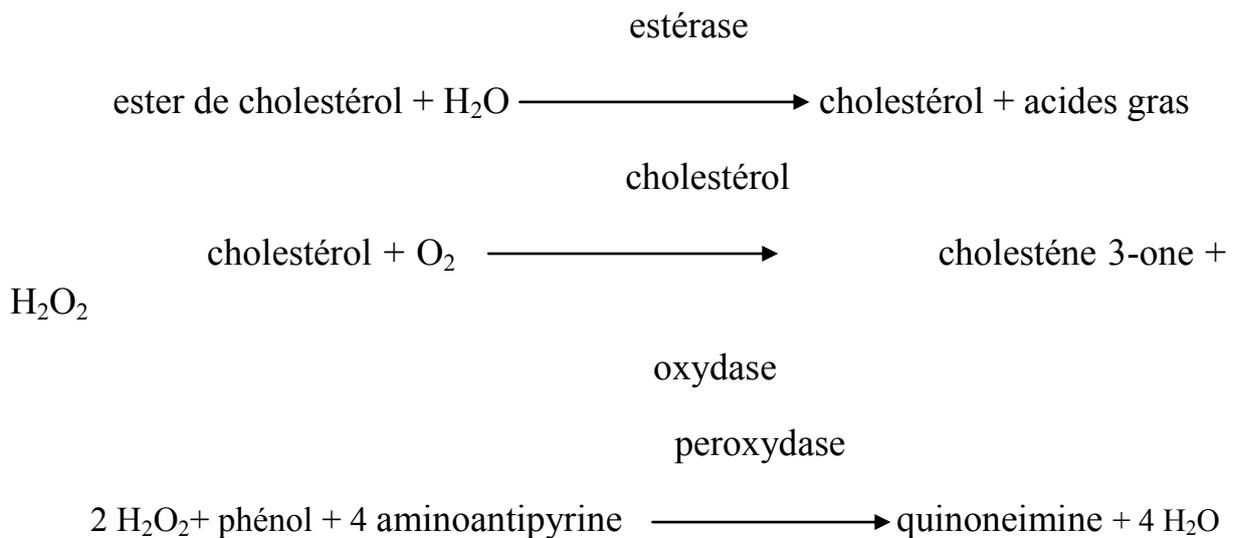


### I.5.6. Détermination du cholestérol HDL

Le cholestérol HDL est déterminé après hydrolyse enzymatique et oxydation. Après précipitation du LDL par l'acide phosphotungstique, l'indicateur coloré qu'est la quinone imine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et de la 4-Aminoantipyrine en présence de phénol et de peroxydase :



### I.5.7. Détermination du cholestérol LDL

Le taux de cholestérol LDL a été déterminé suivant la formule de Friedwald

Elle permet de calculer le taux de LDL à partir du cholestérol total, du HDL et des triglycérides. Elle n'est applicable que si les TG < 4 g/l

Pour des concentrations exprimées en mmol/l :

$$\text{Cholesterol LDL} = \text{cholesterol total} - (\text{chol-HDL} + \text{TG}/2, 2)$$

Pour des concentrations exprimées en g/l:

$$\text{Cholesterol LDL} = \text{cholesterol total} - (\text{chol-HDL} + \text{TG}/5)$$

- Valeurs usuelles : 0,83- 1,50 g/l

Il y a risque de développer une maladie coronarienne si la valeur du cholestérol LDL est supérieure ou égale aux valeurs usuelles (>1,60g/l).

### **I.5.8. Détermination des triglycérides**

La triglycidémie est déterminée par la technique enzymatique utilisant le système lipase/glycérol phosphate oxydase/ peroxydase.

Les triglycérides présents dans l'échantillon sont hydrolysés par une enzyme (lipoprotéine lipase) en acides gras et glycérol. Le glycérol est ensuite phosphorylé en glycérol 3. Phosphate ( $G_3P$ ) en présence de glycérol Kinase (GK). Le glycérol 3 phosphate oxydé en présence de Glycérol 3 phosphate Oxydase ( $G_3PO$ ) donne un dihydroxyacétone phosphate et un peroxyde d'hydrogène. Ce dernier réagit avec le 4- chlorophénol et le 4 - aminoantipyrine en présence de peroxydase (POD) pour donner un complexe coloré. L'absorbance de ce dernier à 500-520 nm est directement proportionnelle au taux de triglycérides dans l'échantillon.

