



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale.

قسم : بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Toxicologie et santé*

Intitulé :

Contribution à l'étude de l'effet oxydant par le sulfate de fer et le tétrachlorure de carbone et l'effet protecteur et antioxydant d'un extrait végétal butanolique et de la vitamine E.

Présenté et soutenu par :

Le : 01/07/2017

MANSAR Lina Norhane.

MAKHLOUFI Imene.

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Mme Ameddah Souad	Professeur	UFM Constantine
Rapporteur :	Mr Benrebai Mouad	M.CA	UFM Constantine
Examineurs :	Mr Bouldjadj Radouane	MAA	UFM Constantine
	Mme Dekkouk Nadia	MCB	Université Batna 1

*Année universitaire
2016 - 2017*

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ
وَالَّذِي يُرِيهِمْ
آيَاتِهِ لَعَلَّهُمْ
يَتَّقُونَ



REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu, de nous avoir aidés pour mener à terme notre mémoire et pouvoir réaliser ce travail de recherche.

En terminant notre mémoire de fin d'études, il nous est agréable d'adresser nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à élaborer cet ouvrage.

Ainsi que nos parents et toute la famille pour leur encouragement.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements est le plus grand respect à notre encadreur monsieur : **Benrebai Mouad** pour sa compréhension, sa disponibilité, de savoir faire, ses conseils judicieux, et la confiance qu'il nous a témoigné tout au long de ce travail.

Nos remerciements vont également aux membres du jury pour l'accord d'avoir accepté d'examiner notre mémoire

Nous souhaiterons également remercier nos professeurs de la faculté des sciences de la nature et de la vie pendant les cinq années du notre parcours.



Dédicace

Avant toute chose, je remercie Allah le miséricordieux.

Je dédie ce modeste travail à mes parents qui ont tout sacrifié pour
mon bien.

A mon père,

« *La* personne la plus digne de mon estime et de mon respect, que dieu
te préserve et te procure santé et longue vie. »

A ma mère,

« *Je* t'offre ce travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour
l'affection dont tu m'as toujours entourée. »

A ma sœur : *Aya Anfel* et mon frère : *Louay*.

A mes tantes et mes oncles et surtout à ma très chère tante :

Mansar Nadia

Mon amie et ma binôme : *Imene*.

A mes amies et mes collègues d'études et à tous ceux qui ont contribué
de près ou de loin pour que ce mémoire soit possible.

Mansar Lina Norhane.





Dédicace

Avant toute chose, je remercie Allah le miséricordieux.

Je dédie ce modeste travail à mes parents qui ont tout sacrifié
pour mon bien.

A mon père,

« Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour, et j'espère que votre
bénédiction m'accompagne toujours. »

A ma mère,

« Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour pour les
sacrifices que vous avez consenti pour mon bien. »

A ma seule sœur : *Selma* et son mari *Rachid* et ses enfants

ABDOU et ISLAME.

A mes frères : *Halim* et *Ahmad Jaki Fddine*

Mon amie et ma binôme : *Lina*

A mes amies et mes collègues d'études et à tous ceux qui ont contribué
de près ou de loin pour que ce mémoire soit possible.



Makhloufi Imene.

SOMMAIRE

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Liste des abréviations.

	Page
Introduction.....	01

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.

I. Le stress oxydatif	03
1- Définition	03
2- Les symptômes	03
3- Sources des espèces réactives de l'oxygène (ROS)	03
3-1 : Sources endogènes	04
3-2 : Sources exogènes	05
4- Les radicaux libres	06
4-1 : Définition	06
4-2 : Les différents radicaux libres oxygénés :	06
4-2-1 : L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$	06
4-2-2 : Le radical hydroxyle $\bullet OH$	07
4-2-3 : Le monoxyde d'azote NO^{\bullet}	07
4-2-4 : Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	07
4-2-5 : L'oxygène singlet 1O_2	08
4-2-6 : Le peroxyde d'azote $OONO^{\bullet}$	08
4-3 : Formation des radicaux libres	09
4-4 : Le rôle des radicaux libres	09
5- Les dommages oxydatifs des macromolécules	09
5-1 : Les protéines	09
5-2 : L'ADN	10
5-3 : L'ARN	10
6- Les pathologies	10
7- Les systèmes de défense antioxydants	11
7-1 : Les antioxydants enzymatiques	11
7-1-1: Le superoxyde dismutase (SOD)	11
7-1-2: La catalase	11
7-1-3: Le système de glutathion	12
7-2 : Les antioxydants non enzymatiques	12

7-2-1 : La vitamine C	12
7-2-2 : Les caroténoïdes	12
7-2-3 : Le coenzyme Q	13
7-2-4 : Les polyphénols et les flavonoïdes	13
7-2-5 : Le glutathion	14
7-2-6 : Les oligoéléments	14
7-2-6-1 : Le sélénium	14
7-2-6-2 : Le zinc	14
7-2-6-3 : Le cuivre	14
II : la vitamine E	16
1- Historique	16
2- Définition	16
3- Propriétés physicochimiques	16
4- Sources et apports nutritionnels	17
5- Rôle de la vitamine E	18
6- La biotransformation	19
7- Le mécanisme d'action	19
8- La régénération de la vitamine E	21
9- La carence	22
III : la peroxydation lipidique.	23
1- Peroxydationlipidique.....	23
2- Définition	23
3- Les initiateurs de la peroxydation lipidique	24
4- Les étapes et le processus de la peroxydation lipidique	24
5- Définition d'un biomarqueur	26
5-1 : Les produits primaires	26
5-1-1 : Les diènes conjugués	26
5-1-2 : Les hydroperoxydes	27
5-2 : Les produits secondaires	27
5-2-1 : Le malondialdéhyde (MDA)	27
5-2-2 : Le 4-hydroxynonenal. (4-HNE)	27
5-2-3 : Les isoprostanes	28
6- Les mécanismes d'action des anti-lipoperoxydatifs	29
6-1 : Les antioxydants enzymatiques	29
6-2 : Les antioxydants non enzymatiques	29
6-2-1 : Mécanisme retardateur	29
6-2-2 : Mécanisme briseur de chaînes	30
7- Les interactions des biomarqueurs	30

7-1: Interactions avec les macromolécules	30
7-1-1 : les protéines	31
7-1-2 : L'ADN	32
7-2 : Interaction avec les organites	32
7-2-1 : le micrososome	33
7-2-2 : la mitochondrie	33
8- Les pathologies associées aux biomarqueurs	34
9- La peroxydation lipidique dans le foie	35
9-1 : Le mécanisme de l'induction in vivo et in vitro	35
9-1-1 : Le FeSO ₄	35
9-1-2 : Le CCl ₄	36
10- La phytothérapie	37
10-1 : Définition	37
10-2 : L'intérêt thérapeutique des plantes	38
Partie II : partie pratique	39
I- Matériels et méthodes	39
1 : Matériels biologique	39
1-1: Entretien des animaux	39
1-2: Réactifs et solvants	39
1-3: Appareillage	39
2 : Méthodes	39
2-1: Etude <i>in vitro</i>	39
2-2: Etude <i>in vivo</i>	39
2-2-1 : Prévention et induction de la toxicité	39
2-2-2 : Traitement des animaux	39
2-2-3 : Sacrifice des animaux et récupération du foie	40
2-2-4 : Préparation de l'homogénat	40
3 : Dosage de l'MDA	40
3-1 : Principe du dosage	40
3-1-1: Dosage <i>in vitro</i>	41
3-1-2: Dosage <i>in vivo</i>	41
II- Résultats	42
III- Discussion	44
IV- Conclusion	48

Références bibliographiques.

Liste des figures

N	Titre de la figure.	page
1	La balance oxydants/anti-oxydants en équilibre.	03
2	Le transport électronique dans à travers la chaîne respiratoire mitochondriale et la production des ROS.	04
3	La NADPH Oxydase (Nox-2) des phagocytes.	05
4	Les principales sources de génération de radicaux libres et leur catabolisme.	05
5	Le résumé de la production des radicaux libres.	08
6	L'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de L'oxygène impliqué en biologie.	09
7	La réaction de la base guanine avec le radical hydroxyle.	10
8	L'activité de balayage radical de SOD, CAT et GPx.	12
9	Le piégeage des espèces réactives de l'oxygène par les flavonoïdes.	13
10	Les défenses anti-oxydantes dans l'organisme.	15
11	La localisation et l'effet des antioxydants au niveau cellulaire.	15
12	La structure des différents isomères de la vitamine E.	16
13	La localisation d' α tocophérol dans la bicouche lipidique de la membrane.	17
14	L'action anti radicalaire de la vitamine E.	20
15	La forme oxydée de la vitamine E.	20
16	La régénération de la vitamine E par l'acide ascorbique.	21
17	Le réseau de balayage de la triade.	21
18	L'activité antioxydante et régénération de la vitamine E pendant la peroxydation lipidique.	22
19	Les principales réactions d'oxydation des lipides non saturés.	23
20	Le mécanisme de la réaction en chaîne.	25
21	La peroxydation lipidique de l'acide docosahexanoïque (22:6n-3).	25
22	Les étapes de la formation de l'MDA à partir des acides gras.	27
23	Les sources de 4-HNE.	28
24	Les niveaux d'isoprostane dans des spécimens différents.	28
25	Les enzymes impliquées dans l'élimination des hydroperoxydes.	29
26	Le mécanisme possible peut intervenir pour expliquer les activités antioxydantes des polyphénoliques.	30
27	Le mécanisme de la régénération potentiel entre l' α -tocophérol (α -TOH), l'ascorbate (AscO ⁻) et les flavonoïdes (Fl) dans les systèmes membranaires.	30
28	L'acide ascorbique peut enlever des ordures l'espèce radicalaire R [•] introduisant et réduisant le radical tocopheroxyl.	31
29	Représentative chimique d'interactions des aldéhydes dérivés de la peroxydation lipidique (incluant le 4-hydroxy-2-nonenal et l'acroléine) aux protéines par la formation de la base de Schiff ou Michael adduits.	32
30	Les effets de stress oxydatif et la peroxydation lipidique sur les cellules.	33
31	La peroxydation lipidique et la peroxydation-protéines par les produits primaires de la peroxydation lipidique dans la mitochondrie.	34
32	Le mécanisme général du stress oxydatif au niveau du foie.	35

33	La chronologie des étapes menant à un changement des acides gras et à la nécrose cellulaire par le tétrachlorure de carbone.	36
34	La structure des bases structurelles des groupes flavonoïdes principaux (flavan, isoflavan et neoflavan) et des classes flavonoïdes pertinentes. La numérotation d'atome et la nomenclature d'anneau sont aussi incluses.	38
35	Le mécanisme de la quantification de la réaction de TBARS.	40
36	Effet protecteur de l'extrait butanolique (n-BuOH) et de la vitamine E sur la peroxydation lipidique hépatique induite par le système FeSO ₄ /H ₂ O ₂ <i>in vitro</i> chez le rat.	42
37	Effet protecteur de l'extrait butanolique (n-BuOH) et de la vitamine E sur la peroxydation lipidique hépatocytaire induite par le CCl ₄ <i>in vivo</i> chez le rat.	43

Liste des tableaux.

N	Titre du tableau.	Page.
1	Les espèces radicalaires et non radicalaires.	06
2	Les différentes pathologies causées par les ROS.	11
3	Les teneurs en vitamine E dans les aliments.	18
4	Les apports nutritionnels conseillés en vitamine E.	18
5	Les besoins en vitamine E pour les différents acides gras insaturés présents dans l'alimentation humaine.	19

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

µl : Microlitre.

·OH : Radical hydroxyle.

·OOCCl₃ : Peroxyle trichlorométhyle.

¹O₂ : Oxygène Singlet.

4-HNE : 4-hydroxynonanal.

8 oh dg : 8-hydroxy-2' - deoxyguanosine.

AAPH : 2, 2' azobis (2 - amidinopropane) hydrochloride.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

Apaf-1 : Apoptotic peptidase activating factor 1.

ARN : Acide ribonucléique.

AscO⁻ : Ascorbate.

ATP : Adénosine triphosphate.

Bax : Bcl2 Associated X.

Bcl2 : B-cell Lymphoma 2.

C° : Degré Celsius.

CAT : Catalase.

CC : Carbone-carbone.

CCl₃• : Trichlorométhyle.

CCl₄ : Tétrachlorure de carbone.

CH : Liaison méthylène.

CO : Groupe carbonyle.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

CoQ10 : Coenzyme Q10.

Cys : Cystéine.

Cyt c : Cytochrome c.

DA : Dopamine.

DHA : Déshydroascorbate.

DO : Densité optique.

e⁻ : électron.

edA : 1, N6-etheno-2'-deoxyadenosine.

edG : 1, N2-etheno-2'-deoxyguanosine.

Fe²⁺ : Fer réduit.

Fe³⁺ : Fer oxydé.

FeSO₄ : Sulfate de fer.

FI-O : Radical phénoxy flavonoïde.

FI : Flavonoïdes.

g : gramme.

GPx : Glutathion peroxydase.

GR : Glutathion réductase.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion oxydé.

GST : Glutathion "S"-transférases.

H⁺ : Proton.

H₂O₂ : Eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène).

His : Histidine.

IC₅₀ : Concentration d'inhibition de 50 %.

IP : Intrapéritonéal.

O₂ : Oxygène moléculaire.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

LDL : Low-density lipoprotein.

LOOH : Hydroperoxydes.

LPO : Peroxydation lipidique.

Lys : Lysine.

M1A : Deoxyadenosine.

M1C : Deoxycytidine.

M1G : Deoxyguanosine.

MAO : Oxydase mono amine.

MDA : Malondialdéhyde.

mg : Milligramme.

MMO : Système microsomal cytochrome P450-dépendant monooxygénase.

mmol : Milimole.

mtDNA : ADN mitochondriale.

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

n-BuOH : Extrait butanolique.

NH₂ : Groupes amine.

nm : Nanomètre.

NO • : Monoxyde d'azote.

NOS : NO synthase.

NOS1 : NOS neuronaux.

NOS2 : NOS produite dans des conditions inflammatoires.

NOS3 : NOS endothéliale.

NOX : NADPH oxydase.

O₂^{•-} : Anion superoxyde.

OH⁻ : Anion hydroxyle.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

PBS : Tampon phosphate salin.

RH : Pont méthylène.

RL : Radicaux libres.

RNS : Espèces réactives d'azote.

ROO • : Radical peroxyde.

ROS : Espèces réactives oxygénées.

SDS : Sodium dodecyl sulphate.

SH : Thiol.

SOD : Superoxyde dismutase.

TBA : Thiobarbituriques.

TBARS : Thiobarbituric acid reactive substances.

TCA: Acide trichloroacétique.

UV : Ultra-violet.

α -TO[•] : Radical Tocophéroxyle.

α -TOH : Alpha-tocophérol.

α -TTP : Alpha-tocopherol transfer protein.

Introduction



Introduction

L'oxygène moléculaire présente la particularité d'être un élément indispensable et toxique à la fois pour l'Homme. Ainsi, l'oxygène moléculaire peut se transformer dans l'organisme en anions superoxydes, pour générer d'autres espèces réactives oxygénées (ROS) (**Daumbadouard, 2006**) et il peut également générer d'autres radicaux libres à partir de l'azote, classés dans la famille des espèces réactives d'azote (RNS) de nature radicalaire ou non. (**Li et al, 2013**)

Les radicaux libres (RL) sont des atomes ou des molécules fortement réactives avec des électrons non appariés dans leur orbitale externe. (**Omodanisi et al, 2017**), comme l'anion superoxyde (O_2^-), l'eau oxygénée (H_2O_2), le monoxyde d'azote ($NO\cdot$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$) et le peroxydinitrite ($ONOO^-$). (**Singh et al, 2015**)

Les (RL) sont issus de sources endogènes exemple la mitochondrie, les cellules phagocytaires, et de sources exogènes exemple la pollution, l'alcool, les métaux de transitions, certains médicaments et aussi les radiations. Les radicaux libres ont gagné de l'importance dans le domaine de la biologie, en raison de leur rôle central dans des conditions physiologiques diverses aussi bien que dans leur implication dans une gamme diverse de maladies. (**Phaniendra et al, 2015**)

Les radicaux libres sont liés à plus d'une centaine de pathologies comme l'athérosclérose, le diabète, les maladies cardiovasculaires, pancréatiques et maladies du foie, des troubles communs, la fibrose cardiaque, le syndrome de détresse respiratoire aigu, des maladies neurologiques (la sclérose latérale amyotrophique, la maladie de parkinson et la maladie d'Alzheimer), vieillissant et le cancer. (**Hassan et al, 2017**)

Dans les cellules intactes, il existe un équilibre entre la formation et l'élimination des radicaux libres. Cependant, cette balance peut s'orienter vers la formation excessive des radicaux libres ou quand la concentration des antioxydants diminue. Cet état est appelé « le stress oxydatif », et il peut d'autre part provoquer de sérieux dommages si ce dernier est massif et prolongé. (**Shinde et al, 2012**)

Pour équilibrer la balance du stress oxydant, l'organisme a développé ses propres systèmes de défense antioxydants. Parmi ces systèmes, on a les systèmes enzymatiques, notamment le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX), et les systèmes non enzymatiques exemple le glutathion (GSH) et le coenzyme Q10, sans oublier les antioxydants d'origine végétale comme les flavonoïdes, la famille des tocophérols, l'acide ascorbique et les caroténoïdes. (**Laguerre et al, 2007**)

Les ROS et les RNS, à des concentrations physiologiques, peuvent accomplir une variété de fonctions bénéfiques dans l'organisme, telles que la régulation de la transduction des signaux, l'induction de la réponse mitogénique et la participation à la défense contre les agents infectieux. (**Li et al, 2013**). A des concentrations élevées, ils endommagent les macromolécules comme l'ADN, les protéines et les lipides. (**Santo et al, 2016**)

L'oxydation des lipides polyinsaturés, en présence d'oxygène, est un processus radicalaire de réactions en chaînes, connue sous le nom de peroxydation lipidique (LPO), qui se décompose en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (**Michel et al, 2008**). Ce processus produit une série de substances potentiellement toxiques comme le malondialdéhyde (MDA) et les isoprostanes. (**Cai et al, 2017**)

Introduction

Le foie est un organe de métabolisme, et constitue une cible majeure pour les ROS. Il joue un rôle vital dans plusieurs fonctions physiologiques. Les pathologies du foie sont causées généralement par la surcharge en xénobiotiques, comme l'alcool et le tétrachlorure de carbone (CCl₄). (Laouar et al, 2017). Il est largement utilisé dans les modèles expérimentaux des animaux. Son mécanisme hépatotoxique a été profondément étudié depuis 1967, y compris l'utilisation des modèles *in vivo* d'empoisonnement par le CCl₄ (Yoshioka et al, 2017; Weber, 2003)

Le CCl₄ ne peut pas agir isolément pour induire une cytotoxicité hépatique. Ses métabolites (le trichlorométhyle CCl₃ et le peroxyde trichlorométhyle ·OOCCl₃) induisent une augmentation des concentrations de lipoperoxyde et de radicaux libres de peroxyde qui sont responsables de la peroxydation lipidique. (Khan et al, 2012)

Beaucoup d'études ont indiqué que des substances naturelles des plantes médicinales, ont manifestés une forte activité antioxydante, qui pourrait agir contre les dégâts du foie induits par le CCl₄, parce qu'elles contiennent beaucoup de boueurs des radicaux libres comme les flavonoïdes et la vitamine E. (Laouar et al, 2017) Cette dernière est un antioxydant lipophile clé essentiel chez les humains, protecteur des acides gras polyinsaturés (AGPI) et les membranes cellulaires en empêchant la peroxydation lipidique. (Raederstorff et al, 2015)

Le sulfate de fer (FeSO₄) a été utilisé comme un outil pour inciter la peroxydation lipidique dans les hépatocytes *in vitro*. (Oloyede et al, 2012). C'est un solide cristallin anhydre à température et pression ambiante, facilement soluble dans l'eau froide, est facilement hydratable. Il fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'organisation mondiale de la santé, et il est utilisé comme un supplément alimentaire.

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Sulfate_de_fer\(II\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Sulfate_de_fer(II)).

Notre problématique consiste en l'apparition de la peroxydation lipidique, qui peut être produite par le FeSO₄ et le CCl₄, qui sont utilisés dans le domaine médical. Ces substances peuvent altérer les membranes des hépatocytes et par conséquent, elles provoquent des dégâts hépatiques. On a essayé d'empêcher les effets toxiques du FeSO₄ et du CCl₄, par l'utilisation de deux substances d'origine végétales (un extrait butnolique d'une plante médicinale riche en polyphénols *n*-BuOH et la vitamine E).

Beaucoup d'études ont indiqué que des substances naturelles des plantes médicinales, ont manifestés une forte activité antioxydante, qui pourrait agir contre les dégâts du foie induits par le CCl₄, parce qu'elles contiennent beaucoup de boueurs des radicaux libres comme les flavonoïdes et la vitamine E. (Laouar et al, 2017) Cette dernière est un antioxydant lipophile clé essentiel chez les humains, protecteur des acides gras polyinsaturés (AGPI) et les membranes cellulaires en empêchant la peroxydation lipidique. (Raederstorff et al, 2015)

L'objectif de cette étude, consiste à doser un paramètre tissulaire (le MDA), afin d'évaluer les variations protectrices d'un extrait butanolique (*n*-BuOH) d'une plante médicinale, contre la peroxydation lipidique induite *in vivo* et *in vitro*, comparativement à la vitamine E.

Introduction

Le stress oxydant



I- Le stress oxydant

1- Définition

"Le stress" est un terme général qui a été d'abord employé dans un contexte biologique par l'endocrinologue Hans Selye en 1936, pour décrire la réponse physiologique inadéquate d'un organisme. (Schiavone et al, 2013). Le stress occupe une place importante dans la recherche biologique actuelle. L'intérêt considérable porté à ce domaine est justifié par les multiples implications des ROS dans diverses pathologies, comme le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. C'est pourquoi la recherche fondamentale du stress oxydant s'efforce à déchiffrer les bases moléculaires des agressions oxydatives provoquées par les ROS, ainsi que les systèmes physiologiques de protection et de réparation des lésions d'origine oxydatives. (Enoiu, 2001)

Dans l'ensemble des tissus sains, la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre, cet équilibre est important pour l'homéostasie de la cellule http://grenet.free.fr/fjtreize/Entraîneurs/Documents/OHB/Stress_oxydant.pdf.

