteinémie Plasmatique: Un Effet Spécifique De La Bière? *Cah Nutr Diet*; 39: 1S30-1S35.
- Scott J. M., Weir D. G.** (1998) Folic acid, homocysteine and one-carbon metabolism: a review of the essential biochemistry. *J Cardiovasc Risk*; 5: 223-7.
- Selhub J., Jacques P. F., Wilson P. W. F., Rush D., Rosenberg I. H.** (1993) Vitamin Status and Intake as Primary Determinants of Homocysteinemia in an Elderly Population. *JAMA*; 270: 2563-2568.
- Smith A. D., Clarke R., Jobst K. A., Refsum H., Sutton L., Reland P. M.** (1998) Hyperhomocysteinemia, An Independent Risk Factor For Histopathologically-Confirmed Alzheimer's Disease. *Neth J Med*; 52: S16.
- Stalder M., Lovey P. Y., Dayer E.** (2007) Homocystéine et maladie thromboembolique Institut Central des Hôpitaux Valaisans, Sion; 3: 9.
- Stampfer M. J., Malinow M. R., Wilnett W. C., Newcomer L. M., Upson B., Ullmann D., Tishler P. V., Hennekens C. H.** (1992) A Prospective Study Of Plasma Homocysteine And Risk Of Myocardial Infarction In US Physicians. *J Am Med Assoc*; 268: 877-881.
- Stolzenberg Solomon R. Z., Miller E. R., Maguire M. G., Selhub J., Appel L. J.** (1999) Association Of Dietary Protein Intake And Coffee Consumption With Serum Homocysteine Concentrations In An Older Population. *Am J Clin Nutr*; 69: 467-475.
- Ueland P. M., Hustad S., Schneede J., Refsum H., Vollset S. E.** (2001) Biological And Clinical Implications Of The MTHFR C677T Polymorphism. *Pharmacological Sciences*; 22 (4): 195-201.
- Ueland P. M., Refsum H., Beresford S. A., Vollset S. E.** (2000) The Controversy Over Homocysteine And Cardiovascular Risk. *Am J Clin Nutr*; 72: 324-332.
- [100] **Ueland P. M., Refsum H.** (1989) Plasma Homocysteine, A Risk Factor For Vascular Disease: Plasma Levels In Health, Disease And Drug Therapy. *J Lab Clin Med*; 114: 473-501.
- Ueland P. M., Refsum H., Stabler S. P., Malinow M. R., Anderson A., Allen R. H.** (1993) Total Homocysteine In Plasma Or Serum: Methods And Clinical Applications. *Clin Chem*; 39: 1764-1779.
- Van Ede A. E., Laan R. F., Blom H. J., Huizinga T. W., Haagsma C. J.,**

Références bibliographiques

Giesendorf B. A., De Boo T. M., Van De Putte L. B. (2001) The C677T Mutation In The MTHFR Gene: A Genetic Risk Factor For Methotrexate-related Elevation Of Liver Enzyme In Rheumatoid Arthritis Patients. *Arthritis Rheum*; 44: 2525-2530.

Vangelber E., Delecourt F., Cardozo M. B., et al. (2006) Hyperhomocystéinémie et diabète de type 2. *Ann Biol Clin*; 64: 485-9.

WINISZEWSKI P., PINGET M. (1991) Obésité: épidémiologie, étiologie, diagnostic, évolution et pronostic, traitement. *La revue du praticien* ; 41/7: 651-656.

Wright M., Francis K., Cornell P. (1998) Effect of acute exercise on plasma homocysteine. *J Sports Med Phys Fitness*; 38: 262-265.

Annexe

Annexes

Le questionnaire: Fiche de renseignements

Nom : Prénom : Age :

Adresse : N° tel : Profession :

Sexe : Poids : Taille : IMC : Tour de taille :

Antécédents :

	Chirurgicaux	médicaux
Personnels		
familiaux		

Consanguinité des parents : OUI : NON :

Activité physique :

Régime alimentaire :

Tabagisme : Fumeur Depuis quand :..... Quantité :.....