### **I.5.9. Phénotypage de l'haptoglobine**

Le phénotypage de l'haptoglobine a été réalisé selon la méthode de Raymond (Raymond, 1962) par électrophorèse en gel de polyacrylamide à 5 %. Pour la préparation de 30 ml de gel, 5 % d'acrylamide/bisacrylamide (Bio-Rad laboratoires, CA, USA) ont été polymérisés avec 0.1 ml de N,N,N,N'-tétraméthylènediamine (TEMED) et 20 mg de persulfate d'ammonium.

#### **I.5.9.1. Tampons**

L'électrophorèse en milieu alcalin a été réalisée en tampon contenant 0,1 mol/L de Tris et 0,09 mol/L d'acide borique, pH 8,6. La préparation consiste à dissoudre 12,14g de Tris dans 800ml d'H<sub>2</sub>O distillée, 5,56 d'acide borique est ensuite ajouté puis on atténue le pH jusqu'à 8,6.

### **I.5.9.2. Plaques de gel de polyacrylamides**

Pour couler le gel, des plaques de verre (Glass plates, Bio-Rad laboratories, CA, USA) ont été utilisées sur le système Mini-Protean-II (Bio-Rad laboratories, CA, USA), ce qui permettait d'effectuer simultanément une électrophorèse sur deux gels, soit 16 échantillons en même temps.

### **I.5.9.3. Préparation des plasmas**

A 75  $\mu\text{L}$  de chaque échantillon de plasma, ont été ajoutés 75  $\mu\text{L}$  d'une solution d'hémoglobine humaine (1,6  $\mu\text{mol/L}$ ) et 50  $\mu\text{L}$  de saccharose (10 g/L). L'ensemble a été incubé pendant 10 min à température ambiante, puis 10  $\mu\text{L}$  de solution de bleu de bromophénol (0,001 %) ont été ajoutés juste avant la migration.

### **I.5.9.4. Migration**

Les plaques de gels ont été placées dans le dispositif de migration (Miniprotean II, Bio-Rad laboratories, CA, USA) rempli de tampon dans les conditions permettant une migration correcte. Le mélange plasma-solution d'hémoglobine a été introduit dans les puits situés au niveau de la partie supérieure du gel avant d'appliquer un courant de 200 V pendant 2 heures.

### **I.5.9.5. Révélation**

Après migration, les gels ont été enlevés avec précaution des plaques de verre et placés dans la solution de révélation des complexes Hp-Hb, contenant 0,2 g de diméthylbenzidine dans 100 mL d'une solution d'acide acétique 0,9 mol/L. Après 2 h d'incubation à l'abri de la lumière, 5 mL d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 3 % (w/v) fraîchement préparée ont été ajoutés à la solution de révélation. Les bandes caractéristiques du complexe Hp-Hb et l'hémoglobine résiduelle sont apparues colorées en vert-brun.

## I.6.Statistiques :

Les analyses ont été réalisées grâce au logiciel Statview en utilisant le test de Mann Whitney pour comparer les variables entre patients et témoins, et le test de Kruskall Wallis pour localiser les différences significatives des variables chez les différents types de phénotypes d'haptoglobine. Une valeur de P inférieure à 0,05 a été considérée comme significative.