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production des RL. Ce déséquilibre peut être dû à un déficit nutritionnel en antioxydants, à une surproduction endogènes ou à une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants. (Collard, 2014)

Ce déséquilibre endommage des macromolécules, des cellules, des tissus, des organes et l'organisme dans l'ensemble. Une fois qu'il y a des dégâts à ces macromolécules, leurs fonctions essentielles dans le métabolisme cellulaire sont changées aboutissant à la manifestation de beaucoup de maladies. (Kumar et al, 2017)

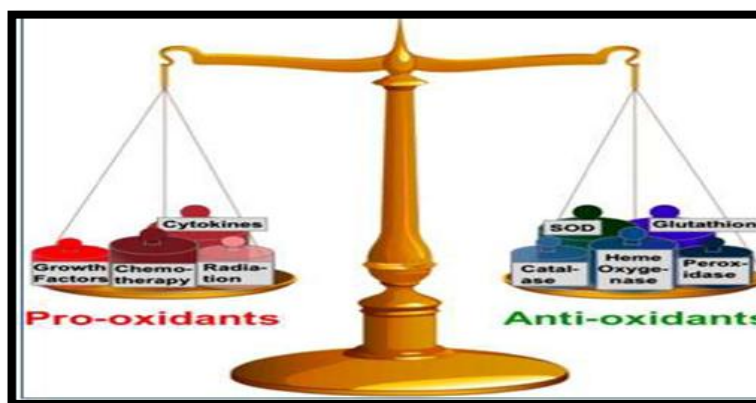


Figure N°1 : La balance oxydants/anti-oxydants en équilibre. (Reuter et al, 2010)

2- Les symptômes du stress oxydatif

Il n'y a pas de symptômes officiellement reconnus du stress oxydatif. Cependant, selon des études récentes, les symptômes peuvent inclure la fatigue, des maux de tête, la sensibilité au bruit, perte de mémoire, douleurs musculaires et articulaires, les rides et les cheveux gris, trouble de la vision et une diminution de l'immunité. (Szalay, 2016)

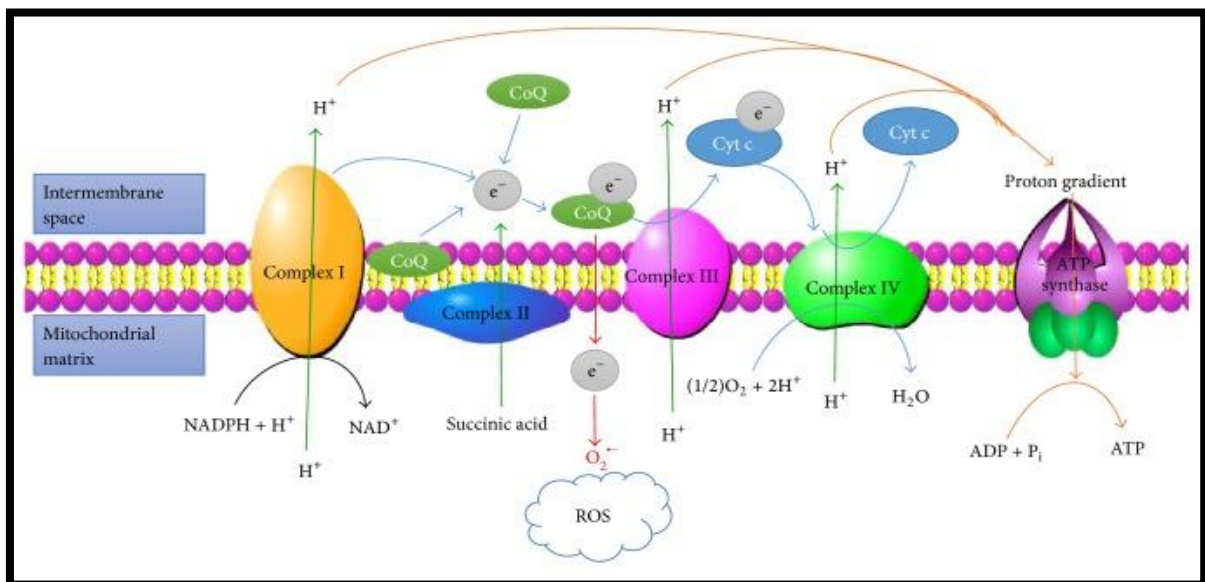
3- Les sources de radicaux libres

Les ROS et les RNS sont générés à partir de sources endogènes ou exogènes. Les radicaux libres endogènes sont produits de la chaîne respiratoire mitochondriale, l'inflammation, l'exercice

excessif, l'ischémie, l'infection, le cancer et le vieillissement. Et les ROS exogènes sont le résultat de la pollution de l'air et de l'eau, la fumée de cigarette, l'alcool, des métaux de transition, de certains médicaments, des solvants industriels, et les radiations. (Hrycay et al, 2015)

3-1 : sources endogènes

La mitochondrie est considérée comme une source majeure des ROS. Il est évalué que 2-3 % d'O₂ consommé par la mitochondrie sont incomplètement réduits. (Mohammed et al, 2015)



La figure N°2 : Le transport électronique à travers la chaîne respiratoire mitochondriale et la production des ROS. **Complexe I** : NADH déshydrogénase, **Complexe II** : succinate déshydrogénase, **Complexe III** : Coenzyme Q-cytochrome c réductase, **Complexe IV** : Cytochrome c oxydase, **CoQ10** : Coenzyme Q10. (Li et al, 2017)

Les complexes I-IV sont localisés dans la membrane interne mitochondriale. Pendant la chaîne respiratoire, si le complexe III ne peut pas recevoir des électrons de CoQ10, les électrons seraient acceptés par O₂, qui pourrait produire les ROS et aboutir au stress oxydatif. (Li et al, 2017)

Les cellules phagocytaires sont une autre source importante d'oxydants, elles libèrent des produits toxiques, qui incluent le monoxyde d'azote (NO[•]), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'anion super oxyde (O₂^{•-}). (Baskaran et al, 2017)

L'apoptose est un processus de la mort cellulaire programmée. Elle active le Bcl-2; un groupe de protéines qui stimule le Bax, qui cause la fuite de cytochrome c. Ce cyt c se lie à Apaf-1 et forme l'apoptosome. Ceci active la caspase 9 et finalement, cause la dénaturation de protéines et la phagocytose de la cellule, d'où la génération des ROS. (Noori, 2012)

Le système microsomal monooxygénase cytochrome P450-dépendant (MMO) est l'un des principales sources des ROS dans le réticulum endoplasmique, notamment le H₂O₂. (Di Meo et al, 2016 ; Zeeshan, 2016)

La plupart des cellules sont capables de produire des radicaux superoxydes $O_2^{\bullet-}$ via une activité NADPH oxydase membranaire (NOX), elle catalyse la réduction monoélectronique de l' O_2 en utilisant le NADPH ou le NADH comme donneur d'électrons :

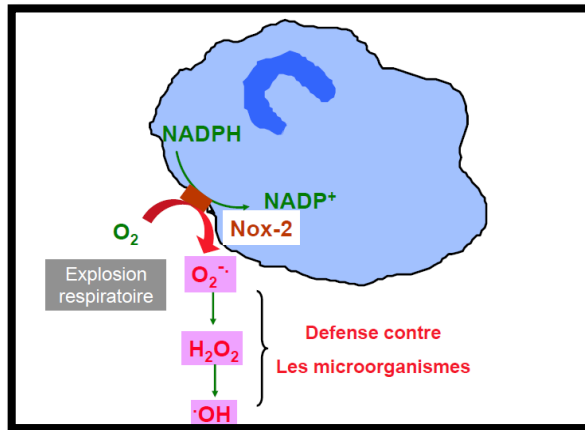
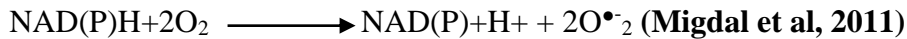


Figure N°3: La NADPH Oxydase (Nox-2) des phagocytes (Cillard, 2011)

Comme un neurotransmetteur, la dopamine (DA) est stable dans la vésicule synaptique. Quand il y'aura un excès de DA dans le cytosol, il sera à l'extérieur de la vésicule synaptique. DA est facilement métabolisée via l'oxydase mono amine (MAO) qui conduit à la production d' H_2O_2 , ou par l'auto oxydation pour produire les ROS. (Mohammed et al, 2015)

3-2 : Sources exogènes

Les espèces réactives d'oxygène peuvent être produites par des processus exogènes. Les sources environnementales comprennent les rayonnements ionisants, et les polluants comme les produits chimiques qui favorisent la formation des superoxydes tels que les quinones, les nitroaromatiques et les herbicides (par exemple le paraquat).

La fumée de cigarette contient des composés organiques et de nombreux radicaux, comme le superoxyde et l'oxyde nitrique.

Les ions de métaux lourds, tels que le fer, le cuivre, le cadmium, Mercure, peuvent induire la génération de radicaux réactifs et provoquent des lésions cellulaires (Birben et al, 2012)

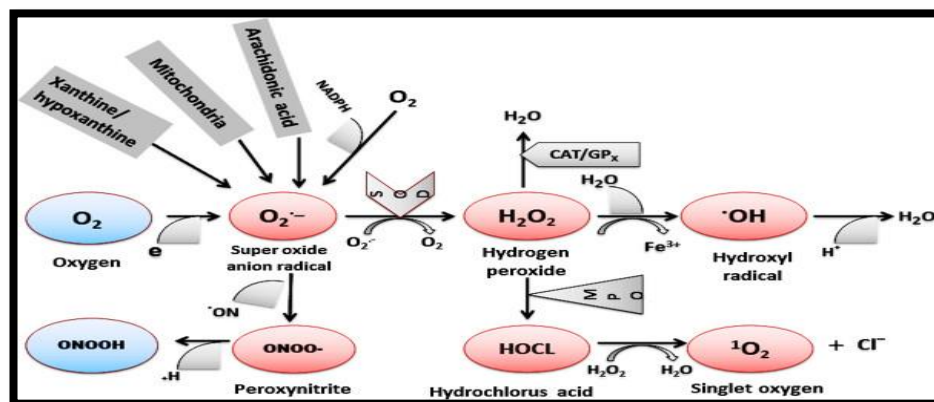


Figure N°4 : Les principales sources de génération de radicaux libres et leur catabolisme. (Shah et al, 2014)

4- Les radicaux libres

4-1 : Définition d'un radical libre

Un radical libre peut être défini comme toute espèce moléculaire instable et très réactive, qui contient un ou plusieurs électrons non appariés dans l'orbitale externe. (Lobo et al, 2010)

Les ROS et les RNS sont considérés comme des produits réactifs, qui ont la capacité pour faire le don d'électrons (e-) aux macromolécules. (Kang et al, 2017) tels que l'ADN, les protéines et les lipides, entraînant une réduction de molécules et des enzymes protectrices, la mort cellulaire. (Gonzalez-Vicente et al, 2017 ; Tanguy et al, 2009).

Il ne faut pas penser que tous les radicaux de l'oxygène sont extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}) ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives. (Favier, 2003).

4-2 : Les différents radicaux libres

Les ROS et les RNS peuvent être classés en deux groupes : espèces radicalaires et espèces non radicalaires. Ces derniers ne sont pas des radicaux libres, mais peuvent facilement conduire à des réactions de radicaux libres chez les organismes vivants. (Phaniendra et al, 2015).

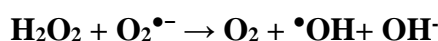
Tableau N°1 Représente les espèces radicalaires et non radicalaires. (Mercan, 2010).

Reactive oxidant species			
Radicals		Non-radicals	
Hydroxyl	$\bullet OH$	Peroxynitrite	$ONOO^-$
Alkoxy	$L(R)O\bullet$	Hypochlorite	$^- OCl$
Hydroperoxyl ^a	$HOO\bullet$	Hydroperoxide ^b	$L(R)OOH$
Peroxy	$L(R)OO\bullet$	Singlet oxygen	$^1\Delta O_2$
Nitric oxide ^c	$NO\bullet$	Hydrogen peroxide ^d	H_2O_2
Superoxide ^d	$O_2^{\bullet-}$		

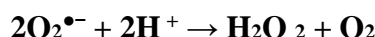
4-2-1 : L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$

Le superoxyde est le principal précurseur de la plupart des ROS, généré par l'addition d'un électron à l' O_2 . Sa principale source dans une cellule est le complexe I et le complexe III de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale. (Piechota-Polanczyk et al, 2014), il possède la plus faible réactivité vis-à-vis des substrats bio-organiques en raison, d'une vitesse faible constante. (Migdal et al, 2011).

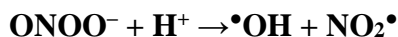
L' $O_2^{\bullet-}$ génère d'autres espèces radicalaires secondaires, en participant à la réaction d'Haber-Weiss, pour former un radical hydroxyle ($\bullet OH$) et un anion hydroxylé (OH^-) selon la réaction suivante : (Santo et al, 2016).



Le superoxyde peut se transformer spontanément au peroxyde d'hydrogène (Santo et al, 2016)



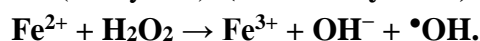
Il peut aussi réagir avec le monoxyde d'azote (NO^\bullet) et former le peroxyde d'azote (ONOO^-), pour former le radical hydroxyle et le dioxyde nitrique : (Lee et al, 2004).



4-2-2 : Le radical Hydroxyle $\bullet\text{OH}$

Le radical hydroxyle $\bullet\text{OH}$ est l'oxydant le plus puissant des ROS avec une vitesse de réactivité élevée, ne possède pas de cibles privilégiées et a une très faible durée de vie. Ce radical peut oxyder un substrat selon trois modes d'action : l'arrachement d'un électron, l'arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique ou l'addition sur une double liaison. (Migdal et al, 2011).

Le $\bullet\text{OH}$ est le radical libre le plus réactif *in vivo*, est formé par la réaction de $\text{O}_2^{\bullet-}$ avec le H_2O_2 en présence de Fe^{2+} ou Cu^{2+} (catalyseur). (Pham-Huy et al, 2008).



https://fr.wikipedia.org/wiki/Réaction_de_Fenton.

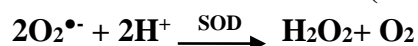
4-2-3 : Le monoxyde d'azote (ou l'oxyde nitrique) NO^\bullet

Le monoxyde d'azote est le principal dérivé réactif d'azote, il constitue la source principale pour générer d'autres RNS. (Ali et al, 2015).

Le NO^\bullet est synthétisé à partir de l'acide aminé L-arginine par de nombreux types cellulaires. La synthèse se produit à travers des synthases d'oxyde nitrique (NOS) de trois types principaux: NOS neuronal (NOS1), la (NOS2) produite dans des conditions inflammatoires et la (NOS3) endothéliale. (Powers et al, 2008). Ce radical a une demi-vie relativement longue, et est connu pour jouer des rôles fonctionnels importants dans une variété de systèmes physiologiques. (Piechota-Polanczyk et al, 2014 ; Santo et al, 2016). Il constitue un espoir dans le traitement des chocs cardiovasculaires et des ischémies de reperfusion après chirurgie des greffes. (Brack, 2010).

4-2-4 : Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

C'est un radical libre modérément réactif. Il est formé lorsque $\text{O}_2^{\bullet-}$ subit à la fois la réduction univalente, comme la montre la réaction suivante : (Das et al, 2014).



Cet espèce est réduite à l'eau par une voie enzymatique par la catalase (dans les Peroxysomes) et le glutathion. (Rao et al, 2011).

Il peut causer des dommages à la cellule à une concentration relativement faible ($10\mu\text{M}$), car il peut facilement pénétrer dans les membranes biologiques. (Phaniendra et al, 2015).

4-2-5 : L'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$)

C'est un agent oxydant très puissant qui peut directement oxyder des protéines, l'ADN et des lipides et causer des dommages tissulaires. (Halliwell, 2006).

Il est également formé in vivo par l'activation des neutrophiles, des éosinophiles et par certaines d'autres réactions enzymatiques catalysées par des enzymes, telles que les lipoxygénases, les dioxygénases et la lactoperoxydase. (Phaniendra et al, 2015).

4-2-6 : Le peroxynitrite (OONO^-)

Le peroxynitrite (OONO^-) est un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques. Il est formé par la réaction entre $\text{O}_2^{\bullet -}$ et NO^\bullet (Haleng et al, 2007).

Le peroxynitrite est produit dans des cellules contenant des enzymes NOS, tels que le muscle lisse ou les cellules endothéliales, et en particulier lors de la réponse inflammatoire. (Piechota-Polanczyk et al, 2014).

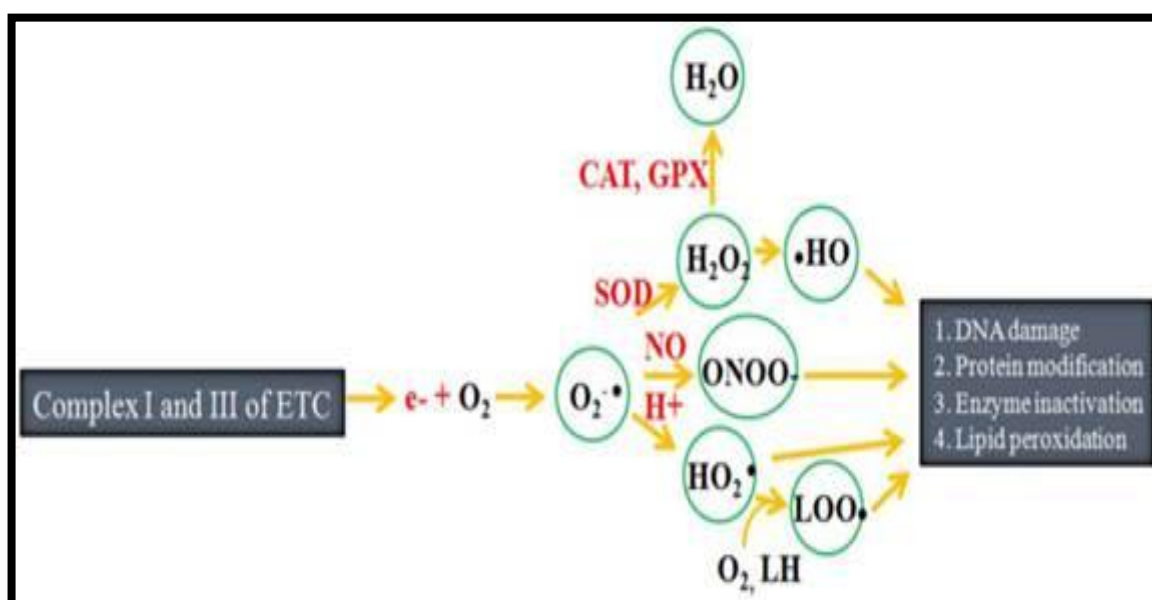


Figure N°5: Résumé de la production des radicaux libres. (Kasote et al, 2015).

4-3 : Formation des radicaux libres

Normalement, les obligations ne se divisent pas pour laisser une molécule avec un électron impair non apparié. Mais quand des liens faibles se divisent, des radicaux libres sont formés. Les RL sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres molécules, essayant de capturer l'électron nécessaire pour gagner leur stabilité. Lorsque la molécule "attaquée" perd son électron, elle même devient un radical libre, en initiant une réaction en chaîne. Tout cela arrive en nanosecondes. Une fois le processus démarré, il continue en cascade, résultant finalement en la rupture d'une cellule vivante. (Sarma et al ,2010).

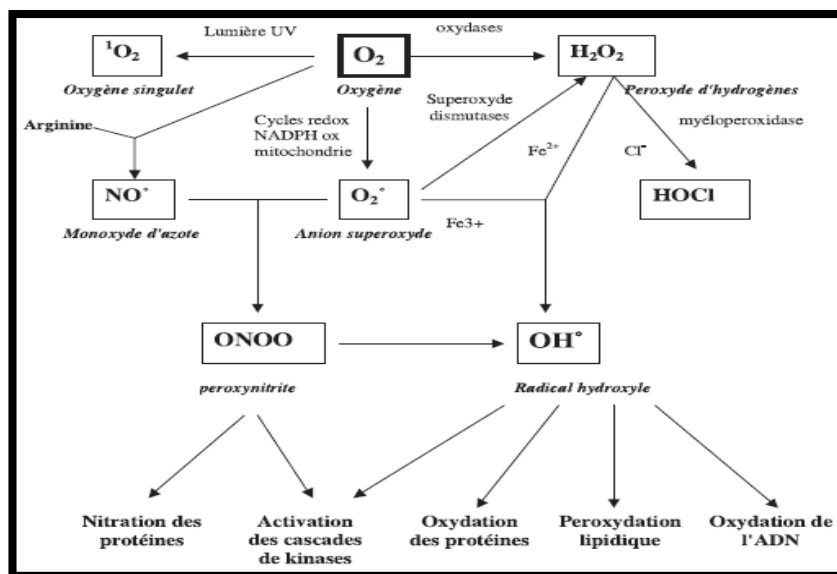


Figure N°6 : L'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie. (Favier, 2003).

4-4 : Rôle des radicaux libres

Les radicaux libres exercent de nombreuses fonctions essentielles dans l'organisme, ils contrôlent le flux sanguin dans les artères pour lutter contre l'infection. Certains radicaux libres tels que NO^\bullet et $\text{O}_2^{\bullet-}$ sont produits en très grandes quantités par les cellules immunitaires, pour détruire les virus et les bactéries et tuent les cellules cancéreuses. (Sarma et al, 2010).

Leur rôle physiologique est impliqué dans la régulation des cascades de signalisation intracellulaire dans divers types de cellules. En bref, les ROS et les RNS à des niveaux faibles ou modérés sont vitales pour la santé humaine. (Pham-Huy et al, 2008).

5- Dommages oxydatifs des macromolécules

Les ROS, peuvent endommager les macromolécules comme l'ADN, les protéines et les lipides quand ils sont présents en concentrations élevées, menant aux menaces de santé graves. (Moukette et al, 2015).

5-1 : Les dommages oxydatifs aux protéines

La protéine subit différents types de modifications, qui peuvent être soit directes ou indirectes. Lors des modifications directes, l'activité de la protéine est modifiée en raison de diverses modifications chimiques, telles que la nitrosation, la carboxylation, la formation de liaisons disulfures. La modification indirecte des protéines peut survenir à la suite d'une interaction avec les produits de la LPO. (Das et al, 2014).

L'oxydation des protéines provoque la fragmentation au niveau des résidus d'acides aminés, la formation des réticulations protéine-protéine, et l'oxydation des structures protéiques qui conduit finalement à une perte de fonction. (Zegarac et al, 2017).

Les acides aminés qui sont particulièrement vulnérables à l'attaque des ROS sont la proline, l'arginine, la lysine et la thréonine. L'oxydation de leurs chaînes latérales conduit à la formation de groupes carbonyle (aldéhydes et cétones). (Burton et al, 2011).

Les protéines qui sont sensibles à l'oxydation incluent les phosphatases, les kinases, les facteurs de transcription et les enzymes métaboliques. (Deavall et al, 2012).

5-2 : L'ADN

Les ROS peuvent causer des dégâts oxydatifs à l'ADN nucléaire. L'attaque sur l'ADN aboutit à l'oxydation de désoxyribose. (Sharma et al, 2012).

Le $\bullet\text{OH}$ et $^1\text{O}_2$ sont les principaux ROS affectant directement l'ADN. (Avery, 2011).

Les dégâts d'oxydation d'ADN comptent plus que celui d'autres macromolécules, parce qu'ils peuvent mener aux mutations génétiques associées aux cancers. La modification oxydative de l'ADN arrive en conséquence des dégâts des bases de pyrimidines et de purines. Parmi les bases oxydatives 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8 oh dg) est le plus abondant, et il est accepté comme marqueur sensible pour des dégâts oxydatifs de l'ADN. (Negi et al, 2011). Le 8 oh dg est formé après que le radical hydroxyle est lié à C8 de la guanine. (Santo et al, 2016).

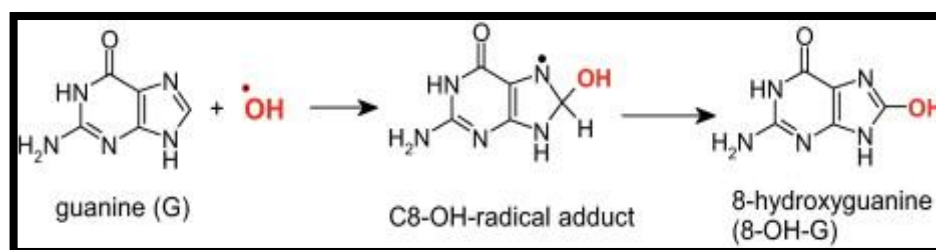


Figure N°7: La réaction de la base guanine avec le radical hydroxyle. (Jomova et al, 2011).