Non-fumeur Arrêt quand :.....

Consommation d'alcool : OUI : Depuis quand :..... Quantité :.....

NON : Arrêt quand :.....

Prise de médicaments :

.....

.....

Pour la femme : -Nombre d'enfants :.....

-Prise contraceptifs ;

-Ménopause :..... Depuis quand :.....

Autres :

Date de prélèvement :

Homocystéine=

IMC (kg·m⁻²)	Interprétation
moins de 16,5	dénutrition ou famine
16,5 à 18,5	maigreur
18,5 à 25	corpulence normale
25 à 30	surpoids
30 à 35	obésité modérée
35 à 40	obésité sévère
plus de 40	obésité morbide ou massive

$$\text{IMC} = \frac{\text{masse}}{\text{taille}^2}$$

Réactifs utilisés

- Billes revêtues de S-adénosyl-L-homocystéine (SAH).
 - 15,5ml de S-adénosyl-L-homocystéine hydrolase bovine dans un tampon avec conservateur.
 - 18.5ml de dithiothreitol (DTT) dans un tampon.
 - 11.5ml d'anti-SAH marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon.
- Stable à 2-8°C jusqu'à la date de péremption.

Année universitaire : 2013/2014

**présenté par : KADECHE SAIDA
MOKHNACHE IBTISSAM**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en biochimie
Option: analyse proteomique et santé**

Thème : Effet des facteurs environnementaux sur l'homocystéine chez le sujet sain

Résumé:

Au cours de la dernière décennie, un nombre important d'études a porté sur la physiopathologie de l'Hyperhomocystéinémie et sur ses conséquences pour le système vasculaire. Aujourd'hui, l'Hcy continue à susciter un intérêt scientifique important. Initialement étudiée dans l'exploration des anomalies métaboliques congénitales des acides aminés soufrés, l'analyse de l'Hcy s'est étendue à d'autres domaines cliniques dont les malformations du tube neural (Spina bifida, anencéphalie), les interruptions précoces de grossesse, la maladie d'Alzheimer, le syndrome de fatigue chronique (**Boushey. J et al., 1995 ; Regland B et al., 1997**). Malgré ces différentes observations, la relation entre l'Hcy et les pathologies évoquées est loin d'être évidente. La recherche des différentes causes d'Hyperhomocystéinémie modérée associée à ces pathologies continue d'être actuellement l'objet des investigations (**Smith A. D et al., 1998**)

Notre étude a pour but de déterminer la relation entre le taux plasmatiques de l'homocystéine (tHcy) et les facteurs environnementaux (l'âge, le sexe, l'IMC, le tabac et l'activité physique) chez les sujets sains. Notre échantillon est constitué de 30 sujets en bonne santé des deux sexes. le tHcy plasmatique a été déterminé par immunodosage par compétition sur un analyseur de type IMMULITE 1000.

Les résultats de notre étude montrent une augmentation du taux de l'Hcy avec l'âge, le sexe masculin et le tabac. Alors que l'activité physique ne semble pas l'influencer.

Notre travail était limité par les difficultés de recrutement des volontaires sains et la courte durée de sa réalisation. Il serait souhaitable de le poursuivre sur une période plus longue et un échantillon plus important pour aboutir à des résultats plus concluants.

Mots clés : homocystéine, sujet sain, immunodosage, âge, sexe, tabac, activité physique

Laboratoire:

-laboratoire de biologie et génétique moléculaire.

- laboratoire de biochimie CHU Constantine

Devant le jury :

Présidente : M^{me} MECHAKRA A.

Université Constantine I

Rapporteur: M^{me} HANACHI S.

Université Constantine III

Examineurs: M^{me} SIFI K.

Université Constantine III