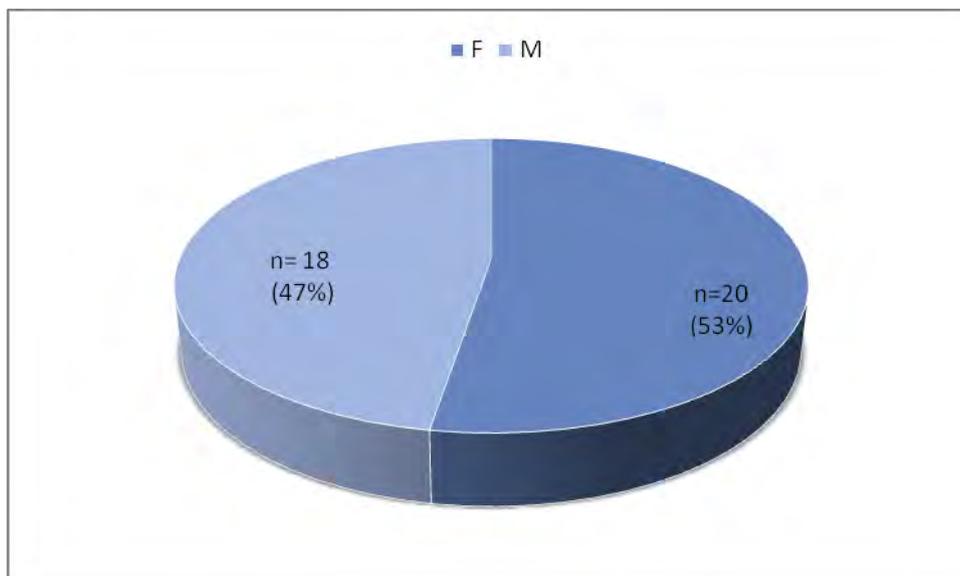
## II. RESULTATS

### II.1.Paramètres épidémiologiques de l'échantillon

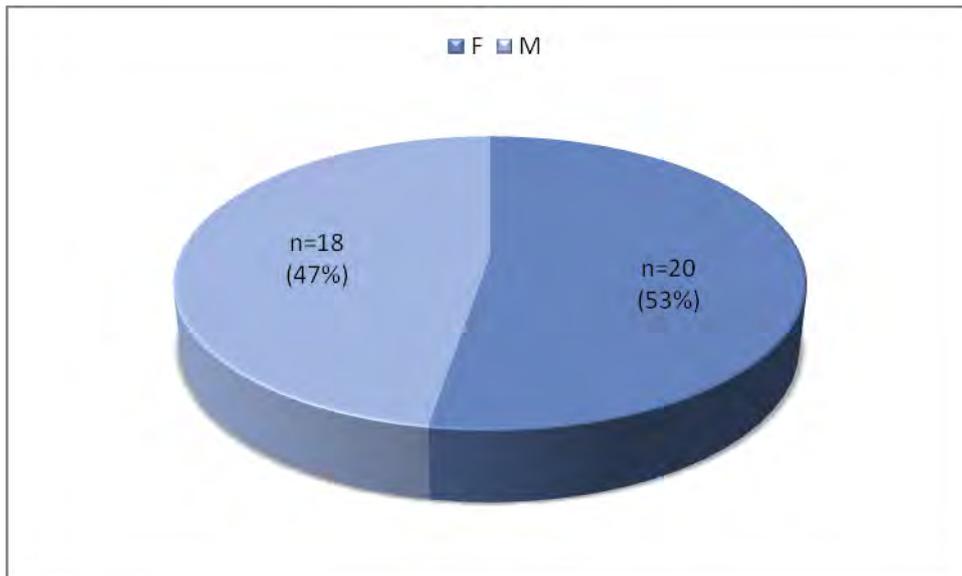
La population d'étude était constituée de 38 patients atteints d'épilepsie et suivis au CHU de FANN et de 38 témoins recrutés au CNTS de Dakar.

#### II.1.1 Le sexe

Les figures 4 et 5 montrent la répartition des patients et des témoins en fonction du sexe.



**FIGURE 4 : Répartition des patients selon le sexe**



**FIGURE 5 : Répartition des témoins selon le sexe**

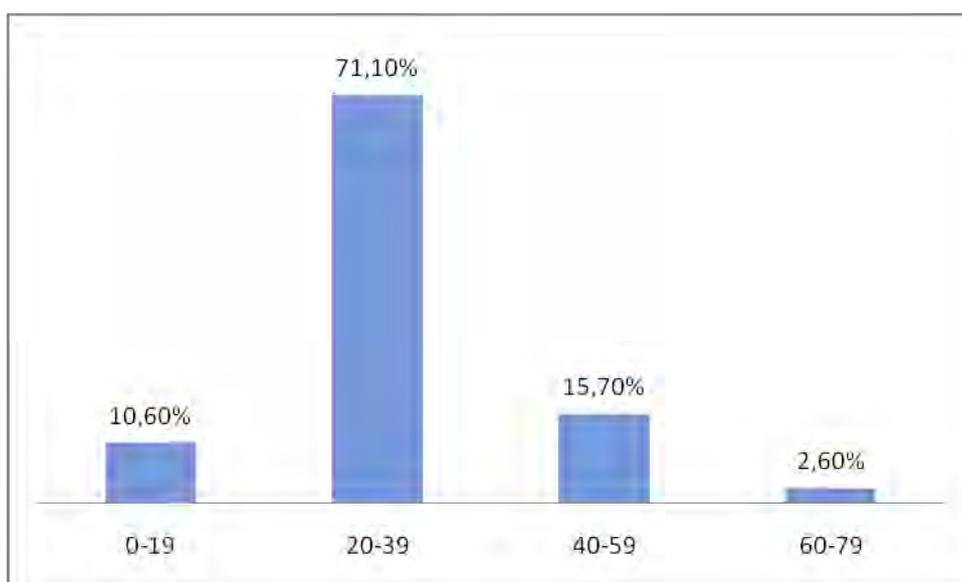
Au plan épidémiologique, les résultats révèlent :