L'ADN mitochondrial est particulièrement vulnérable à une attaque par les ROS, en raison de sa proximité aux complexes. Les dommages de l'ADN mitochondrial sont vastes, même dans les conditions normales, et les mutations se produisent cinq à dix fois plus que le taux observé dans l'ADN nucléaire. (Burton et al, 2011).

5-3 : L'acide ribonucléique (ARN)

L'ARN est plus exposé aux dommages oxydatifs que l'ADN, en raison de sa nature simple brin, l'absence d'un mécanisme de réparation active pour l'ARN oxydé, et moins de protection par les protéines que l'ADN. (Phaniendra et al, 2015).

Il est prouvé que l'ARN oxydé cause des erreurs dans la traduction, menant finalement à la production de protéines anormales. Ces protéines peuvent être responsables de la présence de maladies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer. (Nie et al, 2013).

6- Les pathologies

Un dénominateur commun dans la pathogénie de la plupart des maladies chroniques est l'engagement du stress oxydatif, affectant des processus cellulaires différents, comme la prolifération, le métabolisme, la différenciation et la survie. (Gasparrini et al, 2017) et des organes spécialisés ou les systèmes, notamment les poumons, le foie et les reins, le système nerveux et le système cardio-vasculaire. (Palipoch et al, 2015).

Tableau N°2 : Représente les différentes pathologies causées par les ROS. (Cillard, 2011).

Pathologies chroniques	Pathologies aiguës
<ul style="list-style-type: none"> •Athérosclérose •Cancer •Diabète •Cataracte, DMLA •Maladie d'Alzheimer •Vieillessement 	<ul style="list-style-type: none"> •Lésions de reperfusion post-ischémique (infarctus, AVC, greffe d'organes) •Hyperoxygénation (O₂ hyperbare) •Choc septique •Inflammation

7- Les systèmes de défense antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui peuvent protéger les cellules des dégâts causés par des radicaux libres. Les antioxydants interagissent et stabilisent des radicaux libres et peuvent empêcher certains des radicaux libres de dégâts pourrait autrement causer. (Shinde et al, 2012).

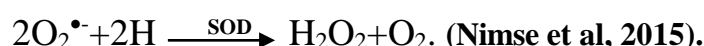
Les antioxydants existent dans les cellules vivantes, l'un ou l'autre enzymatique (le superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase et la catalase) ou non-enzymatique (comme le glutathion et l'acide urique) comme des boueurs de ROS, pour empêcher les dégâts oxydatifs des membranes biologiques. À côté de ces antioxydants trouvés dans les cellules, les antioxydants naturels existent dans les légumes et la majeure partie d'entre eux incluant la vitamine A, la vitamine C, la vitamine E et les caroténoïdes. (Pieme et al, 2017).

7-1 : Les antioxydants enzymatiques

7-1-1 : Les superoxydes dismutases

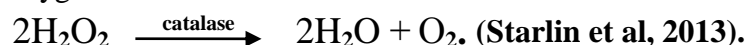
Les superoxydes dismutases (SOD) constituent la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène. (Vergely et al, 2003). Ils sont présents dans presque toutes les cellules aérobies et dans les liquides extracellulaires. (Kabel et al, 2014).

Les SOD sont l'un des antioxydants les plus puissants, ils catalysent la conversion d'anions superoxydes en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène: (Belge, 2016).



7-1-2 : La Catalase

La catalase est une enzyme présente dans les cellules des organismes vivants. (Flora, 2009). Elle est considérée comme une enzyme peroxisomale se trouve aussi dans les autres compartiments cellulaire. (Castaldo et al, 2016). La catalase catalyse la dismutation d'eau oxygénée en eau et oxygène



7-1-3 : Le système de glutathion

Le système glutathion inclut le glutathion, le glutathion réductase, le glutathion peroxydase. (Mandal, 2012).

Le glutathion réductase (GR) est une oxydoréductase NADPH-dépendant, coopérant avec la glutathion peroxydase. Il catalyse la conversion du glutathion oxydé (GSSG) à glutathion réduit (GSH). (Csiszár et al, 2016).

La stabilité des membranes cellulaires et subcellulaires dépend principalement du glutathion peroxydase, et l'effet d'antioxydant protecteur de la glutathion peroxydase dépend de la présence du sélénium. Donc il appartient à un groupe d'antioxydants sélénoenzymes qui protègent les cellules des dégâts oxydatifs. (Shazia et al, 2012).

Le GPx désintoxique le H_2O_2 et le ROO^\bullet utilisant le GSH comme un substrat. (Omodanisi et al, 2017)

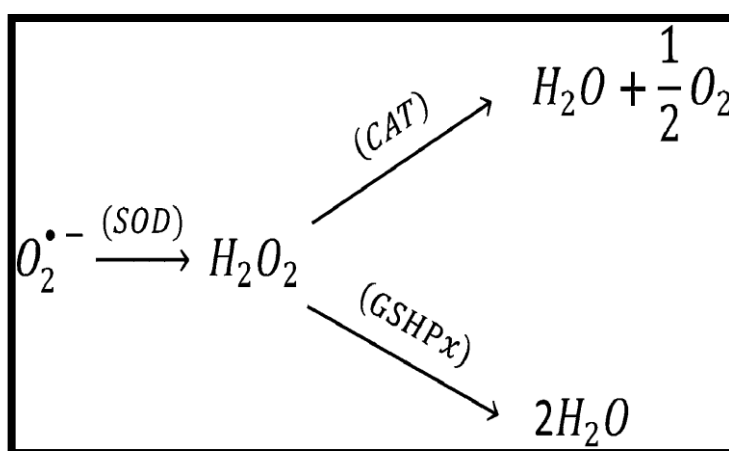


Figure N°8 : L'activité de balayage radical de SOD, CAT et GPx. (Nimse et al, 2015).

7-2 : Les antioxydants non enzymatiques

7-2-1 : La vitamine C (l'acide ascorbique)

C'est un antioxydant que l'on trouve chez les animaux et les plantes, mais ne peut pas être synthétisé chez l'homme, et doit être obtenu à partir de l'alimentation (Kabel et al, 2014). Il est généralement considéré comme l'antioxydant hydrosoluble le plus efficace dans le plasma humain. (Vergely et al, 2003). C'est un cofacteur pour beaucoup de réactions enzymatiques importantes. Il fournit la protection contre le stress oxydatif en agissant comme un boueur des ROS, directement ou indirectement en recyclant l'antioxydant liposoluble, l'alpha-tocophérol (la vitamine E). (Kirkwood et al, 2012). Dans les cellules, il est maintenu dans sa forme réduite par la réaction avec le glutathion. (Kabel et al, 2014).

7-2-2 : Les caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont un groupe de pigments naturels et sont synthétisés par les plantes et les micro-organismes. (Mehta et al, 2015). L'activité antioxydante des caroténoïdes découle principalement du fait de la capacité de la structure à double liaison conjuguée, à délocaliser les électrons non appariés. A des concentrations suffisamment élevées, les caroténoïdes peuvent protéger les lipides des dommages de la LPO. (Flora, 2009).

7-2-3 : Coenzyme Q 10

CoQ10 (2,3 diméthoxy-5-méthyl-6-decaprényl benzoquinone) est une vitamine liposoluble, un cofacteur essentiel dans la phosphorylation oxydative mitochondriale. Il agit comme un porteur d'électrons mobiles, en transférant les électrons du complexe I au complexe III ou du complexe II au complexe III. (Belviranli et al, 2015). Il neutralise les RL même après leur formation. Un rôle important de ce coenzyme est la régénération de la vitamine E. Ce coenzyme est présent dans toutes les cellules et les membranes et joue un rôle important dans d'autres processus de métabolisme cellulaire. (Mehta et al, 2015).

7-2-4 : Les polyphénols et flavonoïdes

Les polyphénols sont synthétisés par les plantes, et constituent un groupe important de substances naturelles présentes dans le règne végétal. Ils présentent une activité antioxydante et fournissent ainsi aux cellules de notre organisme une protection contre les agressions oxydatives.

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 5000 composés différents. Ils sont généralement des puissants antioxydants. www.cari.be/medias/abcie_articles/149_produits.pdf.

La peroxydation lipidique est une conséquence commune de stress oxydatif. Les flavonoïdes protègent les lipides contre des dégâts oxydatifs par des mécanismes divers : (Kumar et al, 2013).

- ✓ Le balayage direct des ROS.
- ✓ L'activation d'enzymes antioxydants.
- ✓ L'activité chélateur métallique.
- ✓ La réduction des radicaux d' α -tocophérol.
- ✓ L'inhibition des oxydases.
- ✓ L'atténuation du stress oxydatif provoqué par l'oxyde nitrique.
- ✓ L'augmentation des niveaux d'acide urique.
- ✓ L'augmentation des propriétés des antioxydants de faible poids moléculaire.

Les flavonoïdes sont capables de piéger les RL directement, par le don d'un atome d'hydrogène. Les radicaux libres sont rendus inactifs selon la figure suivante, où R^\bullet est un radical libre et FI-O est un radical phénoxy flavonoïde.

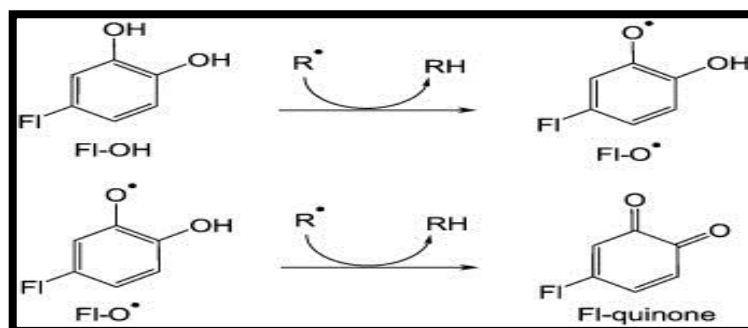


Figure N°9: Le piégeage des espèces réactives de l'oxygène par les flavonoïdes. (Procházková et al, 2011).

7-2-5 : Le Glutathion (GSH)

Le glutathion est un tripeptide, formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de la glycine (γ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine). On le représente de manière simplifiée par GSH ou GSSG. <https://www.nutralica.eu/dossiers-scientifiques/antioxydants-le-glutathion-reduit.html>. Il peut réagir chimiquement avec O_2^{\bullet} , $\bullet OH$, H_2O_2 et, donc peut fonctionner directement comme un boueur de radical libre. Le GSH est recyclé par le glutathion réductase (GR). (Sharma et al, 2012).

Dans la cellule, environ 90% du glutathion est situé dans le cytosol, 10% dans les mitochondries et un petit pourcentage dans le réticulum endoplasmique. Environ 85% de glutathion cellulaire total est libre et non lié tandis que le reste est lié aux protéines. (Main et al, 2012).

7-2-6 : Les oligo-éléments

Les oligo-éléments sont des cofacteurs enzymatiques impliqués dans toutes les grandes voies métaboliques, notamment dans la protection contre les espèces radicalaires.

7-2-6-1 : Le sélénium

C'est un oligoélément essentiel, son importance chez l'homme est bien établie, et son déficit a causé de graves effets sur la santé. (Tinggi, 2008).

7-2-6-2 : Le zinc

Le rôle du zinc dans le système de défense d'antioxydant a été largement examiné. Car il agit comme un régulateur pour plus de 200 enzymes, c'est un cofacteur pour les SOD. Donc ce minéral protège les cellules contre des dégâts oxydatifs. (Marreiro et al, 2017).

7-2-6-3 : Le cuivre

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement des réactions de production des ROS (réactions de Fenton), et peut lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant. (Haleng et al, 2007).

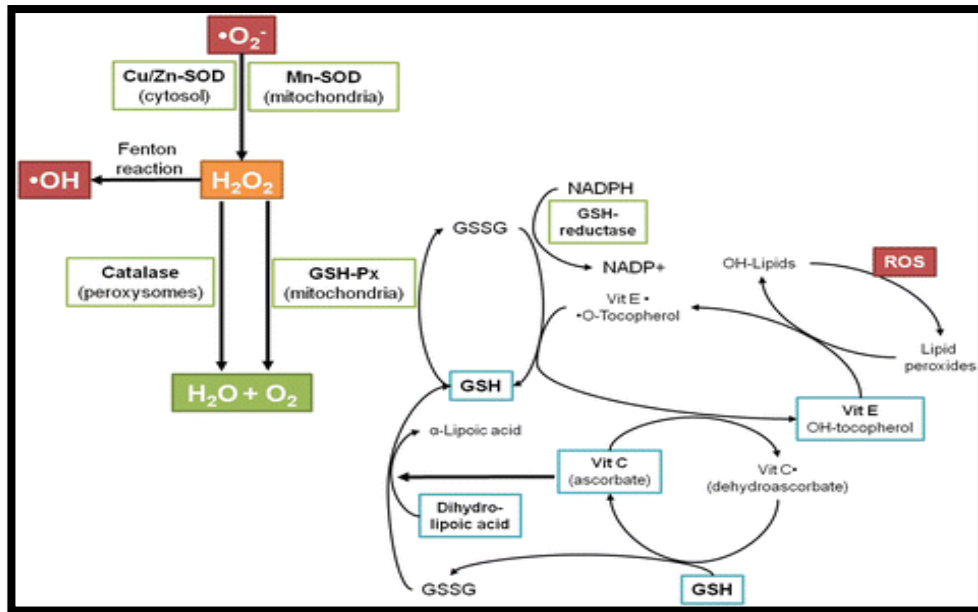


Figure N°10: Les défenses anti-oxydantes dans l'organisme (Belge, 2016).

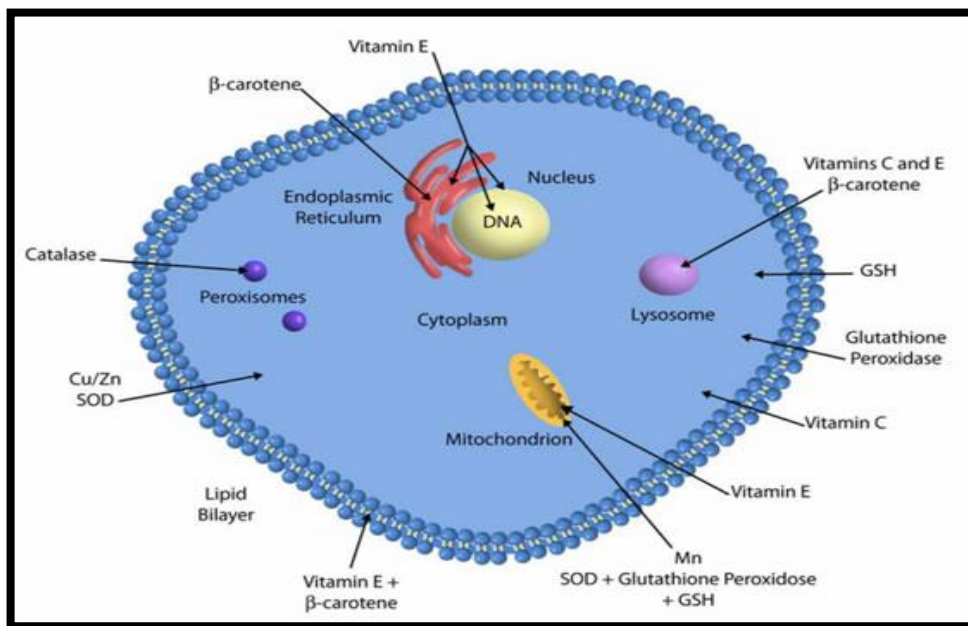


Figure N°11 : La localisation et l'effet des antioxydants au niveau cellulaire (Mandal, 2012).

Vitamine E



II- La vitamine E

1- Historique de la vitamine E

En 1922, des chercheurs californiens ont découvert une substance liposoluble dans le germe de blé et la laitue et l'ont baptisée « Facteur X ». Ils ont déterminé que cette substance était indispensable pour la reproduction des rats. Le Facteur X fut ensuite appelé vitamine E. <http://ods.od.nih.gov>.

2- Définition de la vitamine E

La vitamine E est une substance organique sans valeur énergétique propre qui est nécessaire à l'organisme. Grâce à ses propriétés biochimiques et métaboliques, elle peut être utilisée dans l'industrie agroalimentaire en tant qu'additif alimentaire. http://julientap.free.fr/travail_fichiers/vitamine_E.pdf.2004.

La vitamine E est un groupe d'antioxydants, solubles dans les lipides, trouvés dans toutes les membranes cellulaires. (Grimm et al, 2016). Elle est capable d'empêcher la peroxydation lipidique. (Duncan et al, 2017). La vitamine E existe sous multiples formes naturelles, qui comprennent : l' α -tocophérol, le β -tocophérol, le γ -tocophérol, et de δ -tocophérol ainsi que les formes de tocotriénols de chacun d'entre eux. (Cook-Mills et al, 2010), elle est composé d'un anneau cyclique 6-chromanol et d'une chaîne latérale de 16-carbone. Cette chaîne est saturée pour les tocophérols et insaturée avec trois doubles liaisons pour les tocotriénols (les carbones 3, 7 et 11). La différence entre les deux structures est la position des substituant méthyle. (Suárez-Jiménez et al, 2016). Le groupe hydroxyle dans la position 6 de l'anneau du chromanol est le site actif impliqué dans la donation d'atome H, tandis que la chaîne latérale est impliquée dans l'amarrage des isomères dans la structure des lipides membranaires. (Amrogini et al, 2016).

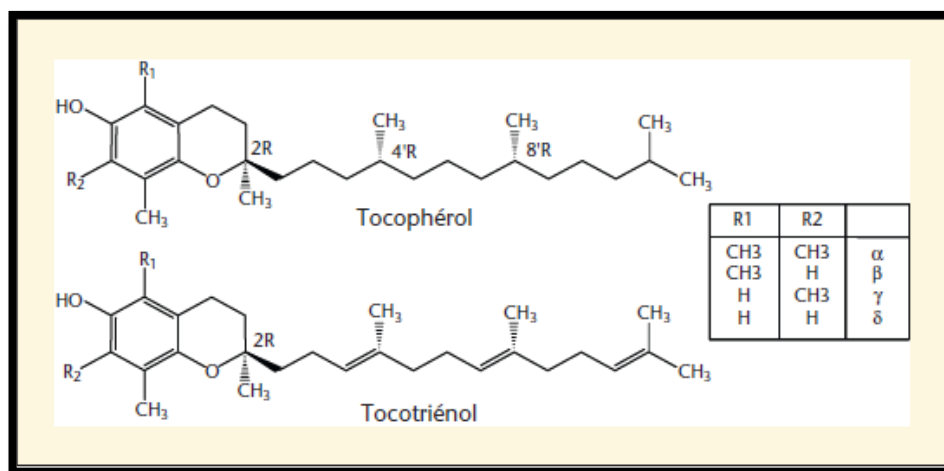


Figure N°12 : La structure des différents isomères de la vitamine E. (Landrier, 2011).

L' α -tocophérol est la forme prédominante de la vitamine E dans les tissus et le plasma humain, elle est considérée comme l'antioxydant le plus effectif. (Sánchez-Sevilla et al, 2016).

L' α -tocophérol est connu pour influencer la perméabilité des membranes cellulaires, elle a d'autres effets en raison de ses interactions spécifiques avec des protéines. (Urban et al, 2012).

▪ Localisation dans les membranes cellulaires

Au niveau cellulaire, la vitamine E est présente à forte concentration dans les membranes et surtout les membranes mitochondriales. La vitamine E est orientée, le noyau chromanol à la surface de la cellule. <http://www.pharmacorama.com/pharmacologie/medicaments-vitamines/vitamine-e-tocopherol/>, et grâce à sa longue chaîne lipidique, elle se fixe au sein des membranes lipidiques, et sa fonction phénolique qui est responsable de son activité antioxydante. Les acides gras insaturés, servent à la constitution de la structure interne des parois des cellules et organes. http://julientap.free.fr/travail_fichiers/vitamine_E.pdf.2004.

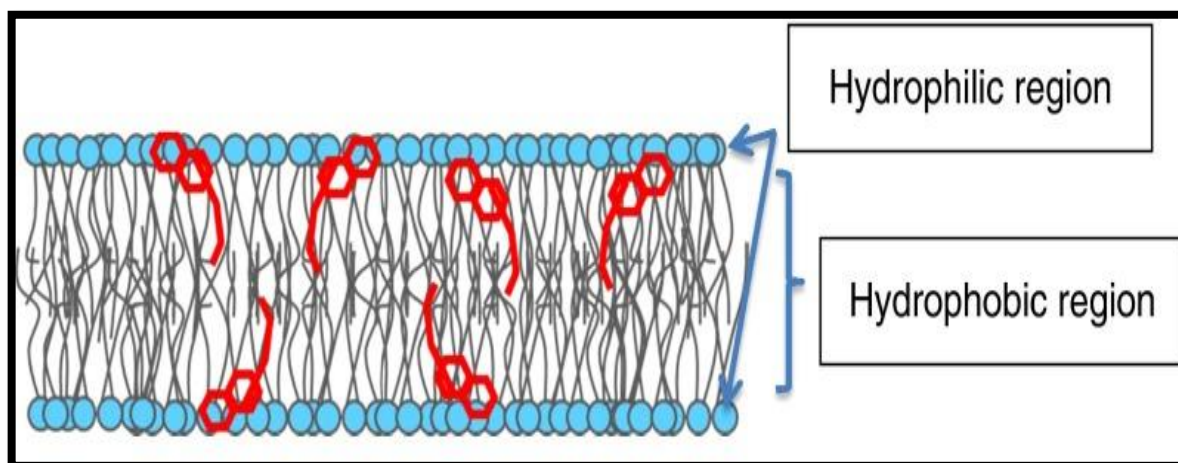


Figure N°13 : La localisation d' α tocophérol dans la bicouche lipidique de la membrane. (Raederstorff et al, 2015).

3- Propriétés physico-chimiques

Tous les tocophérols se présentent, à la température ambiante, sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques. Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases. http://julientap.free.fr/travail_fichiers/vitamine_E.pdf.2004.

4- Sources et apports nutritionnels

La vitamine E est largement répandue dans les produits naturels d'origine végétale ou animale.

Tableau N°3 : Les teneurs en vitamine E dans les aliments. (Daine, 2016).

Les aliments	Teneur en vitamine E en mg pour 100 g d'aliment.
Huile de tournesol	75
Huile de noisette	49
Huile de colza	42
Margarine	27
Huile d'olive	25
Germe de blé	15
Amande	14,6
Noix, noisette.	3,5 à 8,5
Céréales de petit-déjeuner enrichies en vitamine E	2 à 6,3
Pruneau, abricot séché	2 à 4
Moule cuite,	2,1 à 3,9
Kiwi, pêche, mûre	1,2 à 2,4
Avocat, olive	2 à 2,4
Brocoli cuit, épinard cuit	1 à 2
Sardine, maquereau ou saumon cuit	0,3 à 2
Œuf	1,3

Tableau N°4: Les apports nutritionnels conseillés en vitamine E. (Daine, 2016).

	Apport conseillé en vitamine E en mg par jour (1)
Nourrissons	4
Enfants de 1 à 3 ans	6
Enfants de 4 à 6 ans	7,5
Enfants de 7 à 9 ans	9
Enfants de 10 à 12 ans	11
Adolescents et Adultes	12
Femmes enceintes et allaitantes	12

5- Le rôle de la vitamine E

Le rôle essentiel de la vitamine E dans le système de défense a été réévalué par le (CEDS) Comité Européenne D'experts de la Sécurité, qui a conclu que le comité scientifique indique que «la vitamine E contribue à la protection des constituants cellulaires des dommages oxydatifs *in vivo* et *in vitro*. (Raederstorff et al, 2015).

Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer dans les membranes biologiques riches en AGPI, ou elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les ROS. (Iandrier, 2011).

La vitamine E joue un rôle central dans la modulation de l'activité des enzymes, la multiplication cellulaire, la réponse inflammatoire, la transduction de signal et l'expression des gènes. (Qu et al, 2016).

Une autre fonction antioxydante de la vitamine E est d'inhiber l'agrégation plaquettaire. (Suárez-Jiménez et al, 2016), et elle est utilisée dans la prévention du cancer et le diabète (Liu et al, 2006 ; Boshtam et al, 2005 ; Suksomboon et al, 2011 ; Lippman et al, 2009).

L' α -tocophérol protège les lipoprotéines de basse densité (LDL). **Vitamine E**
WWW.organostate .educ.

6- Biotransformation

Le parcours de la vitamine E après sa consommation orale suit en général la voie des autres lipides. L'absorption exige la présence d'autres produits alimentaires riches en lipide comme les acides gras. La digestion au niveau intestinale s'effectue à l'aide des enzymes pancréatiques et suivie par la circulation et la distribution vers le foie et les tissus périphériques, est la même pour toute les formes de la vitamine E. Ces formes sont dégradées au niveau hépatique par un mécanisme catalysé par le cytochrome P450. La discrimination entre les formes différentes de cette vitamine en faveur d' α -tocophérol arrive principalement dans le foie par α -TTP, qui protège α -TOH de la dégradation excessive et l'excrétion. (Schmölz et al, 2016), tandis que les autres formes sont rapidement métabolisées et excrétées par le même mécanisme des acides gras à longue chaîne et les xénobiotiques lipophiles. (Amrogini et al, 2016).

Tableau N°5 : Les besoins en vitamine E pour les différents acides gras insaturés présents dans l'alimentation humaine. (Raederstorff et al, 2015).

Numéro de doubles liaisons dans l'acide gras	acides gras	vitamine E (mg/g acides gras)
1	Acide oléique	0.075
2	Acide linoléique	0.5
3	Acide alpha linoléique	0.75
4	Acide arachidonique.	1

8- Mécanisme d'action de la vitamine E:

La vitamine E s'oppose à la peroxydation des acides gras en peroxydes par réactions radicalaires.

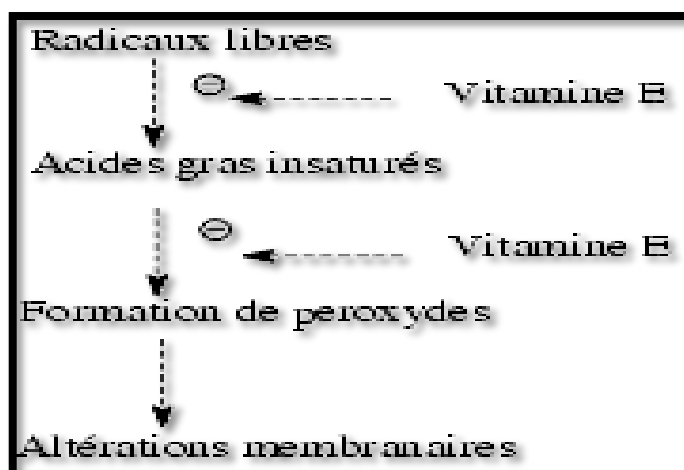


Figure N°14: L'action anti radicalaire de la vitamine E. <http://www.pharmacorama.com/pharmacologie/medicaments-vitamines/vitamine-e-tocopherol/>

Pendant la peroxydation lipidique le peroxyde (LOO^\bullet) est produit. La vitamine E piège ce radical avant qu'il attaque le lipide (LH) pour produire les hydroperoxydes (LOOH). Dans la partie non-hydrophobe d' α -tocophérol, il y a le groupement hydroxyle (OH), dont l'atome d'hydrogène est facilement amovible. (Dhingra, 2014). Les tocophérols perdent cet atome, qui est donné au peroxyde, et le radical tocophéroxyl est formé. (Szarka et al, 2012), ce radical résultant est relativement stable et dans des circonstances normales, insuffisamment réactif pour initier la peroxydation lipidique elle-même, qui est un critère essentiel d'un bon antioxydant.

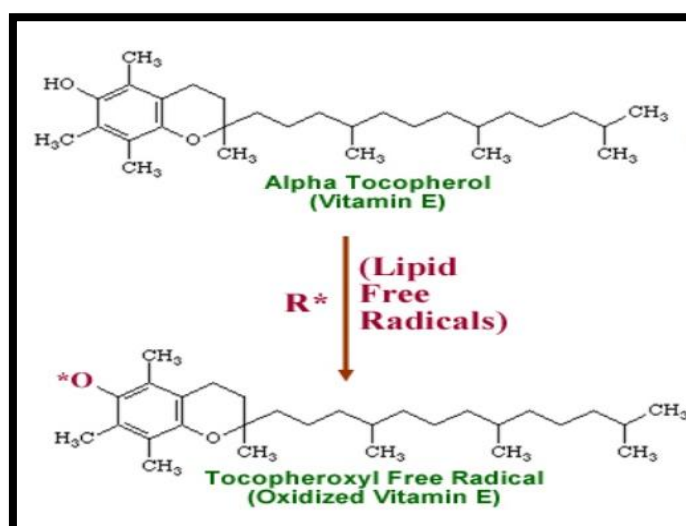
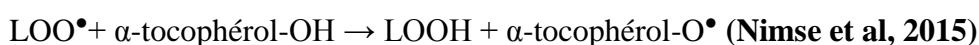


Figure N°15 : La forme oxydée de la vitamine E. (Biswas, 2016).

Le radical peroxyde va se combiner avec les acides gras de la queue de la vitamine E, arrêtant ainsi de retirer les électrons d'acides gras des membranes. Donc, la vitamine E, par suite à ses caractéristiques structurales, agit comme l'interrupteur de chaîne. (Miguel et al, 2017). Le taux de la réaction entre l' α -tocophérol et le radical peroxyde est de plusieurs ordres de grandeur plus grande que la réaction entre le radical peroxyde et les molécules de lipide. (Duncan et al, 2017).

9- La régénération de la vitamine E :

Il existe de nombreux antioxydants cellulaires non protéiques, tels que les α -tocophérols, la vitamine C et le glutathion. (Hopkins, 2017). Ces composés antioxydants sont le plus souvent des nutriments essentiels car nous, les mammifères, ne savons pas contrairement aux plantes d'effectuer la synthèse des vitamines. Toutefois, certains composés sont spécifiquement synthétisés par nos cellules comme le (glutathion). (Leverve, 2009).

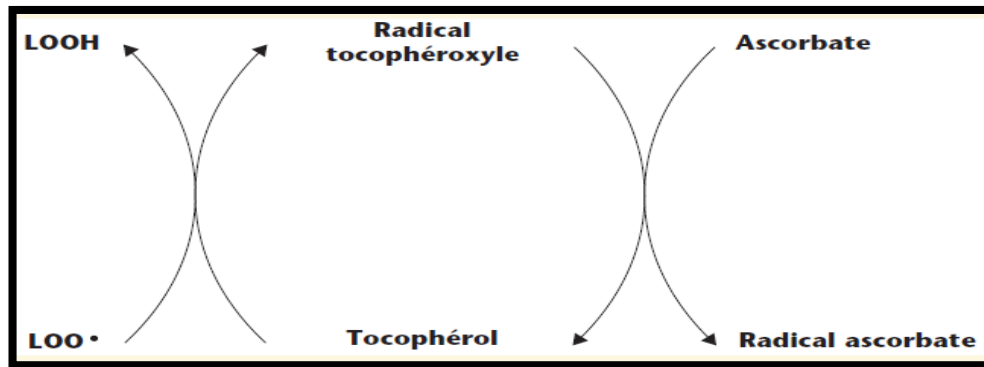


Figure N°16 : La régénération de la vitamine E par l'acide ascorbique.

La vitamine E radicalaire est régénérée par la vitamine C à l'interface cytosolique de la membrane, et l'interaction entre l'ascorbate (Asc) et le radical tocophéroxyl serait facilitée par le positionnement d'un noyau chromanoxyle à proximité de la surface de la membrane, la queue du tocophérol est bien ancrée dans la double couche lipidique et le noyau chromanol « flotte » comme un cerf-volant au contact de l'interface phase aqueuse/phase lipidique afin de rendre accessible à l'ascorbate. (Guilland, 2011).

Le réseau de balayage de la triade α -tocophérol-ascorbate-glutathion, permet de réduire le radical tocophéroxyle par l'Asc, tandis que le déshydroascorbate (DHA) est formé. (Szarka et al, 2012). DHA est réduite à l'ascorbate à nouveau par une réaction dépendante de la GSH-catalysée par la réductase déshydroascorbate (DR). Au cours de cette réaction, le GSH est oxydé en disulfure de glutathion (GSSG).

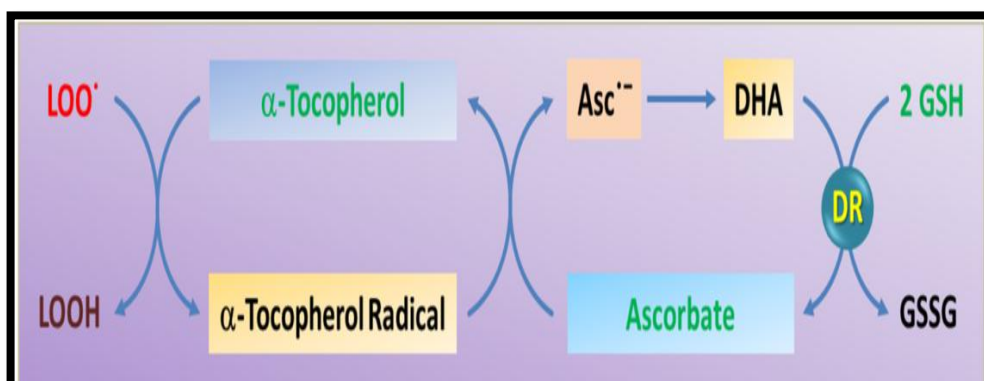


Figure N°17 : Le réseau de balayage de la triade. (Hopkins, 2017).

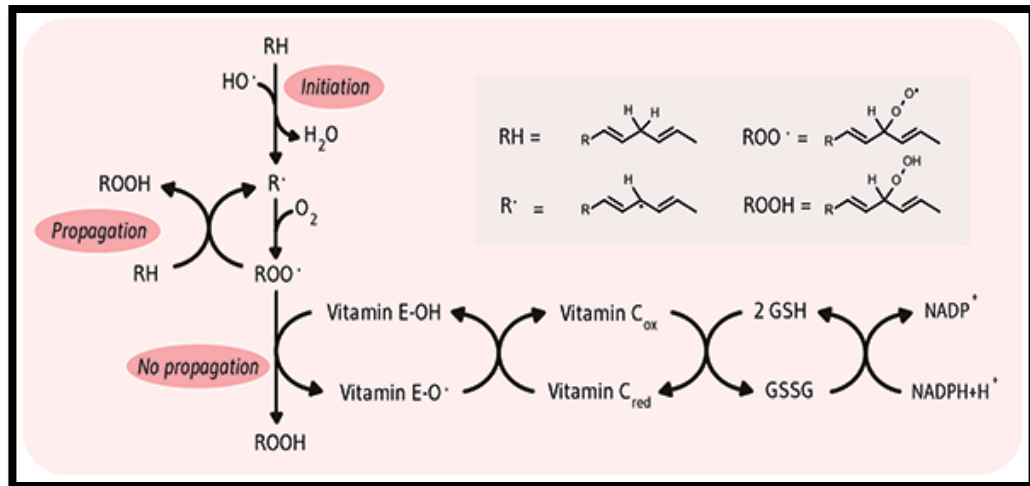


Figure N°18: L'activité antioxydante et régénération de la vitamine E pendant la peroxydation lipidique. **Vitamine E** [WWW.organostate .educ](http://www.organostate.edu).

10- Les carences en vitamine E:

L'absence ou le manque de la vitamine E peut mener à plusieurs dysfonctionnements et même des maladies. (Urban et al, 2012), incluant l'angine, l'hypertension, l'inflammation, l'athérosclérose, purpura, l'ataxie, des troubles hématologiques, le diabète, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et le cancer. (Duncan et al, 2017).

La carence en vitamine E peut être une carence d'apport (l'excès de graisses saturées dans l'alimentation), une carence d'absorption (malabsorption digestive chronique comme dans la maladie de Crohn, la lipo-protéïnémie, la cirrhose éthylique, pancréatite) ou une utilisation excessive (l'effort physique entraîne une baisse temporaire de la vitamine E).

<http://www.santenaturellement.com/Vitamine-E.htm>

Le risque de surdosage semble faible, car l'excès de vitamine E peut s'excréter par la bile hépatique, sous réserve de fonctions hépatiques normales. (Maton, 2015).

Peroxydation lipidique



1- Peroxydation lipidique

Les lipides sont une composante importante de l'alimentation, et constituants structuraux et fonctionnels des cellules dans les systèmes biologiques. Cependant, ces substances sont sensibles au phénomène de l'oxydation par diverses voies. Leur stabilité à l'oxydation dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques, y compris la non-saturation de leurs acides gras, la composition des composants mineurs, les conditions de l'environnement, les techniques de livraison et de l'utilisation d'antioxydants, entre autres.

(Shahidi et al, 2010).

Les acides gras ont des fonctions importantes étant responsables de la fluidité de membranes cellulaires, ils sont aussi des sources importantes d'énergie (Nowak, 2013).

2- Définition

Il y a longtemps qu'il a été reconnu que les concentrations élevées des radicaux libres, peuvent infliger des dégâts directs aux lipides. Les glycolipides, les phospholipides et le cholestérol sont les cibles préférées d'endommagement radicalaire. (Ayala et al, 2014).

Quand les lipides non saturés sont oxydés sans sortie d'énergie, ils vont rancés en raison de la détérioration oxydative, quand ils réagissent directement avec l' O_2 . Ce rancissement est connu sous le nom de peroxydation par les biologistes et auto oxydation par les chimistes. (El-Beltagi et al, 2013 ; Else et al, 2015). En effet il existe trois types de la peroxydation lipidique selon le schéma suivant.

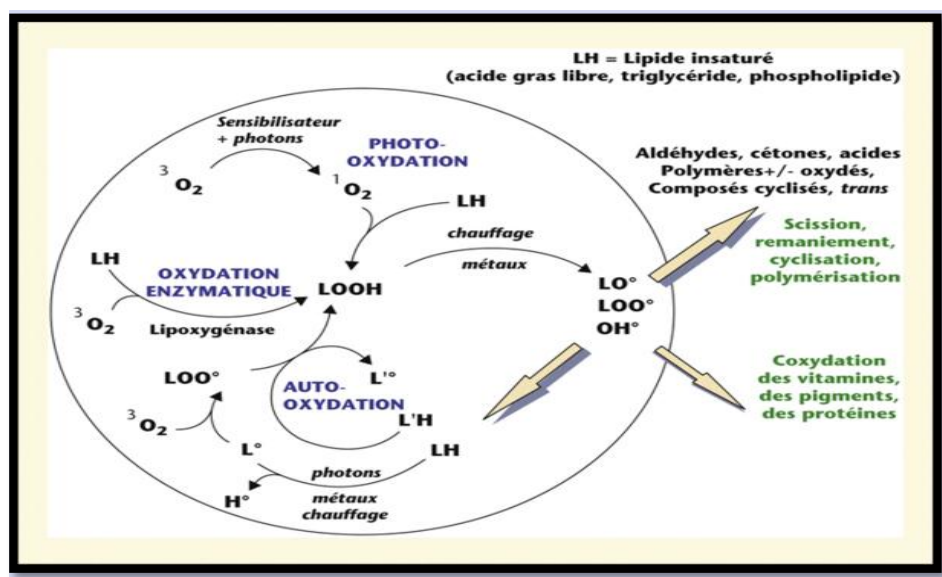


Figure N°19 : Les principales réactions d'oxydation des lipides non saturés. (Cuvelier et al, 2012).

2-1- la peroxydation enzymatique : par les lipoxygénases, les cyclooxygénases et le cytochrome C qui sont des enzymes importantes qui oxydent des acides gras *in vivo*. (Niki, 2008).

2-2- la photo oxydation : elle se produit lorsque l'oxygène triplet est converti en oxygène singlet, par l'exposition au rayonnement UV. L'oxygène singlet interagit avec des acides gras polyinsaturés pour former les hydroperoxydes, qui initient la réaction d'auto-oxydation (Frankel, 2005).

2-3 : La peroxydation non-enzymatique : La peroxydation lipidique est un processus physiologique normal qui a lieu dans tous les tissus de l'organisme vivants. (Simonov et al, 2015). Pendant le stress oxydatif, la peroxydation lipidique est une réaction en chaîne menant à la formation de composés actifs divers. (Singh, 2014). Elle est peut être décrite généralement comme une réaction sous laquelle les oxydants tel que les radicaux libres, attaquent les acides gras contenant les doubles liaisons entre les atomes de carbone par l'extraction d'hydrogène. (Ayala et al, 2014).

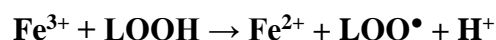
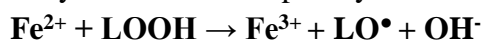
3- Les initiateurs de la peroxydation lipidique

Le processus de la peroxydation lipidique peut être amorcé par une variété d'oxydants radicalaires, y compris le H_2O_2 , le $O_2^{\bullet-}$ et les $\bullet OH$ fortement réactifs, au cours des états pathologiques, ou à partir de molécules non radicalaires tels que l'exposition à des xénobiotiques, aux polluants environnementaux et par les métaux de transition comme le fer et moins souvent le cuivre selon les équations suivantes : (Ramana et al, 2017; Gaschler et al, 2017).

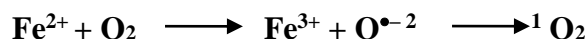
La Production directe de radicaux alkyls.



La décomposition des hydroperoxydes en radicaux peroxydes ou alkoxydes



Ou L'activation de l'oxygène moléculaire puis la production de l'oxygène singlet.



(Mercan, 2010; Gad et al, 2015).

4- Les étapes de la peroxydation lipidique

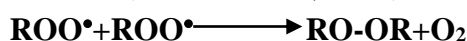
Quand les ROS interagissent avec des AGPI, le processus de la peroxydation lipidique s'initie en trois étapes: l'initiation, la propagation et la terminaison. (Yüksel et al, 2015).

L'initiation est le pas par lequel un radical d'acide gras est produit, le radical hydroxyle se combine avec un atome d'hydrogène pour former de l'eau et un radical acide gras.



<http://www.cyberlipid.org/perox/oxid0006.htm> Peroxidation Mechanisms.

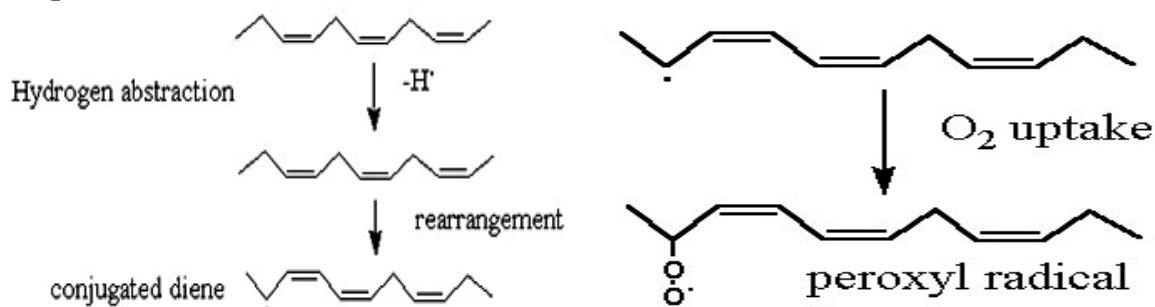
Le radical acide gras n'est pas une molécule stable, donc il réagit aisément avec l'oxygène moléculaire, créant ainsi un radical peroxy instable, qui réagit avec un autre acide gras produisant un radical acide gras différent, et une molécule d'eau oxygénée. Ce cycle se propage comme le nouveau radical acide gras réagit de la même façon. Cela aboutit à une réaction en chaîne, c'est la seule façon d'arrêter une réaction radicalaire est pour deux radicaux pour réagir et produire une espèce non radicalaire. (Vasilaki et al, 2017).



(Vishwanath et al, 2011).

▪ Processus de la peroxydation lipidique

Comme les AGPI sont plus vulnérables que les acides gras saturés, il est évident que le pont méthylène (RH) représente un site cible critique. La présence d'une double liaison adjacente à un groupe méthylène, rend la liaison méthylène CH plus faible et donc l'hydrogène plus sensible à l'abstraction. Cela laisse un électron non apparié sur le carbone, formant un radical carboné, qui est stabilisé par un réarrangement moléculaire des doubles liaisons, pour former un diène conjugué, qui se combine alors avec l'oxygène pour former un radical peroxy ROO^\bullet (Repetto et al, 2012).



<http://www.cyberlipid.org/perox/oxid0006.htm> Peroxidation Mechanisms.

Les radicaux peroxydes sont capables d'extraire un atome hydrogène des lipides adjacents pour former les hydroperoxydes. (Alzoghaib, 2013).

L'oxydation d'AGPI peut être estimée par l'augmentation linéaire du taux d'oxydation avec le nombre croissant des groupes de méthylène actifs. (Miller et al, 2014).

La peroxydation lipidique provoque la rigidité accrue de la membrane cellulaire, diminution de l'activité des enzymes, détérioration de la perméabilité membranaire, changement des centres hydrophobes de la structure des protéines, la mutagénicité, et l'inhibition de la synthèse des protéines. (Nwosu et al, 2016).

5- Définition d'un biomarqueur

Les biomarqueurs sont définis comme les caractéristiques qui peuvent être objectivement mesurées et évaluées comme des indicateurs des processus biologiques normaux, des processus pathologiques, ou des réponses pharmacologiques à une intervention thérapeutique. (Niki, 2008).

La peroxydation lipidique est un processus complexe allant de la formation des produits primaires jusqu'à celle des produits secondaires. (Michel et al, 2008).

5-1 : Les produits primaires

5-1-1 : Les diènes conjugués

Les diènes conjugués sont parmi les premiers produits de la peroxydation des AGPI. Ils sont des diènes dont les deux doubles liaisons sont séparées par une liaison simple selon le motif $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}=\text{CH}-$. (Dubois, 2015).

La mesure des diènes conjugués est une méthode rapide réalisée par mesure spectrophotométrique à 233 nm directement sur l'extrait lipidique. (Eymard, 2003).

5-1-2 : Les hydroperoxydes

La peroxydation lipidique est caractérisée par la présence des hydroperoxydes. Ces molécules oxydées peuvent se décomposer en « produits secondaires » pour former des aldéhydes comme le MDA, le 4-HNE ou des isoprostanes. (Michel et al, 2008).

5-2 : Les produits secondaires

5-2-1 : Le malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est un aldéhyde à trois carbones et à faible poids moléculaire, il peut être produit par différents mécanismes.