- Neuf seizième des patients (53 %) étaient de sexe féminin
- Cinq huitième des patients (47%) étaient de sexe masculin

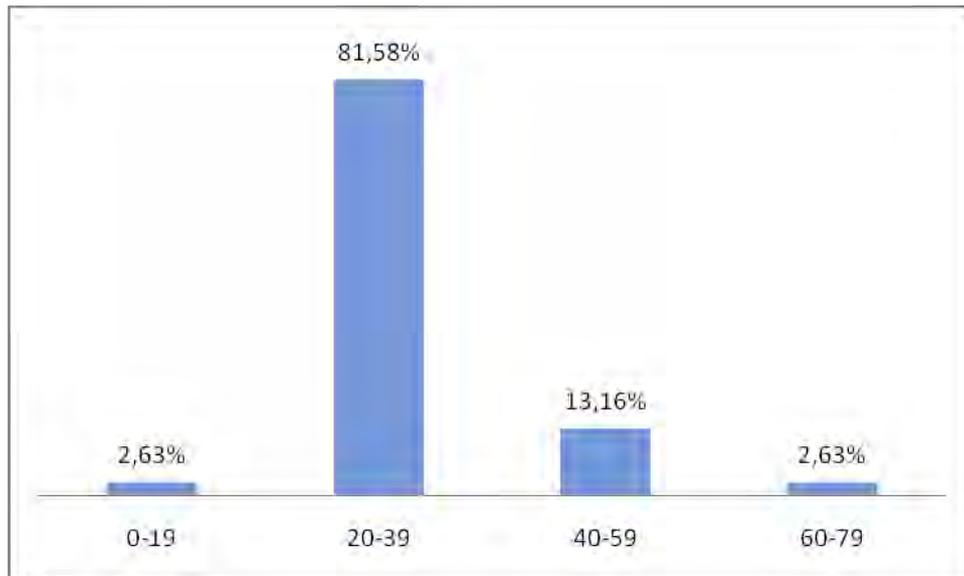
Le sex-ratio de 1,11.

### II.1.2. l'âge

La répartition en fonction de l'âge est illustrée par les figures 6 et 7.



**FIGURE 6: Répartition des patients selon l'âge**



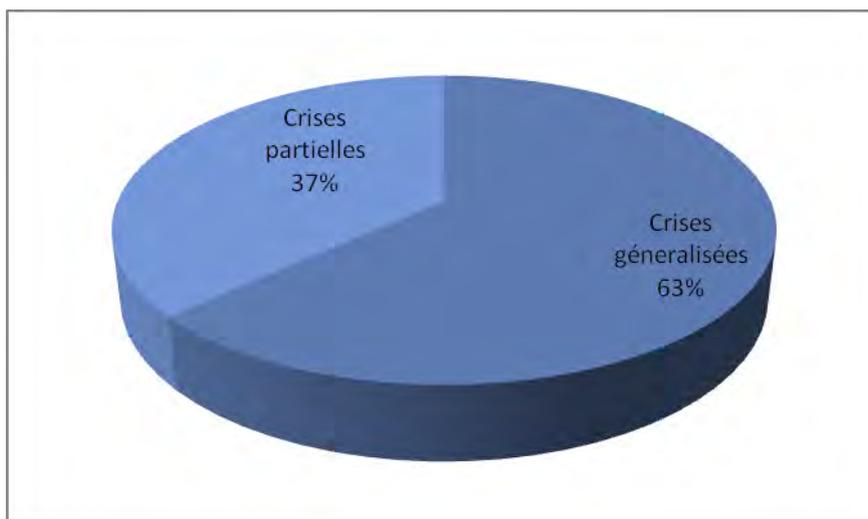
**FIGURE 7 : Répartition des témoins selon l'âge**

L'âge des patients varie entre 18 et 68 ans avec un âge moyen de 30,1 ans. Le pic de fréquence se situe dans la tranche d'âge de 20 à 39 ans avec un taux de 71,10 %, suivi de la tranche d'âge de 40 à 59 ans (15,70%). On constate qu'au dessous de 59 ans la fréquence est faible avec un taux  $< 5\%$ .

Pour ce qui est des témoins l'âge moyen est de 29,6 ans. Le pic de fréquence se situe dans la tranche que celui des patients avec un taux de 81,58 %, suivi de la tranche d'âge de 40 à 59 ans avec un taux de 13,16%. On constate une fréquence très faible dans les tranches d'âge de 0 à 19 ans et de 60 à 79 ans.

### **II.1.3. Renseignements cliniques**

La répartition des types de crises chez les patients est illustrée à travers la Figure 8.