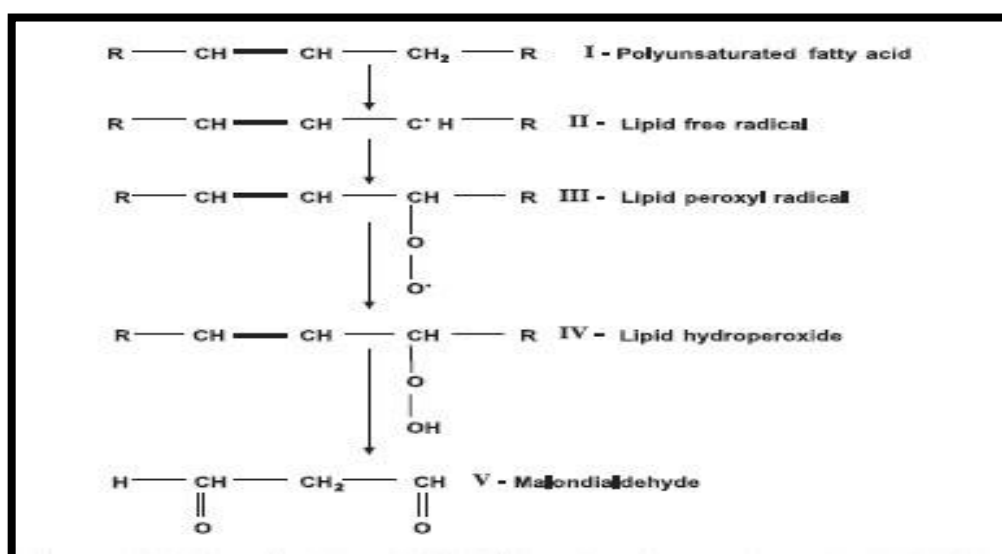


Figure N°22: Les étapes de la formation de l'MDA à partir des acides gras. (Grotto et al, 2009).

Il est considéré comme un produit final typique de la peroxydation lipidique d'AGPI et un biomarqueur du stress oxydatif. (Chen et al, 2017).

Le MDA est connu être mutagénique et cancérigène dans la nature. Les changements de sa concentration dans le plasma, peuvent être utilisés comme un indicateur périphérique potentiel pour étudier beaucoup d'états pathologiques. (Naduthota et al, 2017).

5-2-2 : 4-hydroxynonenal (4-HNE)

Le 4-HNE, est connu comme un produit de la peroxydation lipidique, qui se lie aux macromolécules. (Jørgensen et al, 2014).

Un aldéhyde amphiphile à neuf carbones, tiré de l'oxydation d'acides gras polyinsaturés, comme l'acide linoléique, l'acide linoléique, ou l'acide arachidonique. Le 4-HNE est non seulement un marqueur de stress oxydatif, mais peut contribuer aux maladies multiples, y compris le cancer, l'athérosclérose et l'hypertension. (Xua et al, 2017). Il réagit avec plusieurs biomolécules comme les phospholipides, les protéines et les nucléotides. (Pillon et al, 2012).

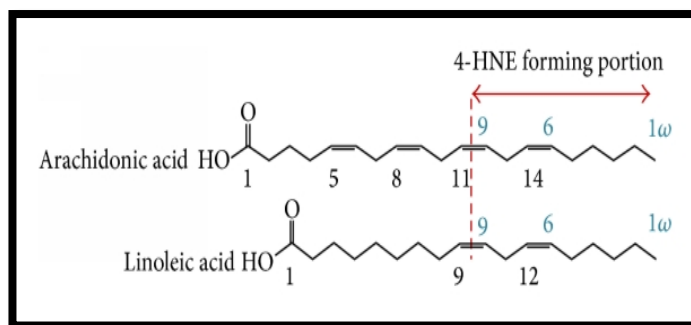


Figure N°23: Les sources de 4-HNE.

Les concentrations de 4-HNE détectables dans le sérum humain dans des conditions non pathologiques sont de 0,05 à 0,15 micromoles par litre. (Schwarzer et al, 2015).

5-2-3 : Les isoprostanes

Ce sont des eicosanoïdes cycliques formés d'une manière non-enzymatique *in vivo*, lors de la peroxydation lipidique des AGPI libres ou estérifiés dans les phospholipides membranaires. (Michel et al, 2008). Les isoprostanes sont des marqueurs du stress oxydant, mais ils sont aussi les plus difficiles pour être mesurer. (Janicka et al, 2010). Ils sont considérés pour être l'étalon dans la mesure systémique de la peroxydation lipidique dans le plasma et l'urine des mammifères. (Labuschagne et al, 2013).

Les sources des radicaux libres pour la formation d'isoprostanes comprennent: La chaîne de transport d'électrons mitochondriale, des enzymes P450 ($O_2^{\bullet-}$ et $\bullet OH$), lipoxygénase. (Mahajan et al, 2014).

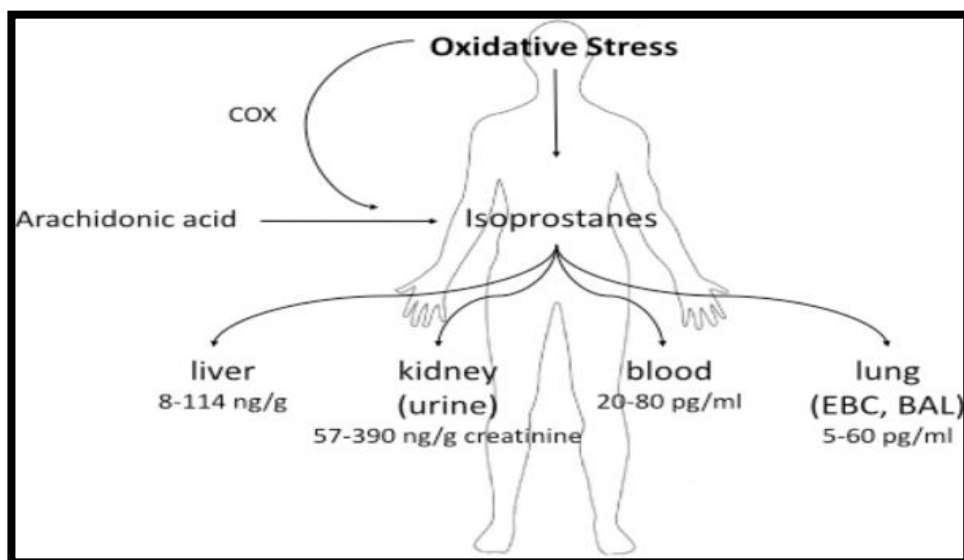


Figure N°24: Les niveaux d'isoprostane dans des spécimens différents. (Janicka et al, 2010).

6- Les mécanismes d'action des anti-lipoperoxydatifs

6-1: Les antioxydants enzymatiques

Les enzymes antioxydantes primaires sont principalement préventives et ces enzymes comme la SOD, la CAT, et la GPx peuvent décomposer les ROS et empêcher l'initiation des LPO. GPx et GST, qui catalysent la réduction GSH-dépendante de LOOH par leur activité peroxydase, sont les majeurs enzymes de défense secondaire pour prémunir contre la LPO induite par les ROS. (Halder et al, 2014).

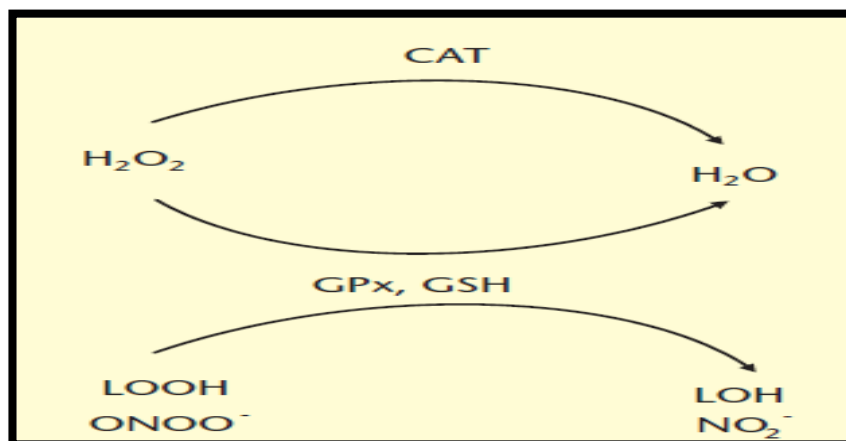


Figure N°25 : Les enzymes impliquées dans l'élimination des hydroperoxydes. (Cillard et al, 2006).

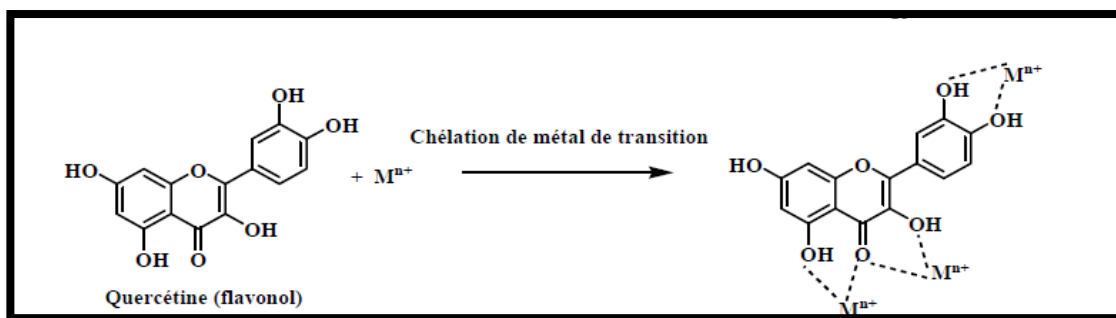
6-2: Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques peuvent agir contre l'oxydation de deux manières distinctes soit en protégeant les lipides cibles des initiateurs de l'oxydation, soit en interrompant la phase de propagation. Dans le premier cas, les antioxydants dits préventifs (ou retardateurs), empêchent la formation ou piègent les ROS responsables de l'initiation de l'oxydation ($O_2^{\bullet-}$, 1O_2 ...). Dans le second cas, les antioxydants dits briseurs de chaînes interceptent les radicaux propagateurs de l'oxydation (LOO^{\bullet}) ou participent indirectement à l'interruption de l'oxydation radicalaire en chaîne. (Laguerre et al, 2007).

6-2-1: Le mécanisme retardateur

La diversité des agents initiateurs de l'oxydation conduit à une multiplicité des voies d'antioxydation préventives.

Les chélateurs des métaux de transition : Les chélateurs de métaux bloquent le cycle redox de certains métaux, qui sont responsable de la production des radicaux libres. Ce sont des protéines telles que la transferrine, la ferritine, la lactalbumine qui séquestrent le fer, la céruloplasmine et l'albumine qui séquestrent le cuivre. Les flavonoïdes sont de bons chélateurs du fer, ce qui est un des mécanismes de leur activité antioxydante. http://www.academia.edu/11319555/les_antioxydants_dans_les_aliments_et_leurs_bienfaits_chez_lHomme.



La figure N°26 : Le mécanisme possible peut intervenir pour expliquer les activités antioxydantes des polyphénoliques. (Bouguerne, 2012).

Les désactivateurs de l'oxygène singlet : Ils peuvent agir par la désactivation chimique pour donner un hydroperoxyde par la fixation sur une molécule telle qu'un acide gras.

$^1\text{O}_2 + \text{LOH} \rightarrow \text{LOOH}$, ou les caroténoïdes. $^1\text{O}_2 + \beta\text{-carotène} \rightarrow \text{O}_2 + \beta\text{-carotène}$.

Élimination des hydroperoxydes : Les hydroperoxydes (LOOH) peuvent être réduits par des enzymes. La glutathion peroxydase (GPx) élimine les hydroperoxydes organiques et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

Les piègeurs d'oxygène : Ce sont des molécules telles que les sulfites ou l'acide ascorbique (COULIBALY et al, 2011).

6-2-2 : Mécanisme briseur de chaînes

Cette catégorie d'antioxydants va réagir le plus souvent avec les radicaux peroxydes ($\text{LOO}\cdot$), interrompant ainsi la réaction de propagation de la peroxydation. Ces antioxydants peuvent agir selon les mécanismes suivants:

Des donneurs d'hydrogène, des antioxydants « sacrifiés » (Cillard et al, 2006) et les *mécanismes d'action mixtes des antioxydants*, par l'exemple de l'acide ascorbique, qui est un désactivateur de l'oxygène singlet, élimine l'oxygène moléculaire ; il est aussi un donneur d'hydrogène aux radicaux lipidiques et aux radicaux tocophéroxydes pour régénérer le tocophérol. Quant aux flavonoïdes, ce sont des chélateurs de métaux, piègeurs d'anions superoxyde et donneurs d'hydrogène.

http://www.academia.edu/11319555/les_antioxydants_dans_les_aliments_et_leurs_bienfaits_chez_lHomme.

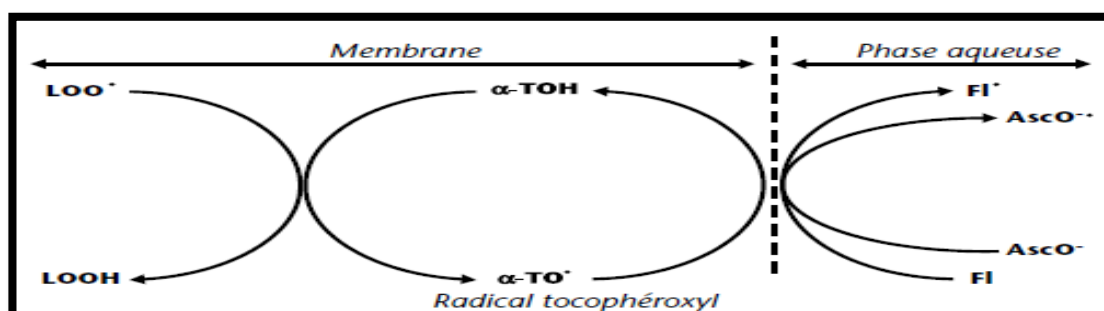


Figure N°27 : Le mécanisme de la régénération potentiel entre l'a-tocophérol ($\alpha\text{-TOH}$), l'ascorbate ($\text{AscO}\cdot$) et les flavonoïdes (FI) dans les systèmes membranaires. (Laguerre et al, 2007).

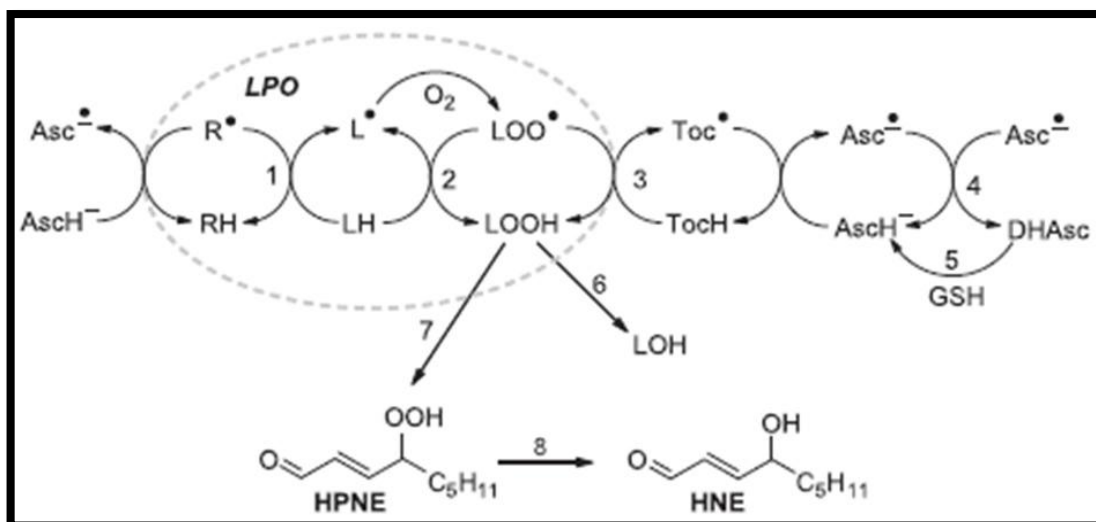


Figure N°28 : L'acide ascorbique peut enlever des ordures de l'espèce radicalaire R^\bullet introduisant et réduisant le radical tocophéroxyl. (EL-Beltagi et al, 2013).

7- Interactions des biomarqueurs

La peroxydation lipidique est une source endogène des aldéhydes, qui provoquent des dégâts oxydatifs aux macromolécules intracellulaires, comme l'ADN et les protéines. (Paal et al, 2016 ; Shibata et al, 2017).

7-1 : Interaction avec les macromolécules

7-1-1 : Les protéines

Les protéines sont les principales cibles de la réactivité avec les produits secondaires. On estime que 1% -8% de la le 4-HNE formée dans les cellules modifiera les protéines par la formation des adduits avec trois chaînes latérales différentes, à savoir Cys, His et Lys (Il peut interagir avec des groupes thiol (SH) et amino (NH_2) de ces acides aminés via l'addition de Michael, ce qui entraîne une liaison covalente entre le 4-HNE et l'acide aminé. (Perluigi et al, 2012).

Le 4-HNE peut modifier les structures des protéines grâce à la formation de base de Schiff avec des résidus de lysyle, conduisant à la formation de pyrrole. (Pizzimenti et al, 2010).

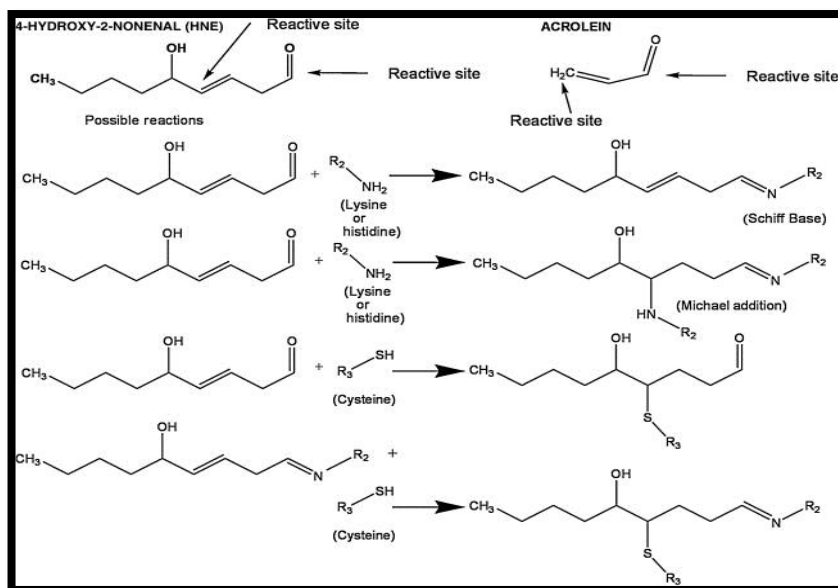


Figure N°29 : Représentative chimique d'interactions des aldéhydes dérivés de la peroxydation lipidique (incluant le 4-hydroxy-2-nonenal et l'acroléine) aux protéines par la formation de la base de Schiff ou Michael adducts. (Vaishnav et al, 2010).

Le MDA est capable d'interagir avec des bases d'acides nucléiques pour former plusieurs produits d'addition différents. (Pizzimenti et al, 2010).

7-1-2 : L'ADN

Les adduits d'ADN avec des aldéhydes réactifs, fournissent une importante étiologie des maladies génétiques humaines. Les produits d'addition d'ADN conduisent à des altérations dans sa structure telles que les modifications des bases pyrimidines et purines. (Nam, 2011).

Il a été rapporté que le MDA réagit avec des bases d'ADN pour former une série d'adduits comme deoxyadenosine (M1A) et deoxycytidine (M1C) et deoxyguanosine (M1G) (Jetawattana, 2005).

(M1G), un adduit majeur d'ADN (dG)-MDA, est l'un des adduits les plus importants et se révèle être un agent mutagène fort. (Nam, 2011).

Le taux élevé des ROS pourrait mener aux dégâts d'ADN directement, ou indirectement via les sous-produits de la peroxydation lipidique, qui pourraient réagir avec l'ADN pour produire l'exocyclique, y compris le 1, N6-etheno-2'-deoxyadenosine (edA) et 1, N2-etheno-2'-deoxyguanosine (edG). (Yu et al, 2016).

7-2 : Interaction avec les organites

Les produits secondaires formés pendant la LPO, sont bien connus pour avoir des effets délétères. Ils peuvent changer l'organisation biologique des membranes cellulaires et des organites. (Ścibior et al, 2013).

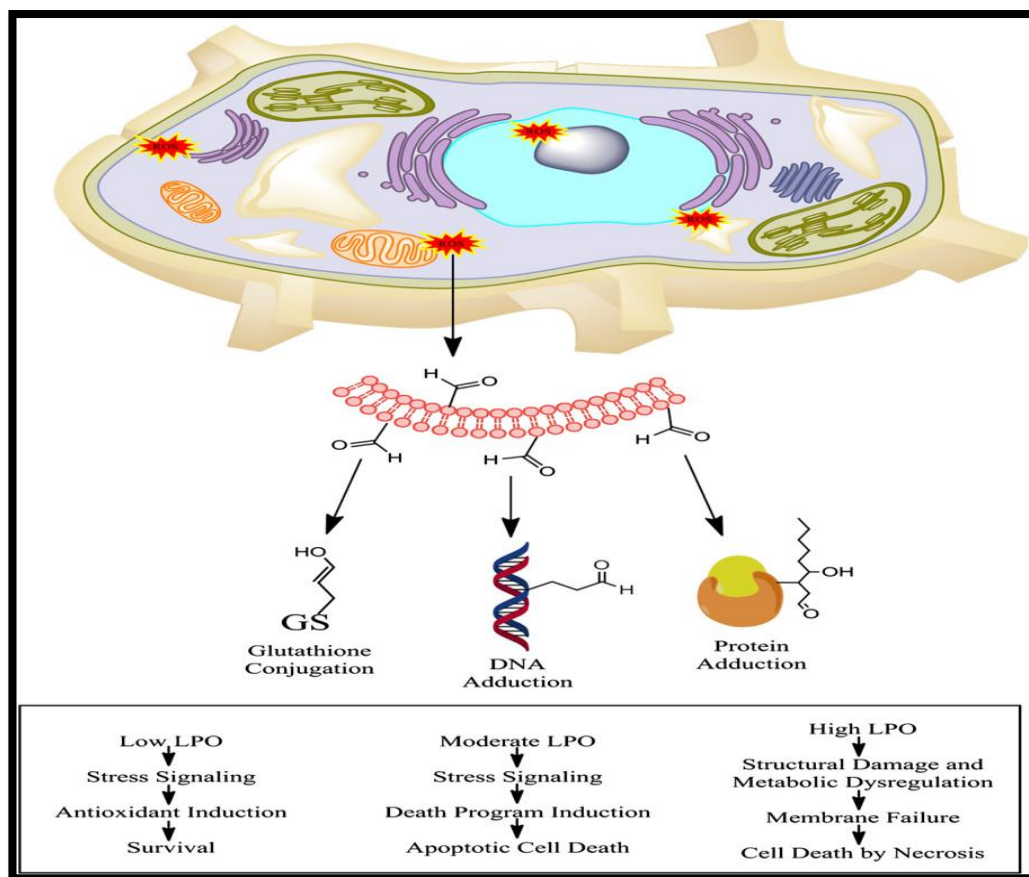


Figure N°30 : Les effets du stress oxydatif et la peroxydation lipidique sur les cellules. (Fritz et al, 2013).

7-2-1 : Le micrososome

Les membranes microsomales sont particulièrement susceptibles à la peroxydation lipidique, par la présence des concentrations élevées d'acides gras polyinsaturés. Le fer réduit, joue un rôle important tant dans l'initiation que dans la propagation de la peroxydation lipidique microsomale NADPH-dépendant. La peroxydation non enzymatique des membranes microsomales arrive aussi, et est probablement obtenue par médiation en partie par les hémoprotéines endogènes et des métaux de transition. (Gaschler et al, 2012).

7-2-2 : La mitochondrie

Le 4-HNE est un lipide actif électrophiles, en réagissant avec des protéines mitochondriales, peut contribuer à un changement des fonctions mitochondriales. De plus, les aldéhydes réactifs peuvent interagir avec mtDNA pour produire des mutations et, en conséquence, des changements dans les protéines codées.