**FIGURE 8: Répartition des patients selon le type de crises**

Vingt quatre des patients (soit 63,15%) étaient suivis pour des crises généralisées, et les quatorze restants (36,84 %) pour des crises partielles.

Les caractéristiques générales de la population d'étude sont répertoriées dans le tableau IV.

**Tableau IV : caractéristique des épileptiques**

<u>Caractéristiques</u>	
Age	18-68 ans
Durée de l'épilepsie	2-30 ans
Type de crises :	
Généralisées	24 (63,15%)
Partielles	14 (36,85%)
Durée du traitement	2 -28 ans
Mode de traitement :	
Mono thérapie	20 (52,6%)
Bithérapie	18 (47,4%)
Médicaments utilisées :	
Phénobarbital	27 (71,05%)
Carbamazépine	17 (44,73%)
Volproate de sodium	5 (13,15%)
Clonazépan	2 (5,26%)
Clobazam	1 (2,63%)

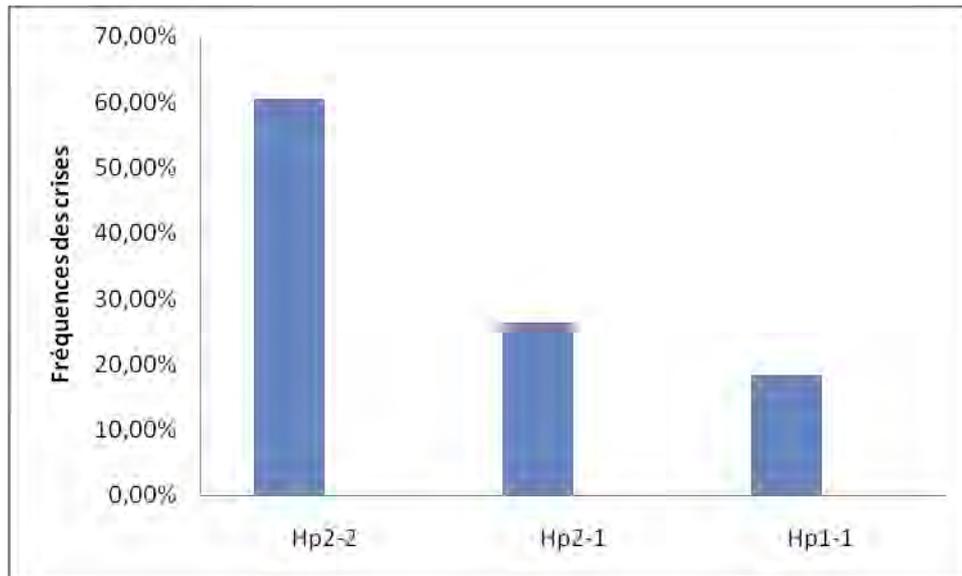
La durée du traitement est de 2 à 30 ans, on a 52,6 % des patients qui sont traités par un seul médicament, alors que 47,4% sont traités par plusieurs médicaments. Les médicaments utilisés sont Phénobarbital (50-100mg/jour), Carbamazépine (200-400mg/jour), Valproate de sodium (500-1mg/jour), Clonazépam (1-2mg /jour), Clobazam (0,5-2mg/kg/jour).

**Tableau V : Informations relatives aux résultats obtenus chez les patients et les témoins.**

	Epileptique (moyenne)	Témoins (moyenne)	p-value
Age	30 ± 11,35	30,4 ± 10,89	
Sexe (F,M)	20 ; 18	20 ; 18	1
Glycémie (g/l)	0,88 ± 0,11	0,85 ± 0,11	0,267
Chol Total (g/l)	2,24 ± 0,49	1,95 ± 0,40	0,012
Chol HDL (g/l)	0,52 ± 0,22	0,609 ± 0,28	0,156
Chol LDL (g/l)	1,51 ± 0,46	1,09 ± 0,46	0,001
TRIG (g/l)	0,91 ± 0,46	0,63 ± 0,39	0,006
CREAT(mg/l)	10,40 ± 1,73	8,64 ± 1,76	< 0,0001
UREE (g/l)	0,34 ± 0,11	0,19 ± 0,43	< 0,0001

### II.1.3.1 Fréquences des crises en fonction des phénotypes

L'étude de la fréquence des crises en fonction du phénotype d'Hp est illustrée à travers la figure 9.



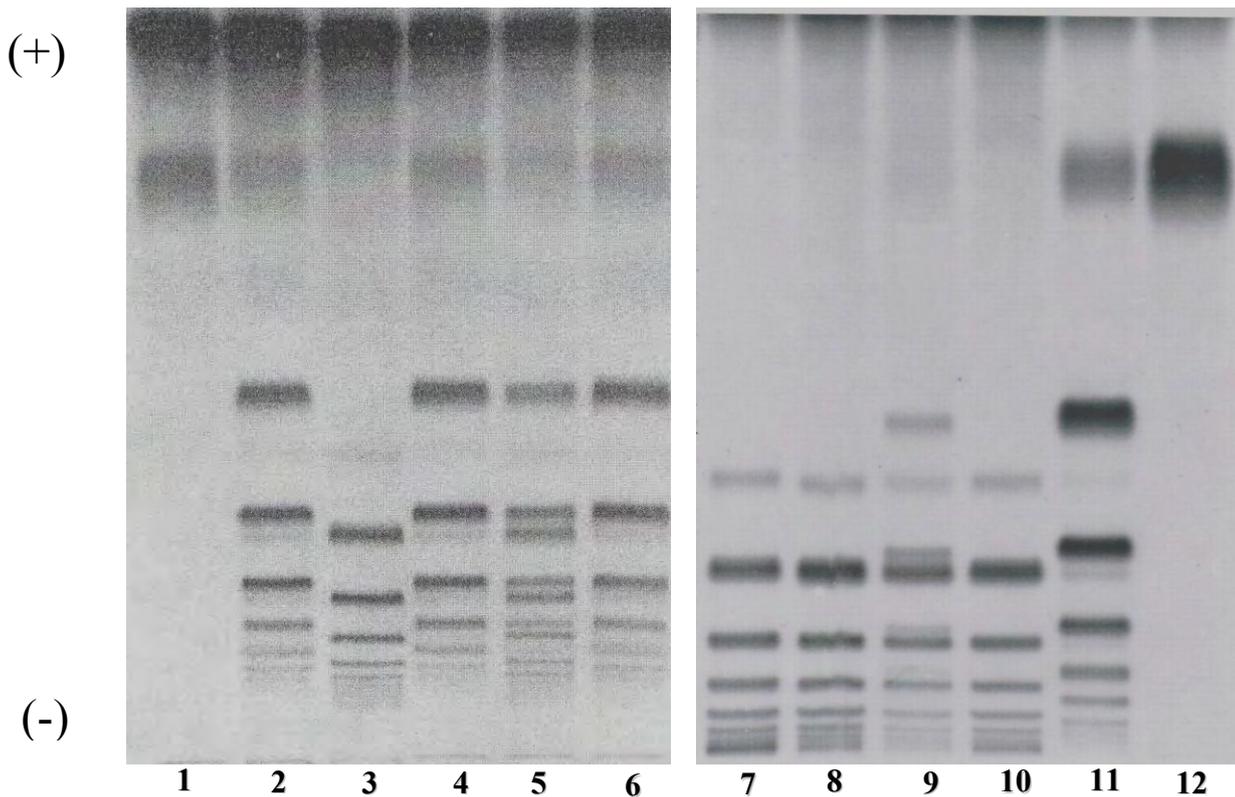
**FIGURE 9 : Fréquences des crises**

Les résultats ont montrés des différences significatives, car on a des valeurs de l'ordre de 60,52 %, 26,31 % et 18,42 % respectivement pour ceux qui sont de type Hp2-2, Hp2-1 et Hp1-1.

## **II.2. Paramètres biologiques**

### **II.2.1. Identification des phénotypes d'haptoglobine**

L'hémoglobine a été ajoutée en excès avant électrophorèse afin de complexer toute l'haptoglobine présente dans l'échantillon à étudier. Ainsi, il restait dans le plasma, après formation des complexes Hp-Hb, une certaine quantité d'hémoglobine libre qui a migré à sa vitesse propre pour se retrouver très proche de l'anode. Différents profils électrophorétiques ont été obtenus après électrophorèse des plasmas, en fonction des phénotypes d'haptoglobine.



**FIGURE10: Profils électrophorétiques des phénotypes majeurs de l’haptoglobine humaine.** (1) : Hp 1-1, (2) : Hp 2-1, (3) : Hp 2-2, (4) : Hp 2-1, (5) : Hp 2-1, (6) : (Hp 2-1). (7) : Hp 2-2, (8) : Hp 2-2, (9) : Hp 2-2, (10) : Hp 2-2, (11) : Hp 2-1, (12) : (Hp 1-1).