On a montré que la réaction de 4-HNE avec les membranes mitochondriales hépatiques, aboutit au changement lipidique (lipide-lipide) et des interactions de lipide protéine. Ceci arrive par une variété de mécanismes, y compris la trans-jonction de queues des lipides, qui limite la mobilité des phospholipides dans la bicouche. (Barrera et al, 2016).

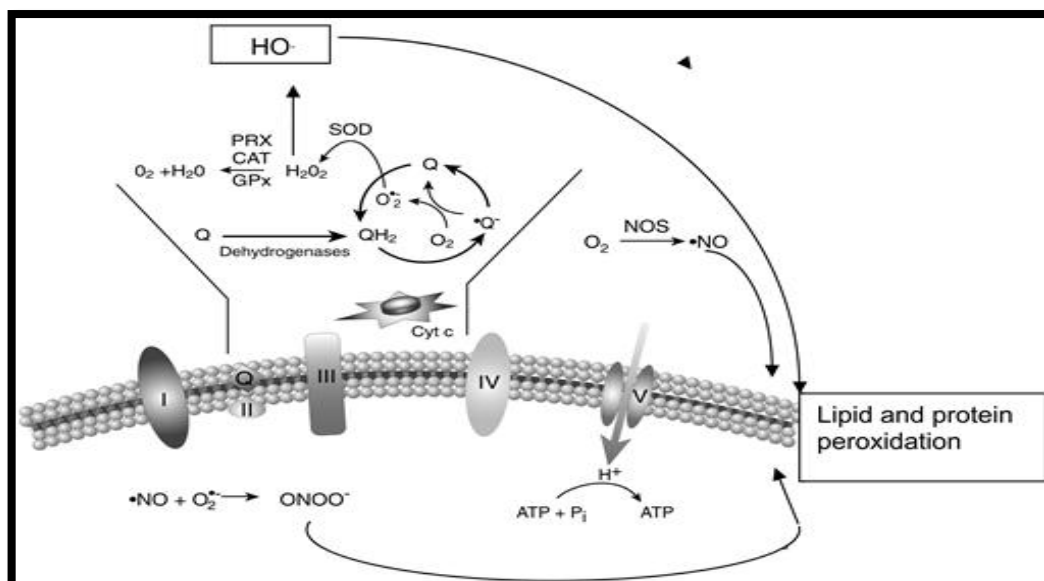


Figure N°31: La peroxydation lipidique et la peroxydation-protéines par les produits primaires de la peroxydation lipidique dans la mitochondrie. (Gaschler et al, 2012).

8- Les pathologies associées aux biomarqueurs

La génération des produits de la peroxydation lipidique peut être effective dans l'influence des maladies humaines diverses. (Ramana et al, 2017), comme les maladies cardiovasculaires, le cancer, les maladies neurodégénératives et même le vieillissement. (Masymas et al, 2017).

❖ Le cancer

L'initiation de cancer et la progression ont été liées avec la peroxydation lipidique, par des mutations d'ADN croissantes, l'instabilité de génome et la prolifération cellulaire, comme le produit MDA qui peut augmenter le risque de mutagenèse. (Hilary et al, 2017). Le 4-HNE affecte des sentiers cellulaires divers, qui changent la prolifération cellulaire et la survie, la fonction mitochondriale et le métabolisme cellulaire et a ainsi été associé à l'initiation et à la progression du cancer. (Zimmermann et al, 2017).

Le 4-HNE réagit avec les quatre bases d'ADN mais avec une efficacité différente: G > C > A > T. Le 4-HNE-dG représente le meilleur biomarqueur des effets génotoxiques de la 4-HNE et ces adduits se trouvent principalement dans l'ADN nucléaire. Un exemple classique de pertinence étiologique de 4-HNE-dG dans les cancers humains est la mutation p53 induite par 4-HNE-dG. P53 est un suppresseur de tumeur bien connu dans les cancers humains, en particulier dans le carcinome hépatocellulaire. (Zhong et al, 2015).

❖ Maladies neurodégénératives

Quelques études montrent que le 4-HNE incite la mort neuronale et le dysfonctionnement synaptique dans la pathogénie d'Alzheimer (Chen et al, 2016). Dans cette maladie, le peptide β - amyloïde induit un stress oxydatif, ce qui entraîne la formation de produits d'addition de 4-HNE et l'accumulation de protéines modifiées. Le 4-HNE forme des adduits sur les résidus Lysine de neurofilaments axonaux et induit un dysfonctionnement des ATPases de calcium membranaire et des transporteurs de glucose et de glutamate, ce qui augmente l'afflux de calcium, perturbe l'homéostasie synaptique du calcium et finalement conduit à l'apoptose (Negre-Salvayre et al, 2008).

Dans la maladie de parkinson, le 4-HNE réagit avec les protéines des neurones de la substance noire. En outre, la modification induite par le 4-HNE et le peroxydation est associée au défaut du système ubiquitine-protéasome qui conduit à l'accumulation des protéines modifiées et contribue à la mort des cellules neuronales. (Negre-Salvayre et al, 2008).

9- La peroxydation lipidique dans le foie

Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme humain, il est situé dans la partie supérieure droite de l'abdomen. Joue un rôle central dans le métabolisme énergétique et il assure des fonctions nombreuses, vitales à l'organisme. (Ciaccio et al, 2015).

Les maladies du foie peuvent être causées par des produits chimiques toxiques, des médicaments et l'infiltration virale par l'ingestion ou l'infection. (Tsai et al, 2017).

L'exposition à des polluants divers et des xénobiotiques comme l'alcool, le paracétamol, le tétrachlorure carbonique (CCl₄) endommagent le foie en produisant les ROS, qui est extrêmement toxique et produit des lésions dans le tissu hépatique par la liaison covalente et l'oxydation dans la base d'ADN, le lipide et la protéine, il peut aussi changer l'activité fonctionnelle d'enzymes et des protéines structurales. (Al-Seeni et al, 2016).

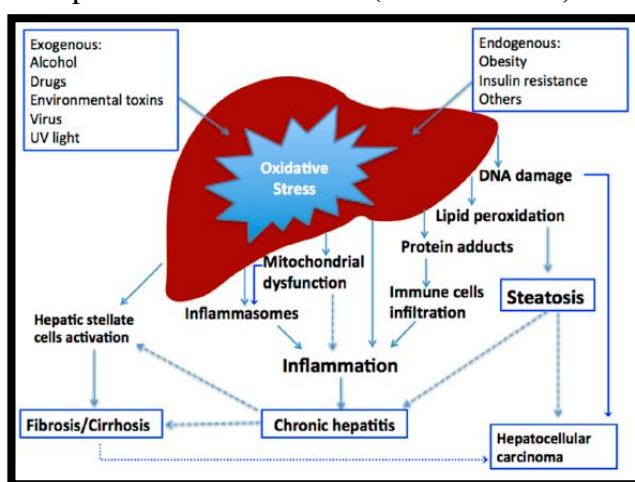


Figure N°32: Le mécanisme général du stress oxydatif au niveau du foie. (Li et al, 2015).

9-1 : Le mécanisme de l'induction de la peroxydation lipidique *in vitro* et *in vivo* par

9-1-1 : Le FeSO₄

Le sulfate de fer est disponible comme une préparation de médicament, il est utilisé pour le traitement et la prévention de l'anémie ferroprieve. (Kheiri et al, 2017)

Le fer est potentiellement toxique et son accumulation dans l'organisme aboutit à la génération des ROS. (Zhuo Z, 2016).

Le mécanisme majeur de l'hépatotoxicité induit par le fer, semble être dû au stress oxydatif pour augmentée la LPO hépatique. Le Fe²⁺ réagit avec l'eau oxygénée qui est un réactif essentiel dans la réaction fenton tirée par l'action du radical l'anion superoxyde, pour former le •OH fortement réactif. En raison de son haut potentiel standard (Ghaisas et al, 2008; Sowmya et al, 2014 ; Peña et al, 2012), ce radical peut non-spécifiquement oxyder des molécules lipidiques dans la membrane cellulaire (des acides gras non saturés, les phospholipides et le cholestérol) pour former le LOOH. (Zhuang et al, 2014).

9-1-2 : Le CCl₄

L'hépatotoxicité constitue un problème répandu à travers monde entier. Le CCl₄ est trouvé aux niveaux bas dans l'air ambiant et l'eau. L'exposition au CCl₄ est connue pour aboutir à l'hépatotoxicité aiguë chez les humains et des animaux expérimentaux afin d'évaluer l'activité hépatoprotective des agents antitoxiques *in vivo*. (Bakr et al, 2017). Le CCl₄ ne peut pas agir isolément pour induire une cytotoxicité hépatique, ses métabolites sont responsables de la peroxydation lipidique. (Khan et al ,2012).

C'est un hépatotoxine célèbre qui est responsable des dégâts hépatocellulaires. (Hewawasam et al, 2016). Ces dégâts surviennent en deux phases. La phase initiale implique le métabolisme de CCl₄ par le cytochrome P450 aux radicaux trichlorométhyle et/ou peroxytrichlorométhyle (CCl₃•, CCl₃OO•) métabolites fortement réactifs. Ces radicaux peuvent se lier aux molécules cellulaires comme les protéines, les lipides et les acides nucléiques, promouvant la peroxydation lipidique et finalement à la nécrose cellulaire. La deuxième phase implique l'activation des cellules Kupffer, qui est accompagnée par la production de médiateurs proinflammatoires. (Al-Rasheed et al, 2015 ; Rosa et al, 2010).

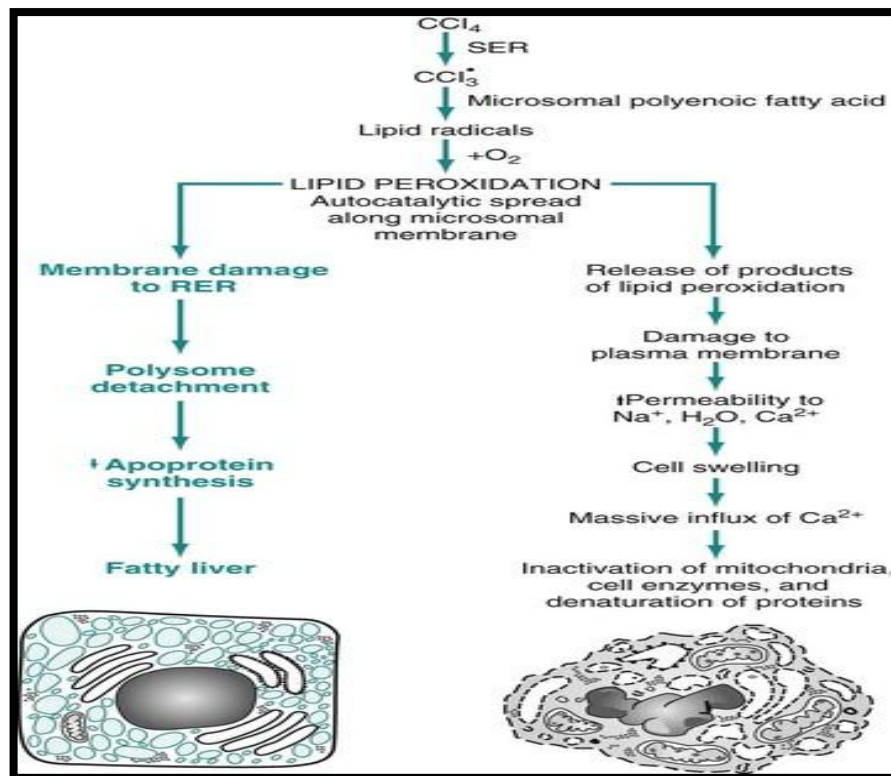


Figure N°33: La chronologie des étapes menant à un changement des acides gras et à la nécrose cellulaire par le tétrachlorure de carbone. (Myers et al, 2016).

10- La phytothérapie

Les produits naturels, en particulier les plantes, ont été utilisés pour le traitement de diverses maladies de l'antiquité. Les gens de l'Égypte, de la Chine, de l'Inde et de la Grèce utilisent des plantes terrestres comme des médicaments. **(Ahmed et al, 2013).**

10-1 : Qu'est-ce qu'une plante médicinale?

Une plante médicinale est une plante qui, dans un ou plusieurs de ses organes, contient des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles. Cette description permet de distinguer entre les plantes médicinales, dont les propriétés thérapeutiques et les constituants ont été établis scientifiquement, et les plantes considérées comme médicinales mais qui n'ont pas encore été soumises à une étude scientifique approfondie. **(Sofowora et al, 2013).**

Les phytothérapies tirées d'extraits des plantes sont de plus en plus utilisées, pour traiter une large variété de maladies cliniques, avec relativement peu de connaissance sur leurs modes d'actions. Jusqu'ici, il y a eu l'intérêt considérable dans le rôle de médicaments complémentaires et alternatifs pour le traitement des pathologies du foie. **(Quan et al, 2013)**

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a rapporté que 4 milliards de personnes (80% de la population du monde) utilisent des phytothérapies pour un certain aspect de services médicaux principaux. **(Shakya, 2016).**

Les herbes et les plantes peuvent être traitées et peuvent être prises de différentes manières et formes, et comprennent l'herbe entière, le sirop, les huiles essentielles, les pommades, les gommages, les gélules et les comprimés qui contiennent une forme brute ou en poudre l'herbe ou son extrait sec. **(Wachtel-Galor et al, 2011).**

Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant. **(Athamena et al, 2010).**

Dans les composés d'antioxydant, les flavonoïdes et les phénols ont le potentiel antioxydatif considérable. Les composés phénoliques montrent l'activité antioxydante à cause de la présence des groupes hydroxyles dans l'anneau conjugué dans leur structure, et par conséquent ceux-ci peuvent empêcher des maladies obtenues par médiation des radicaux libres. **(Batool et al, 2017).**

Les flavonoïdes sont la famille de polyphénols hydrosolubles, largement trouvées dans les plantes. Actuellement, plus de 8000 composés flavonoïdes ont été identifiés. **(Magalingam et al, 2015).**

Les classes les plus communes sont les flavones, des flavonols, des flavanones, des catéchines, des isoflavones et des anthocyanidines, qui représentent autour de 80 % de flavonoïdes.

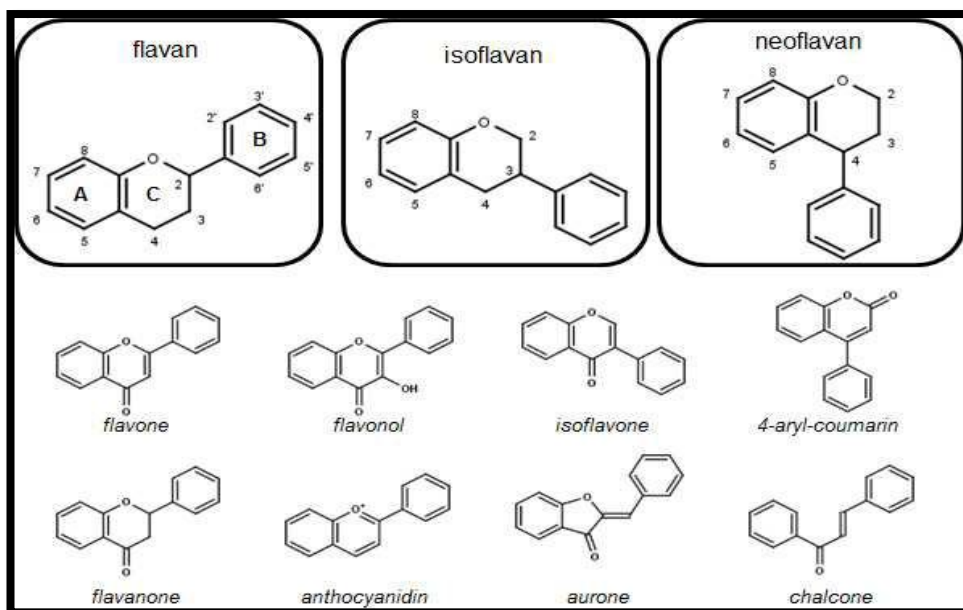


Figure N°34 : La structure des bases structurales des groupes flavonoïdes principaux (flavan, isoflavan et neoflavan) et des classes flavonoïdes pertinentes. La numérotation d'atome et la nomenclature d'anneau sont aussi incluses. (Pinheiro et al, 2012).

10-2 : Intérêt thérapeutique des plantes :

Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer d'autres antioxydants présents dans le corps. L'activité antioxydante des polyphénols peut s'exercer sur les transporteurs des lipides et tout particulièrement sur le « mauvais » transporteur du cholestérol les LDL. Ils aident à combattre l'inflammation et réduisent la fragilité des capillaires sanguins, les effets de diabète et protègent la peau contre les rayons ultraviolets. (Boubekri, 2014).

Matériels et méthodes



I-MATERIELS ET METHODES

1 : Matériels biologique

27 Rats de souche *Albinos Wistar*.

1-1 Entretien des animaux

Cette étude a été effectuée sur des rats femelles adultes de souche *Wistar Albinos* ; pesant entre 100-170 g (au début de l'expérimentation), issus d'un élevage au niveau de l'animalerie de l'Université des frères Mentouri de Constantine. Tous les animaux ont été gardés dans des cages dans les mêmes conditions de température ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) et ont un accès libre à la nourriture et l'eau du robinet servie dans des biberons *ad libitum*.

1-2 Réactifs et solvants

- L'acide thiobarbiturique TBA.
- L'acide trichloroacétique TCA.
- Le n-butanol.
- Le sulfate de fer FeSO_4 .
- Sodium dodecyl sulfate SDS.

1-3 Appareillage

- Centrifugeuse *Sigma*.
- pH-mètre *Hanna*.
- Spectrophotomètre *jenway 6315*.
- Bain marie *memett*.

2 : Méthodes

2-1 : Etude *in vitro*

L'expérimentation a été faite sur trois rats femelles à jeun sans aucun traitement. Le foie est récupéré après le sacrifice des animaux.

2-2 : Etude *in vivo*

Les 24 rats sont répartis en 4 lots de 6 rats.

2-2-1: Prévention et induction de la toxicité

Les deux substances préventives que nous avons utilisées sont l'extrait butanolique (*n*-BuOH) à une dose de 200mg/kg et la vitamine E à la dose de 150mg/kg. Les deux substances sont solubles dans l'eau distillée et administrées aux rats pendant 7 jours.

Le produit toxique utilisé pour produire la toxicité expérimentale (la peroxydation lipidique) est le tétrachlorure de carbone (20%) qui est injecté par voie intra-péritonéale (IP) en une seule dose de 2ml/kg dissous dans l'huile d'olive.

2-2-2: Le traitement des animaux

- **Lot N°1 (Témoin)** : Les rats recevant quotidiennement par gavage de l'eau distillée 2ml/kg pendant 7 jours; le dernier jour, après 6 heures elles ont reçus par injection (IP) l'huile d'olive.

- **Lot N°2 (CCl4) :** Les rats recevant quotidiennement par gavage de l'eau distillée 2ml/kg pendant 7 jours : le dernier, après 6 heures elles ont reçues par injection (IP) 2ml/kg de CCl4.
- **Lot N°3 (CCl4+Vitamine E) :** les rats recevant par gavage pendant 7 jours la vitamine E soluble dans l'eau distillée; le dernier jour, après 6 heures elles ont reçus par injection (IP) le CCl4 (20%) à une dose unique 2ml/kg.
- **Lot N°4 (CCl4+Extrait) :** Les rats recevant durant 7 jours par gavage l'extrait *n*-BuOH soluble dans l'eau distillée; le dernier jour, après 6 heures elles ont reçus par injection (IP) le CCl4 (20%) à une dose unique 2ml/kg.

2-2-3: Sacrifice des animaux, récupération du foie

Cette opération est effectuée dans le but du dosage du MDA de nos rats : À la fin du traitement, et après 24 heures, tous les animaux ont été sacrifiés à jeun à la fin de l'expérimentation (jour 8), suivant les règles de l'euthanasie par l'anesthésie (le chloroforme). Le foie prélevé en vue des dosages des paramètres de la peroxydation lipidique (MDA) est segmenté et conservé à -20°C.

2-2-4: Préparation de l'homogénat

Après la dissection, le foie récupéré est rincé dans l'eau physiologique NaCl 0.9%, puis coupé en petits fragments et pesés (0.5g) puis homogénéisé à l'aide d'un homogénéiseur dans 5ml de solution tampon PBS (10mM, pH 7,4) contenant du KCl 150mM. En suite orienté vers la centrifugation à 3000 tours /min pendant 15 minutes.

3 : Dosage du malondialdéhyde (MDA)

La peroxydation lipidique est estimée par la détermination des quantités de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d'Ohkawa et al en 1979. Le MDA est l'un des produits terminaux de l'oxydation lipidique (*in vivo* et *in vitro*) dans l'état de stress oxydatif.

3-1: principe du dosage

Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100°C) entre une molécule de l'MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment de couleur rose ayant une absorbance maximale à 530 nm, et extractible par les solvants organiques comme le *n*-butanol.

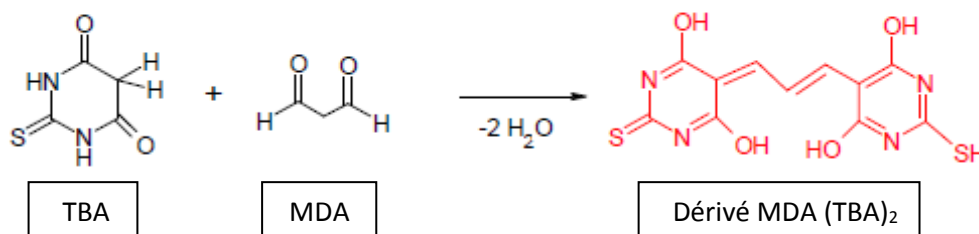


Figure N°35: Le mécanisme de la quantification de la réaction de TBARS. (Schaur et al, 2015).

3-1-1: Dosage de l'MDA *in vitro*

La peroxydation lipidique a été incitée dans le foie des rats en les traitants avec 0.5mM de FeSO₄. Le mélange de la réaction (0.5 ml d'homogénat, (50 µg/ml-500 µg/ml) d'extrait *n*-BuOH (0,2 ml) ou de la vitamine E et 25 µl de FeSO₄) a été incubé à 37°C pendant 30 min. Après l'incubation, on ajoute 1.5 ml de 20% d'acide trichloracétique, 0.2 ml (de 8.1 %) SDS et 1.5 ml de TBA (0.8 %), le volume total est ajusté à 4 ml avec de l'eau distillée et incubé à 95°C pendant une heure. Après le rafraîchissement, 4 ml de *n*-butanol ont été ajoutés, mélangés bien et centrifugés à 10,000 tours/min pendant 5 min. La récupération du surnageant a été récupéré et l'absorbance est mesurée à 532nm.

3-1-2: Dosage de l'MDA *in vivo*

A 0.5ml de l'homogénat, on a additionné 0.5ml de TCA 20% et 1ml de TBA 0.67%. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 45min, refroidi puis additionné de 4ml de *n*-butanol. Après la centrifugation pendant 10 minutes à 3000tours/minute à 4°C, la densité optique est mesurée sur le surnageant au spectrophotomètre à 530 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. Le MDA est exprimé en nmol/g de tissu de l'organe étudié est à partir d'une gamme préparée sous les mêmes conditions avec une solution de « 1, 1, 3,3-tetraetoxypropane » qui donne le MDA après son hydrolyse.