### II.2.1 1. Identification de l’Hp 1-1

Le phénotype Hp 1-1 a donné, après électrophorèse en milieu alcalin, une bande unique qui a migré à proximité de l’hémoglobine résiduelle. Après révélation de l’activité peroxydasique, la bande la plus rapide correspondait à l’hémoglobine et la moins rapide au complexe Hp-Hb. Elles ont présenté entre elles une certaine distance de migration qui a permis de les identifier aisément. Ainsi, la présence d’une bande colorée migrant à une bonne distance de l’origine vers l’anode, et distincte de celle de l’hémoglobine résiduelle a permis de classer le plasma dans le phénotype Hp 1-1.

### II.2.1. 2. Identification de l' Hp 2-1

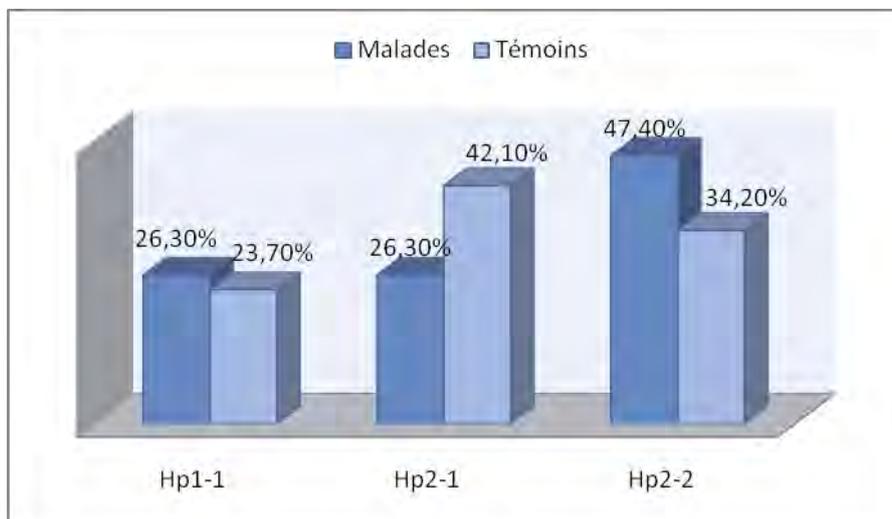
Le phénotype Hp 2-1 a donné après électrophorèse en milieu alcalin une bande de migration rapide, et une série de bandes polymérisées dont la migration et la densité augmentaient progressivement de la cathode vers l'anode.

### II.2.1. 3. Identification de l' Hp 2-2

Ce groupe est caractérisé à l'électrophorèse par l'absence de bande de migration rapide par rapport aux deux autres phénotypes. On note, comme avec le phénotype Hp 2-1, la présence de bandes polymérisées dont la migration et la densité augmentent progressivement de la cathode vers l'anode.

## II.2.2. Fréquences des phénotypes d' haptoglobine

Les résultats de l'étude du polymorphisme de l'Hp chez les patients et les témoins sont répertoriés sur la figure 11.

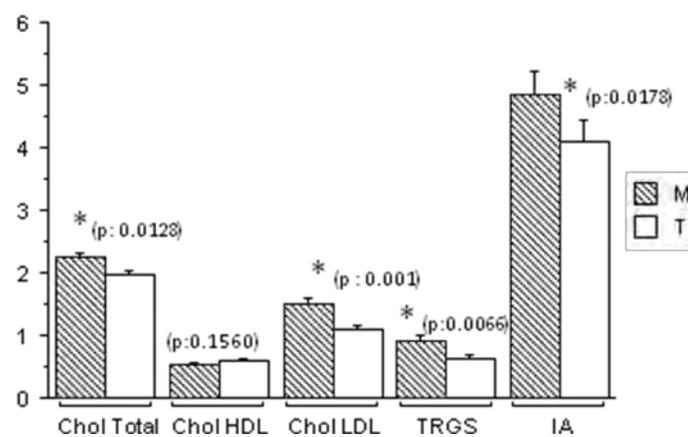


**FIGURE 11 : Fréquences des phénotypes d'haptoglobine chez les malades et les témoins.**

Chez les patients, nos résultats ont montré des fréquences de l'ordre de 47,4% pour les phénotypes de type Hp2-2 et pour les phénotypes de type Hp1-1 et Hp2-1 on a la même fréquence qui est de 26,3%. Pour les témoins, nous avons des fréquences de l'ordre de 23,70 ; 42.10 ; et 34.20 % respectivement pour les phénotypes Hp 1-1 ; Hp 2-1 et Hp2-2.

Les résultats n'ont pas montré de différences significatives car on a  $P=0,20$ .

### II.2.3. Paramètres lipidiques

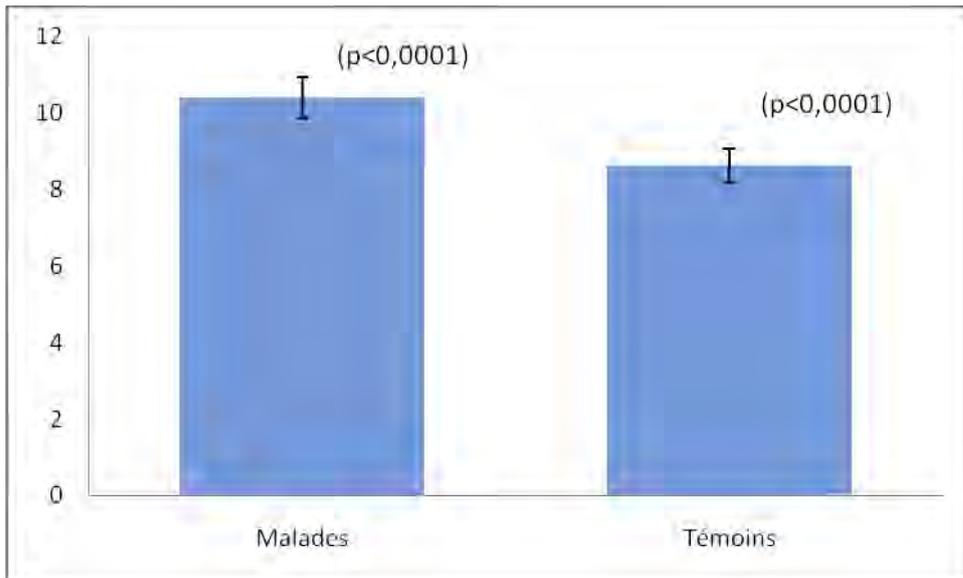


**FIGURE: 12 Variations des paramètres lipidiques chez les patients et les témoins**

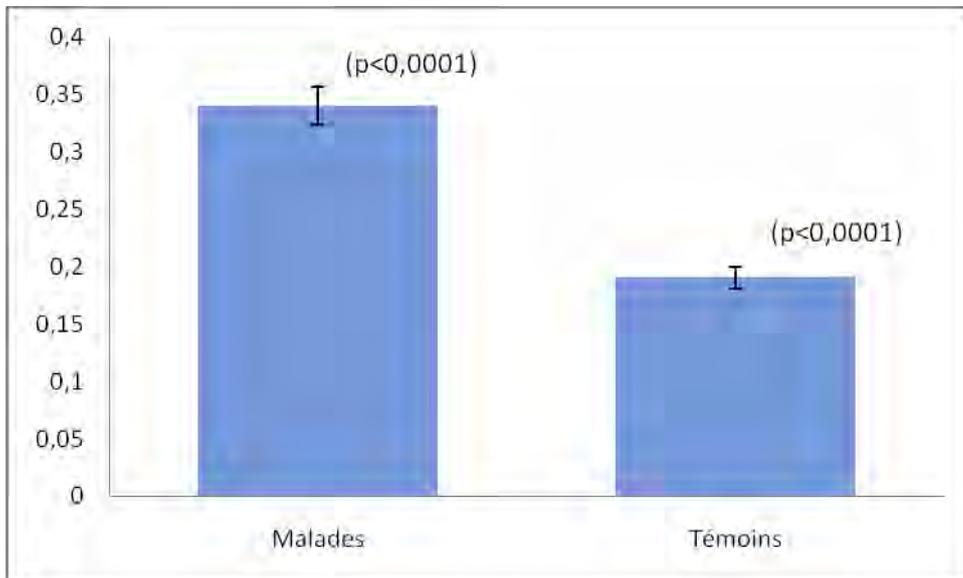
Les résultats représentés sur cette figure font ressortir que les moyennes des paramètres lipidiques sont significativement différentes chez les patients comparées à celles des témoins ; cholestérol Total ( $p=0,0128$ ), LDL cholestérol ( $p=0,001$ ), Triglycérides ( $p=0,0066$ ) et pour l'indice d'athérogénicité ( $p=0,0178$ ) à l'exception du HDL cholestérol ( $p = 0,1560$ ).

Les résultats des déterminations de la glycémie n'ont pas montré de différences statistiquement significatives entre les patients et les témoins ( $P = 0,27$  pour la glycémie).

Les Figures 13 et 14 représentent les résultats obtenues lors du dosage de la créatinémie et de l'urée.



**FIGURE : 13 Résultats du dosage de la créatinémie chez les malades et les témoins.**



**FIGURE : 14 Résultats du dosage de l'urée chez les malades et les témoins.**