Résultats



II-Résultats

1 : Le marqueur du stress oxydant: le malondialdéhyde (MDA)

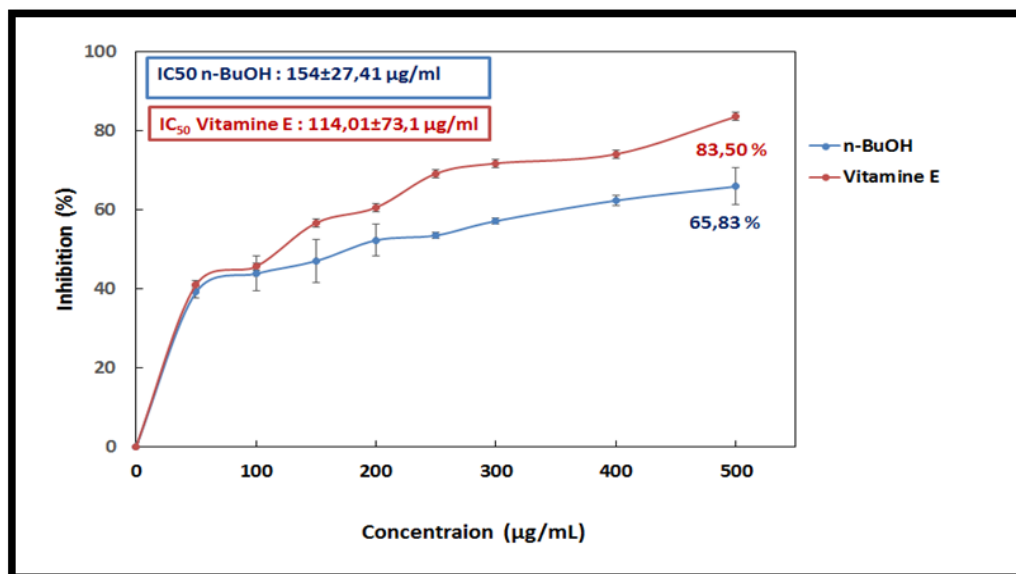
1-1 : *In vitro*

Figure N°36: Effet protecteur de l'extrait butanolique (n-BuOH) et de la vitamine E sur la peroxydation lipidique hépatique induite par le $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ *in vitro* chez le rat.

¥ : Comparaison avec le groupe contrôle.

Afin d'étudier l'effet antioxydant d'une plante riche en composés phénoliques, une étude utilisant le rapport du $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ *in vitro* a été effectuée sur l'isolat du foie visant l'évaluation de l'effet hépatoprotecteur de l'extrait butanolique (n-BuOH) de cette espèce.

D'après les données illustrées dans **la figure N°36**, l'extrait n-BuOH a prouvé une hépatoprotection en diminuant le taux du MDA provoqué *in vitro* par le $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ via une concentration dépendante. A des concentrations inférieures de 100 µg/ml les pourcentages de l'inhibition du MDA, sous l'action de l'extrait, sont identiques à ceux retenus pour la vitamine E, utilisée comme contrôle positif.

L'inhibition maximale de la peroxydation lipidique manifestée par cet extrait a été observée à 500 µg/ml (65.83 %). Ce résultat pourrait être considéré comme comparable à celui de la vitamine E (83.50 %).

L'effet protecteur de cet extrait se traduit également par la valeur de la concentration inhibant 50 % du MDA (IC_{50}) qui était de l'ordre de 154 ± 27.41 µg/ml, une valeur qui pourrait être considérée comme semblable à celle enregistrée pour la vitamine E (114.01 ± 73.1).

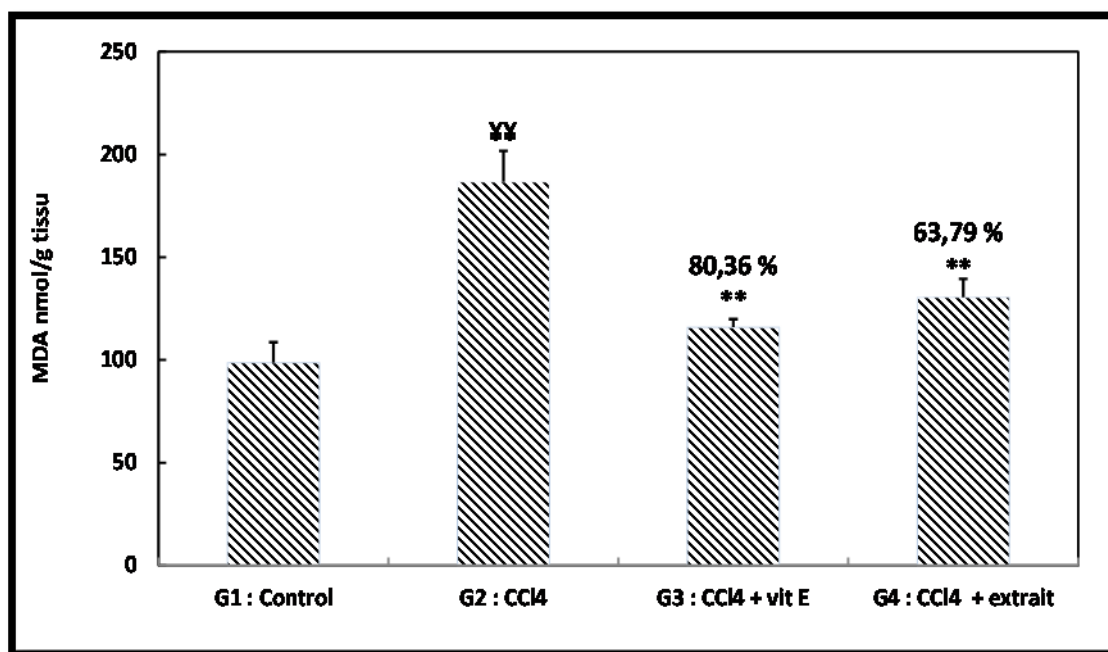
1-2 : *in vivo*

Figure N°37: L'Effet protecteur de l'extrait butanolique (*n*-BuOH) et de la vitamine E sur la peroxydation lipidique hépatocytaire induite par le CCl₄ *in vivo* chez le rat.

¥ : Comparaison avec le groupe contrôle, ¥ p < 0.05, ¥¥ p < 0.01

* : Comparaison avec le groupe traité, * p < 0.05, ** p < 0.01

Ce résultat encourageant ; nous a motivé à évaluer l'effet hépatopréventif de l'extrait *n*-BuOH contre l'hépatotoxicité induite *in vivo* par le CCl₄.

La figure N°37 montre que le pré-traitement des rats par l'extrait *n*-BuOH a manifesté un effet hépatoprotecteur significatif contre l'hépatotoxicité induite par le CCl₄; cet effet se traduit par la diminution du taux du MDA (63.79 %) par rapport aux témoins. Ce résultat pourrait être également comparable à celui retenu durant le traitement des rats avec la vitamine E (80.36 %).

Discussion



III- Discussion

Dans la présente étude, on a étudié l'effet hépatoprotecteur d'un extrait butanolique d'une plante médicinale (*n*-BuOH) et de la vitamine E, pour estimer expérimentalement la peroxydation lipidique induite *in vitro* par le sulfate de fer (FeSO₄) et *in vivo* par le tétrachlorure de carbone (CCl₄).

L'indicateur des dommages du foie que nous avons étudié est le MDA, pour juger de la gravité de la lésion hépatique aiguë. Le malondialdéhyde est un produit dégradatif de la peroxydation d'acides gras polyinsaturés dans la membrane cellulaire. La présence du MDA dans l'homogénat est souvent un indicateur du stress oxydatif. (Alhassan et al, 2009). Il peut détériorer quelques mécanismes physiologiques dans le corps humain, à cause de sa capacité de réagir avec des molécules comme l'acide désoxyribonucléique et des protéines. (Jahromi et al, 2017).

L'augmentation du degré de la peroxydation lipidique est indiquée par l'augmentation significative $p < 0,01$ du niveau du MDA dans l'homogénat du foie.

La présente étude a été conduite pour évaluer l'effet hépatoprotecteur d'un extrait *n*-BuOH en le comparant avec la vitamine E, en utilisant de différentes concentrations (50µl-500µl) sur l'isolat du foie, pour estimer la peroxydation lipidique *in vitro* par le biais du FeSO₄ (0,5mM).

Les résultats observés montrent que, l'inhibition de la peroxydation lipidique a été évaluée par la diminution du taux du MDA dans l'homogénat du foie après l'administration de l'extrait *n*-BuOH et de la vitamine E. Ces résultats pourraient être justifiés par l'action délétère du système FeSO₄/H₂O₂.

Les AGPI dans le tissu du foie sont très sensibles à la peroxydation lipidique quand ils sont exposés aux ROS produits par le FeSO₄. (Prasad et al, 2012).

Quelques études ont montré que le FeSO₄ est utilisé comme une source de fer réduit (Fe²⁺). (Seol et al, 2008).

Le mécanisme par lequel le fer peut causer cet effet délétère est que ce dernier peut réagir avec l'eau oxygénée (H₂O₂) pour produire le radical hydroxyle (•OH) via la réaction de fenton, tandis que le superoxyde peut réagir avec le fer³⁺ pour régénérer le fer²⁺ qui peut participer à la réaction Fenton. (Akomolafe et al, 2012).

La haute dose de fer pourrait mener aux changements dans le métabolisme des lipides. Il peut être dû à l'accumulation du fer dans le foie. (Pari et al, 2015).

Beaucoup d'études ont été faites dans le but d'atténuer la toxicité du fer dans le foie, (Nagababu et al, 2010) ont utilisés l'eugénol pour inhiber chélation du fer obtenu par la réaction de fenton.

On a constaté d'après la figure 36, que l'administration de l'extrait n-BuOH et de la vitamine E a inhibé la peroxydation lipidique à une concentration maximale observée à 500 µl/ml, d'une manière significative de (65,83%) et de (83,50%) respectivement. Ce résultat suggère que la réduction de la peroxydation lipidique peut être due à l'augmentation du statut antioxydant de l'extrait n-BuOH et de la vitamine E.

Les composés phénoliques peuvent réduire le stress oxydatif, il a été démontré qu'ils exercent des effets antioxydants par un certain nombre de mécanismes. **(Thitimuta et al, 2017).**

Leurs activités antioxydantes sont principalement dues à leurs propriétés d'oxydoréduction, les capteurs de l'oxygène singlet qui peuvent jouer un rôle important dans l'adsorption et la neutralisation des radicaux libres. **(Adithya et al, 2013).**

En raison de leurs actions préventives, aussi bien que thérapeutiques puissantes, ces composés phénoliques attirent l'attention par non seulement des scientifiques, mais aussi des pharmacologues et des médecins. **(Szymanska et al, 2016).**

Les recherches sur des animaux ont montré que la vitamine E a la propriété hépatoprotective. Sa capacité pour empêcher des agents chimiques a incité l'hépatotoxicité a été démontrée par **(Adikwu et al, 2012).**

La vitamine E fonctionne comme un antioxydant brisant la chaîne en cascade de la peroxydation lipidique dans les membranes cellulaires, et aussi comme un boueur des ROS comme l'oxygène singlet et le radical hydroxyle. **(Ohta et al, 2015).**

D'après nos résultats, l'effet protecteur de l'extrait n-BuOH et de la vitamine E est révélé également par la valeur de la concentration inhibant 50% du taux du MDA (IC50) qui était de l'ordre de (154±27,41 µg/ml) et de (114,01±73,1 µg/ml) respectivement.

Selon **(Oloyede et al, 2012)**, l'incubation de l'homogénat de foie en présence (de 60mM) de sulfate de fer, provoque l'augmentation significative à 87 % du MDA. Les résultats n'ont été établis qu'à une concentration de 3.33mg/ml à 40 mg/ml, l'extrait de *M. Foetida* a causé l'inhibition de la peroxydation lipidique de 34.6 %, 35.0 % à une concentration de 13.3 mg/ml, 33.3mg/ml respectivement.

La vitamine E a été utilisée pour empêcher l'oxydation des lipides induite par 10-1000 µM de sulfate ferreux dans l'homogénat du foie des rats d'après **(Zhuang et al, 2014).**

L'étude de **(Milchak et al, 2002)** a examiné la toxicité aiguë du sulfate ferreux sur les suspensions d'hépatocytes des rats, la corrélation entre la peroxydation lipidique, et le rôle de la vitamine E dans la protection contre la toxicité du fer. Le traitement au sulfate ferreux (2,0-5,0 mM) entraîne une peroxydation lipidique développée et le traitement par la vitamine E a réduit la peroxydation lipidique à 39%.

(Siahpoosh et al, 2016) ont utilisé différentes concentrations de l'extrait *P. dactylifera* pour évaluer son effet sur le tissu hépatique des rats. Le contenu total en composés phénoliques, flavonoïdes et proanthocyanidine a causé l'inhibition de 50% de la peroxydation lipidique.

Pour assumer l'effet antioxydant des substances précédentes et les résultats ci-dessous, une expérience *in vivo* à été réalisée, les rats soumis à une dose unique de 200mg/kg de poids corporel de CCl₄, après un traitement préventif de 7 jours par l'extrait *n*-BuOH et par la vitamine E. Les résultats obtenus indiquent clairement, l'augmentation significative du taux du MDA dans le groupe traité par le CCl₄ comparé avec le groupe témoin. Cette augmentation a été observée après l'administration du CCl₄ est peut être due aux dommages des hépatocytes.

Ces résultats pourraient être expliqués par le phénomène des lésions au niveau des membranes des hépatocytes, qui est dû probablement à la bioactivation métabolique du CCl₄ à travers le cytochrome P450 en radical trichlorométhyle (CCl₃•) qui réagit rapidement avec l'oxygène moléculaire (O₂) pour former le radical peroxytrichlorométhyle fortement réactif (CCl₃OO•), qui réagit avec les lipides y compris les phospholipides membranaires pour former les produits de la peroxydation lipidique. (Ritesh et al, 2015; Fu et al, 2010).

On a constaté que l'administration orale et quotidienne de l'extrait *n*-BuOH et de la vitamine E a été reflétée biochimiquement par l'amélioration significative du taux du MDA par rapport au groupe traité par le CCl₄, avec un pourcentage d'inhibition (63,79%) et (80,36%) respectivement illustrés dans la figure 37.

Cela suggère que les deux substances étudiées ont pu protéger les hépatocytes des dommages causés par le CCl₄.

Beaucoup d'études indiquent que les produits naturels de plantes médicinales (les polyphénols et la vitamine E), indiquent la forte activité antioxydante qui pourrait agir contre l'endommagement du foie par le CCl₄. (Yin et al, 2014).

Le traitement par l'extrait de *P. atlantica* a diminué le marqueur MDA, en indiquant que cet extrait pourrait normaliser la fonction du foie. (Tolooei et al, 2015).

Selon l'étude de (Sadeghi et al, 2016), le traitement par l'extrait de fruits de *Rosa canina* riches en composés phénoliques aux doses de 500 et 750 mg/kg a empêché l'augmentation des niveaux du MDA sériques en raison de l'intoxication forte avec le CCl₄ chez les rats.

Notre étude est en accord avec les résultats de l'étude réalisée par (Eralp et al, 2016) qui indique que la vitamine E avait des effets positifs sur les lésions du foie.

Nos résultats sont corrélés avec ceux indiqués ci-dessous, qui ont démontré que l'extrait *n*-BuOH et la vitamine E sont responsables de ses effets protecteurs.

On conclu d'après notre investigation que la vitamine E est le principal anti-oxydant le plus efficace que l'extrait *n*-BuOH qui est riche en polyphénols notamment les flavonoïdes. Car, On pense que son action est principalement de protéger les structures membranaires des cellules contre les effets destructeurs des radicaux libres, pour empêcher la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés notamment les phospholipides, incité *in vitro* et *in vivo* par le FeSO₄ et le CCl₄.

Conclusion



Conclusion

IV- Conclusion et perspectives

La peroxydation lipidique est le processus de dégradation oxydative d'acide gras polyinsaturés, obtenue par médiation des radicaux libres, qui mène à l'accumulation de produits cytotoxiques comme le malondialdéhyde (MDA).

Dans notre étude, le prétraitement des rats par l'extrait butanolique et la vitamine E, a eu un effet antioxydant préventif de ces substances contre la peroxydation lipidique, induite *in vitro* par le sulfate de fer (FeSO_4) et *in vivo* par le tétrachlorure de carbone (CCl_4) dans le foie. L'hépto-toxicité a été confirmée biochimiquement par l'augmentation significative du MDA.

Les résultats obtenus montrent une efficacité comparable entre l'action anti-oxydante de l'extrait butanolique et de la vitamine E. Cette dernière a manifesté un effet préventif majeur par rapport à l'extrait butanolique, grâce à sa capacité de piéger les radicaux peroxytes par le l'ajout d'atome d'hydrogène.

La présente étude fournit des preuves scientifiques supplémentaires, en vérifiant que l'extrait butanolique et la vitamine E sont des antioxydants puissants capables de protéger le foie des dommages induits par le FeSO_4 et le CCl_4 .

Notre étude s'oriente vers les effets délétères pouvant affecter les acides gras polyinsaturés, lorsqu'ils sont exposés à cet état du stress oxydant important. Nos résultats nous permettent d'ouvrir de nouvelles perspectives, visant à diminuer la production des dérivés toxiques de la peroxydation lipidique, causée par les FeSO_4 et CCl_4 , qui peuvent donc endommager d'autres organes vitaux notamment les reins et le cerveau.

Résumé



Résumé

Contribution à l'étude de l'effet oxydant par le sulfate de fer et le tétrachlorure de carbone et l'effet protecteur et antioxydant d'un extrait végétal butanolique et de la vitamine E.

Résumé

Le sulfate de fer (FeSO_4) est utilisé comme un additif dans les produits alimentaires et aussi pour traiter l'anémie ferroprieve, tandis que le tétrachlorure de carbone (CCl_4) est utilisé en médecine comme un vermifuge. D'autre part, le FeSO_4 et le CCl_4 sont utilisés largement comme modèle d'évaluation de l'hépatotoxicité expérimentale.

Le but de notre étude est d'étudier l'effet protecteur et antioxydant d'un extrait butanolique (*n*-BuOH) de plantes riche en polyphénols et de la vitamine E, pour atténuer la peroxydation lipidique induite *in vitro* par le FeSO_4 et *in vivo* par le CCl_4 dans le foie des rats. Pour l'étude *in vitro*, des fragments du foie de rats ont été récupérés, afin de réaliser un traitement par l'extrait végétal butanolique ou la vitamine E et avec des concentrations différentes et l'addition du FeSO_4 (0,5mM). Pour l'étude *in vivo*, les rats *Wistar Albinos* (100-170g) recevaient quotidiennement durant 7 jours l'extrait *n*-BuOH à une dose de 200mg/kg et la vitamine E à la dose de 150mg/kg par gavage, le dernier jour après 6 heures, elles ont reçu une dose unique de CCl_4 (20%) à raison de 2ml/kg de poids corporel par injection intra-péritonéale.

Le stress oxydatif induit par le FeSO_4 et le CCl_4 a été mis en évidence par l'augmentation de la peroxydation lipidique, à travers l'estimation de la concentration du MDA *in vitro* et *in vivo*. Les variations ont été améliorées après avoir administré l'extrait *n*-BuOH de la plante ou de la vitamine E, qui s'est traduit par une baisse et une diminution du taux du MDA *in vitro* (65,83%) et (83,50%), et *in vivo* par la (63,79%) et (80,36%) respectivement.

Les résultats obtenus montrent bien que la dose de l'extrait *n*-BuOH 200mg/kg et la dose de la vitamine E 150mg/kg ont assuré une hépato-protection significative $p < 0,01$ contre les dommages membranaires causés par le FeSO_4 et le CCl_4 .

Mots clés :

Extrait *n*-BuOH, Vitamine E, FeSO_4 , CCl_4 , Peroxydation lipidique.

Contribution to the study of the effect oxidizing by the iron sulfate and the carbon tetrachloride and the protective and antioxidant effect of a plant extract butanoïque and of the vitamin E.

ABSTRACT:

The iron sulfate (FeSO_4) is used as an additive in foodstuffs and also to handle the ferroprive anaemia, whereas the carbon tetrachloride (CCl_4) is used in medicine as a vermifuge. On the other hand, the iron sulfate and the carbon tetrachloride are widely used as model of evaluation of the experimental hepatotoxicity.

The purpose of our research is to study the protective and antioxidant effect of a butanolic extract (*n*-BuOH) of plants rich in polyphenols and of the vitamin E, to limit the lipid peroxidation caused by the FeSO_4 *in vitro* and by the CCl_4 *in vivo* in rat's liver. For the *in vitro* study, fragments of liver were got back, to realize a treatment by the plant's extract butanolic or the vitamin E with different concentrations and the addition of the FeSO_4 (0,5mM). For the *in vivo* study, the animals weighed (100-170g) received daily (for 7 days) the *n*-BuOH extract in a dose of 200 mg/kg and the vitamin E in the dose of 150mg/kg by force-feeding, the last day after 6 hours, they received a single dose of 20 % CCl_4 (2ml/kg) of weight intra-peritoneally.

The oxidative stress caused by the FeSO_4 and the CCl_4 was highlighted by the increase of the lipid peroxidation, through the estimation of the MDA concentration *in vitro* and *in vivo*. The variations were improved where the *n*-BuOH extract of the plant or the vitamin E were administered, which was translated by a reduction and by the decrease of the rate of the MDA *in vitro*, (65, 83 %) and (83, 50 %), and *in vivo* (63,79 %) and (80, 36 %) respectively.

Our results show that the dose of the *n*-BuOH extract 200mg/kg and the dose of the vitamin E 150mg/kg mean a significant hepato-protection $p < 0,01$ against the membranes damage caused by the FeSO_4 and the CCl_4 administration.

Keywords:

Extracted, *n*-BuOH, Vitamin E, FeSO_4 , CCl_4 , lipid Peroxidation.

دراسة التأثير المؤكسد لكبريتات الحديد و رباعي كلوريد الكربون و الاثر الوقائي و المضاد للاكسدة للمستخلص النباتي البيتانولي و الفيتامين E

ملخص

تستخدم كبريتات الحديد كمواد مضافة للمواد الغذائية وكذا في حالات فقر الدم، في حين ان رباعي كلوريد الكربون يستخدم في الطب كطارد للديدان. كما تستخدم كبريتات الحديد و رباعي كلوريد الكربون في نطاق واسع كنموذج لتقدير درجة السمية الكبدية.

ان الهدف من هذه الدراسة هو معرفة الأثر الوقائي و المضاد للاكسدة للمستخلص النباتي البيتانولي و الفيتامين E من اجل تثبيط الأوكسدة الفوق الليبيدية المحرصة خارج الكائن الحي بكبريتات الحديد $FeSO_4$ و داخل الكائن الحي برباعي كلوريد الكربون CCl_4 .

تم تقدير مؤشرات السمية الكبدية خارج الكائن الحي من خلال معاملة الجنس الكبدي للجرذان بتراكيز مختلفة من المستخلص و ذلك بعد إضافة كبريتات الحديد. أما بالنسبة لدراسة داخل الكائن الحي تم إعطاء الجرذان عن طريق التجريع الفموي جرعة من المستخلص النباتي البيتانولي تقدر ب 200 مغ/كغ أو جرعة 150 مغ/كغ من الفيتامين E لمدة 7 أيام. في اليوم السابع، بعد 6 ساعات تمت معاملة الجرذان بجرعة واحدة من CCl_4 (20%) بجرعة 2 مل/كغ بحقنة صفاقية.

بعد ذلك تم تقدير الإجهاد التاكسدي الناتج، عن طريق قياس مؤشرات السمية الكبدية للأوكسدة الفوق الليبيدية، من خلال قياس معدل MDA وتحسين مستوياتها خارج و داخل الكائن الحي.

أثبتت النتائج المتحصل عليها أن كل من المستخلص النباتي البيتانولي و الفيتامين E لهما تأثير وقائي ضد السمية الكبدية المحدثة بكبريتات الحديد $FeSO_4$ و رباعي كلوريد الكربون CCl_4 .

الكلمات المفتاحية

المستخلص النباتي البيتانولي، الفيتامين E ، $FeSO_4$ ، CCl_4 الاكسدة الفوق الليبيدية.

Références



Références

Références

A

Abeilles et cie. Polyphénols: des alliés pour la santé. **2012** n°149
www.cari.be/medias/abcie_articles/149_produits.pdf.

Adikwu E., Nelson B. Hepatoprotective effect of vitamin e/*American Journal of Pharmacology and Toxicology*. **2012** :154-163.

Adithya E.S., Lakshmi M.S., Christabel P.H., Sasikumar J.M. *In vitro* antioxidant, anti-lipid peroxidation activities and HPLC analysis of methanol extracts from bark and stem of *Mahonia leschenaultia* takeda./*Asian J. Plant Sci. Res.* **2013**; 3(2):116-126.

Ahmed M., Khan M.I., Khan M.R., Muhammad N., Khan A.U., Khan R.A. role of Medicinal Plants in Oxidative Stress and Cancer/open Access Scientific Reports. **2013**.

Akomolafe S.F., Oboh G., Akindahunsi A.A., Akinyemi A.J., Adeyanju O. Inhibitory Effect of Aqueous Extract of *Moringa oleifera* and *Newbouldia laevis* Leaves on Ferrous Sulphate and Sodium Nitroprusside Induced Oxidative Stress in Rat's Testes in Vitro *Open Journal of Medicinal Chemistry*.**2012**;2:119-128 <http://dx.doi.org/10.4236/ojmc.2012.24015>.

Alhassan A.J., Sule M .S., Aliyu S. A., Aliyu M. D. Ideal hepatotoxicity model in rats using carbon tetrachloride (CCl₄)/ *Bajopas*. **2009** :2(2): 185 – 187.

Ali A.A., Coulter J.A., Ogle C.H., Migaud M. M., Hirst D. G., Robson T., McCarthy H.O. The contribution of N₂O₃ to the cytotoxicity of the nitric oxide donor DETA/NO: an emerging role for S-nitrosylation/*BiosciRep*.**2015**;33(2).
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3610299/>.

Al-Rasheed N., Faddah L., Sharaf I.A., Mohamed A.M., Al-Rasheed N., et al. Évaluation du rôle potentiel de la silymarine seule ou en association avec la vitamine E et / ou la curcumine sur la lésion hépatique induite par le tétrachlorure de carbone dans le rat/*Braz. cambre. Biol. Technol.* **2015** ; 58 (6). [Http://dx.doi.org/10.1590/S1516-891320150232](http://dx.doi.org/10.1590/S1516-891320150232).

Al-Seeni M.N., Rabey H.A., Zamzam M.A., Alnefayee A.M. The hepatoprotective activity of olive oil and *Nigella sativa* oil against CCl₄ induced hepatotoxicity in male rats/*BMC Complementary and Alternative Medicine*. **2016** ; 16: 438. Doi: 10.1186/s12906-016-1422-4.

Alzoghaib M. Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease/*World J Gastroenterol*.**2013**; 19(39): 6540-6547 .Doi: 10.3748/wjg.v19.i39.6540.

Amrogini P., Betti M., Galati, Di Palma C.M., Lattanzi D., Savelli D., et al . α -Tocopherol and Hippocampal Neural Plasticity in Physiological and Pathological Conditions / *Int J Mol Sci*. **2016**; 17(12): 2107. Doi: 10.3390/ijms17122107.

Athamena S., Chalghem I., Laouar k.A., Laroui S., Khebri S. Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* /*Lebanese Science Journal*. **2010** ; 11(1) : 70.

Références

Avery S.V. Les cibles moléculaires du stress oxydatif/*Biochemical Journal*. **2011**; 434(2): 201-210. Doi:10,1042 / BJ20101695.

Ayala A., Muñoz M.F., Argüelles E. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal/ *hindawi publishing corporation oxidative medicine and cellular longevity*.**2014**;31. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438>.

B

Bakr R.O., El-Naa M.M., Zaghloul S.S., Omar M.M. Profile of bioactive compounds in *Nymphaea alba* L. leaves growing in Egypt: hepatoprotective, antioxidant and anti-inflammatory activity/*BMC Complementary and Alternative Medicine*.**2017**;17:52. Doi: 10.1186/s12906-017-1561-2.

Barrera G., Gentile F., Pizzimenti S., Canuto R.A., Daga M., Arcaro A., et al. Mitochondrial Dysfunction in Cancer and Neurodegenerative Diseases: Spotlight on Fatty Acid Oxidation and Lipoperoxidation Products/*Antioxidants(Basel)*.**2016**;5(1): 7. Doi:10.3390/antiox5010007.

Baskaran A., Chua K.H., Sabaratnam V., Ram M.R., Kuppusamy U.R. Pleurotus giganteus (Berk. Karun & Hyde), the giant oyster mushroom inhibits NO production in LPS/H₂O₂ stimulated RAW 264.7 cells via STAT 3 and COX-2 pathways/*BMC Complement Altern Med*.**2017**; 17: 40.

Batool R., Khan M.R., Majid M. Euphorbia dracunculoides L. abrogates carbon tetrachloride induced liver and DNA damage in rats/*BMC Complement Altern Med*.**2017** ;17(1):223. Doi: 10.1186/s12906-017-1744-x.

Belge E.K. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/*Nutrition Journal*. **2016**;15: 71. Doi: 10.1186 / s12937-016-0186-5.

Belviranlı M., Okudan N. Well-Known Antioxidants and Newcomers in Sport Nutrition /*Antioxidants in Sport Nutrition*. **2015**.

Birben E., Sahiner U.M., Sackese C, Erzurum S., Kalayci O. Oxidative Stress et Antioxydant Defense/*WAO Journal*. **2012**; 5(1) :9-19 .

Biswas P. Vitamins /*Slideshare*. **2016**.

Boshtam M., Rafiei M., Golshadi I.D., Ani M., Shirani Z., Rostamshirazi M. Long term effects of oral vitamin E supplement in type II diabetic patients/*Int J Vitam Nutr Res*. **2005**;75(5):341-6.

Boubekri C. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques. **2014** : 58/59. Thèse. Université Mohamed Khider S-Biskra.

Références

Bouguerne B. Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose).**2012** : 49.Thèse. l'Université de Toulouse III.

Brack M. Stress Oxydatif .**2010** . www.stress-oxydatif.com.

Burton G.J., Jauniaux E. Oxidative stress/*Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*.**2011**;25(3): 287–299 <http://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016>.

C

Cai X., Yan A., Fu N., Wang S . In Vitro Antioxidant Activities of Enzymatic Hydrolysate from *Schizochytrium* sp. and Its Hepatoprotective Effects on Acute Alcohol-Induced Liver Injury In Vivo/*Mar Drugs*. **2017**;15(4). Doi: 10.3390/md15040115.

Castaldo S.A., Freitas J.R., Conchinha N.V., Madureira P.A. The Tumorigenic Roles of the Cellular REDOX Regulatory Systems/*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2016** ; 2016: 17 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8413032>.

Chen C.H., Joshi A.U., Mochly-Rosen D. The Role of Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenase 2 (ALDH2) in Neuropathology and Neurodegeneration /*Acta Neurol Taiwan* .**2016**; 25:111-123.

Chen J., Wei Y., Chen X., Jiao J., Zhang Y. Polyunsaturated fatty acids ameliorate aging *via* redox-telomere-antioncogene axis/*Oncotarget*.**2017**; 8:7301-7314.

Ciacio O., Castaing D. Le Foie et les Voies biliaires : Anatomie/ *CHB*.**2015**. <http://www.centre-hepato-biliaire.org/>

Cillard J. Physiopathologie du Stress Oxydant: Faculté de Pharmacie Université de Rennes « Mouvement-Sport-Santé » **2011**.

Cillard J., Cillard P. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations/*OCL*. **2006**; 13 (1):28. <http://dx.doi.org/10.1051/ocl.2006.6666>.

Collard J. Stress oxydant.**2014**. (WWW. Labocollard .be J. Collard : Stress oxydant 2014).

Cook-Mills J.M., McCary C.A. Isoforms of vitamin e differentially regulate inflammation/*Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*.**2010**; 10(4): 348–366.

COULIBALY I., DUBOIS-DAUPHIN R., DANTHINE S., MAJAD L., MEJOUR T., et al. Techniques de séchage des starters lactiques et mécanismes affectant la viabilité cellulaire suite à la lyophilisation/*Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*.**2011**; 15(2).

Csiszár J., Horváth E., Bela K., Gallé Á. Glutathione-Related Enzyme System: Glutathione Reductase (GR), Glutathione Transferases (GSTs) and Glutathione Peroxidases (GPXs)/*Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses*. **2016** : 137-158.

Références

Cuvelier M.E., Maillard M.N. Stability of edible oils during storage/*OCL*.**2012**; 19(2): 125–132. <https://doi.org/10.1051/ocl.2012.0440>.

D

Daine F. Vitamine E ou tocophérol/*doctissimo nutrition*. **2016**.

Das K., Roychoudhury A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants/*Front. Environ. Sci.* **2014**. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>.

Daum-badouard C. Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation.**2006**.Thèse. Université Joseph Fourier-Grenoble.

Deavall D.G., Martin E.A., Horner J.M., Roberts R. Drug-Induced Oxidative Stress and Toxicity/*Journal of toxicology*.**2012**; 2012 (2012).13pages <http://dx.doi.org/10.1155/2012/645460>.

Dhingra S. Oxydants et antioxydants en médecine complémentaire et alternative.**2014**.

Di Meo M.T.S., Reed T.T., Venditti P., Victor V.M. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions /*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2016** ; 2016 :44 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1245049>.

Dubois B. Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue bibliographique.**2015** :84.Thèse. l'Université Claude-Bernard - Lyon (Médecine - Pharmacie).

Duncan K.R., Suzuki Y.J. Vitamin E Nicotinate/*Antioxidants*. **2017**; 6(1): 20. Doi: 10.3390/antiox6010020.

E

El-Beltagi H.S., Mohamed H.I. Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Antioxidative Defense Mechanism/*Not Bot Horti Agrobo*. **2013**;41(1):44-57.

Else PL., Kraffe E. Docosahexaenoic and arachidonic acid peroxidation: It's a within molecule cascade/*Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. **2015** : 417–421. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.10.039>.

Enoiu M. Rôle pro-oxydant de la gamma-glutamyltransférase et de la gamma-glutamyltransférase « related » dans la peroxydation lipidique.**2001**:2.Thèse. Université Henri Poincaré Nancy.

Références

Eralp A., Menguc N.Y., Polat E., Yuncu M., Koruk M., et al. Preventative Effect of Vitamin E on Mast Cells in Carbon Tetrachloride-induced Acute Liver Damage/ *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*.**2016**;16 (3):205-212.

Eymard S. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés le 10 Octobre. **2003**.64/65.Thèse. Université de Nantes.

F

Favier A. Le stress oxydant - Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique/*L'actualité chimique*. **2003** :109.

Flora S.J.S. Aspects chimiques et biologiques des antioxydants pour les stratégies contre l'exposition aux métaux et métalloïdes/*Oxid Med cellulaire Longev*. **2009**; 2 (4): 191-206.

Fritz K.S., Petersen D.R. An overview of the chemistry and biology of reactive aldehydes /*Free Radical Biology and Medicine*.**2013**;59:87. www.elsevier.com/locate/freeradbiomed.

Fu W., Chena J., Cai Y., Lei Y., Chenb L., et al. Antioxidant, free radical scavenging, anti-inflammatory and hepatoprotective potential of the extract from *Parathelypteris nipponica* (Franch. et Sav.) Ching/*Journal of Ethnopharmacology*.**2010**;130(3) :521–528.

Frankel E.N. Oxydation Lipid/ *Oily Press* .2^{ème} édition. **2005** ; 10.

G

Gad A.S., Sayd A.F. Antioxidant Properties of Rosemary and Its Potential Uses as Natural Antioxidant in Dairy Products/*Food and Nutrition Sciences*.**2015**; 6. <http://www.scirp.org/journal/fns> <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2015.61019>.

Gaschler M.M., Stockwell R.B. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Boveris/*InTech*. **2012** : 17. <http://dx.doi.org/10.5772/45943>.

Gaschler M.M., Stockwell B.R. Lipid peroxidation in cell death/*Biochemical and Biophysical Research Communications*. **2017**;482:419–425
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>.

Gasparrini M., Forbes-Hernandez T.Y., Giampieri F., Afrin S., Mezzetti B. et al. Protective Effect of Strawberry Extract against Inflammatory Stress Induced in Human Dermal Fibroblasts/*Molecules* **2017**; 22(1) . Doi:10.3390/molecules22010164.

Références

Ghaisas M.M., Tanwar M.B., Ninave P.B., Navghare V.V., Takawale A.R., et al. hepatoprotective activity of aqueous and ethanolic extract of *trichosanthes dioica roxb.* in ferrous sulphate-induced liver injury/*Pharmacologyonline*. **2008** : 127-135.

Gonzalez-Vicente A., Garvin J.L. Effects of Reactive Oxygen Species on Tubular Transport along the Nephron/*Antioxidants (Basel)*. **2017**;23;6(2). Doi: 10.3390/antiox6020023.

Grimm M.O., Mett.J., Hartmann T. The Impact of Vitamin E and Other Fat-Soluble Vitamins on Alzheimer's Disease/*Int J Mol Sci*. **2016** ; 17(11).

Grotto D., Maria L.S., Valentini J., Paniz C., Schmitt G., Garcia S.C., et al. Importance des biomarqueurs de la peroxydation lipidique et des aspects méthodologiques pour la quantification du malondialdéhyde/*Quím Nova*.**2009**; 32(1) . [Http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000100032](http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000100032)

Guilland J.K. Les interactions entre les vitamines A, D, E et K : synergie et/ou compétition. **2011** ; 18(2) 61-63 <http://dx.doi.org/10.1051/ocl.2011.0376>.

H

Halder S.R., Bhattacharyya M. Oxidative stress: Lipid peroxidation products as predictors in disease progression/*J Exp Integr Med*.**2014**; 4 .Doi:10.5455/jeim.210414.rw.007.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. Le stress oxydant / *Rev Med Liege* .**2007**; 62(10): 628.

Halliwell B. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life/*Plant Physiol*. **2006**: 141(2): 312–322.

Hassan W., Noreen H., Rehman S., Gul S., Kamal M.A., et al. Oxidative Stress and Antioxidant Potential of One Hundred Medicinal Plants/*Curr Top Med Chem*.**2017**.

Hewawasam R.P., Jayatilaka K.A.P.W., Pathirana C. Protective effect of *Asteracantha longifolia* against carbon tetrachloride and paracetamol induced oxidative stress and lipid peroxidation in mice/*Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*.**2016**; 5(5): 179-183.

Hilary S., Habib H., Souka U., Ibrahim W., Platat C. Bioactivity of arid region honey: an in vitro study/*BMC Complement Altern Med*. **2017** Doi: 10.1186/s12906-017-1664-9.

Hopkins R.Z. GSH: A Double-Edged Sword/*ROS*. **2017**; 3 (8): 121-126.

Hrycay E.G., Bandiera S.M. Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer/*Adv Pharmacol*.**2015**;74: 35-84.

Références

J

Jahromi A.J., Rasooli R., Kamali Y., Ahmadi N., Sattari E. Short-term Effects of Date Palm Extract (*Phoenix dactylifera*) on Ischemia/Reperfusion Injury Induced by Testicular Torsion/Detorsion in Rats/*PharmacognosyRes.***2017**; 9(1):69–73. Doi: 10.4103/0974-8490.199769.

Janicka M., Kot-Wasik A., Kot J., Namieśnik J. Isoprostanes-Biomarkers of Lipid Peroxidation: Their Utility in Evaluating Oxidative Stress and Analysis /*Int. J.Mol. Sci.* **2010** ; 11 (11) : 4631 -4659; Doi : 10.3390 / ijms11114631.

Jetawattana S. a lipid oxidation product/*Free Radicals in Biology and Medicine* **2005**. <http://www.4adi.com/data/protox/mda51.html>; 2005./ Malondialdehyde (MDA).

Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease/*Toxicology.* **2011**;283 :65–87. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2011.03.001>.

Jørgensen P., Milkovic L., Zarkovic N., Waeg G., Rattan SI. Lipid peroxidation-derived 4-hydroxynonenal-modified proteins accumulate in human facial skin fibroblasts during ageing in vitro/*Biogerontology.***2014**; 15(1): 105–110.

K

Kabel A.M. Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition/*World Journal of Nutrition and Health.***2014**; 2 (3): 35-38. Doi: 10.12691/jnh-2-3-2.

Kang S., Lee Y.H., Lee J.E. Metabolism-Centric Overview of the Pathogenesis of Alzheimer's Disease/*Yonsei Med J.* **2017**; 58(3):479-488. Doi: 10.3349/ymj.2017.58.3.479.

Kasote D.M., Katyare S.S., Hegde M.V., Bae H. Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications/*Int J Biol Sci.***2015**; 11(8):982-991. Doi:10.7150/ijbs.12096.

Khan R.A., Khan M.R., Sahreen S. CCl₄-induced hepatotoxicity: protective effect of rutin on p53, CYP2E1 and the antioxidative status in rat/*BMC Complementary and Alternative Medicine.* **2012**. Doi: 10.1186/1472-6882-12-17.

Kheiri R., Koohi M.K., Sadeghi-Hashjin G., Nouri H., Khezli N. et al. Comparison of the Effects of Iron Oxide, as a New Form of Iron Supplement, and Ferrous Sulfate on the Blood Levels of Iron and Total Iron-Binding Globulin in the Rabbit/*Iran J Med Sci.* **2017** ;42(1):79-84.

Références

Kirkwood J.S., Lebold K.M., Miranda C.L., Wright C.L., Miller G.W., et al . Vitamin C deficiency activates the purine nucleotide cycle in zebrafish/*J Biol Chem.* **2012**; 287(6):3833-41. Doi: 10.1074/jbc.M111.316018.

Kumar K., Pandey A.K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview/*The Scientific World Journal.* **2013**: 16 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750>.

Kumar R.S., Narasingappa R.B., Joshi C.G., Girish T.K., Prasada Rao U.J., Danagoudar A. Evaluation of Cassia tora Linn. against Oxidative Stress-induced DNA and Cell Membrane Damage/*J Pharm Bioallied Sci.* **2017**;9(1):33-43. Doi: 10.4103/0975-7406.206215.

L

Labuschagne C.F., van den Broek N.J., Postma P., Berger R., Brenkman A.B. A protocol for quantifying lipid peroxidation in cellular systems by F2-isoprostane analysis/*PLoS One.* **2013**; 8 (11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080935>.

Laguerre M., López-giraldo L.J., Lecomte J., Pina M., Villeneuve P. Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante/*OCL.* **2007** ; 14(5) :278. <http://dx.doi.org/10.1051/ocl.2007.0140>.

Landrier J.F. Vitamine E et physiologie du tissu adipeux/*nutrition et santé.* **2011** ; 18(2) : 83-87. <http://dx.doi.org/10.1051/ocl.2011.0370>.

Laouar A., Klibet F., Bourogaa E., Benamara A., Boumendjel A., et al. Potential antioxidant properties and hepatoprotective effects of Juniperus phoenicea berries against CCl4 induced hepatic damage in rats/*Asian Pac J Trop Med.* **2017**; 10(3):263-269. Doi: 10.1016/j.apjtm.2017.03.005.2017.

Lee J., Koo N., Min D.B. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals/*comprehensive reviews in food science and food safety.* **2004** ; 3: 22-23.

Leverve X. Stress oxydant et antioxydants ?/ *Journée Annuelle de Nutrition et de Diététique.* **2009**. <http://dx.doi.org/10.20455/ros.2017.821>.

Li C., Miao X., Li F., Wang S., Liu Q., et al. Oxidative Stress-Related Mechanisms and Antioxidant Therapy in Diabetic Retinopathy/*Oxid Med Cell Longev.* **2017**. Doi: 10.1155/2017/9702820.

Li J., Wuliji O., Li W., Jiang Z.G., Ghanbari H.A. Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders/*Int.J.Mol.Sci.* **2013**;14(12):24438-24475; Doi:10.3390/ijms141224438.

Li S., Tan H., Wang N., Zhang Z.j., Lao L., et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases/*Int. J. Mol. Sci.* **2015** ; 16. Doi:10.3390/ijms16112594.

Références

Lippman S.M., Klein E.A., Goodman P.J., Lucia M.S., Thompson I.M., et al. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT)/*JAMA*.**2009**; 301(1):39-51.

Liu S., Lee I.M., Song Y., Cook N.R., Manson J.E., et al. Vitamin E and risk of type 2 diabetes in the women's health study randomized controlled trial/*Diabetes*.**2006**; 55(10):2856-62.

Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health /*Pharmacogn rev.* **2010**; 4 (8): 118-126. Doi: 10.4103/0973-7847.70902.

M

Madhura T.K. Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of OCD /*Biochem Anal Biochem*. **2015**. Doi: 10.4172 / 2161-1009.1000219.

Magalingam K.B., Radhakrishnan A.K., Haleagrahara N. Protective Mechanisms of Flavonoids in Parkinson's Disease/*Oxid Med Cell Longev*. **2015**; **2015**: 314560. Doi: 10.1155/2015/314560.

Mahajan N., Sah S., Nath S.K., Paudyal b., Shah D. Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus/*Journal of Biomedical Science*. **2014**. Doi: 10.1186 / 1423-0127-21-23.

Main P.A.E., Angley M.T., O'Doherty C.E., Thomas O., Fenech M. The potential role of the antioxidant and detoxification properties of glutathione in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis /*Nutrition & Metabolism*. **2012**: 35 Doi: 10.1186/1743-7075-9-35.

Mandal M.A. Systèmes Antioxydants d'Enzymes /*DM.News-Medical.net - An AZoNetwork Site. Owned and operated by AZoNetwork* .**2012**.

Marreiro D.N., Cruz K.C., Morais J.C., Beserra J.B., Severo J.S., et al. Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms /*Antioxidants*. **2017**;6(24). Doi:10.3390/antiox6020024.

Masymas S., Curien G., Giustini C., Rolland N., Ferrer J.L., Cobessi D. Crystal Structure of the Chloroplastic Oxoene Reductase ce QORH from *Arabidopsis thaliana*/*Front. Plant Sci*. **2017**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00329>.

Maton F. Vitamine E (tocopherols)/*Nutrition & Diététique*. **2015**.

Mehta S.K., Joghi S., Gowde T. Members of Antioxidant Machinery and Their Functions. **2015**. <https://www.researchgate.net/>.

Mercan D. Le Stress Oxydatif .**2010** : 4-11.<https://www.ar-l.ch/Docs/mercan.pdf>.

Références

Michel F., Bonnefont-Rousselot D., Mas E., Drai J.,Thérond P. Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques/*Ann Biol Clin* .**2008** ;66 (6), :page 604

Migdal C., Serres M. Reactive oxygen species and oxidative stress/*Med Sci*. **2011**; 27 (4): 405 – 412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>.

Miguel F.M., Schemitt E.G., Colares J.R. , Hartmann R.M. , Morgan-Martins M.I., et al. Action of vitamin e on experimental severe acute liver failure/*Arq. Gastroenterol*. **2017**; 54(2):123-129. Doi: 10.1590/S0004-2803.201700000-03.

Milchak L.M., Bricker J.D. The effects of glutathione and vitamin E on iron toxicity in isolated rat hepatocytes /*Toxicology Letters*. **2002**;126 (3):169-77 . Doi: 10.1016/S0378-4274(01)00436-2.

Miller E., Morel A., Saso L., et Saluk J. Isoprostanes and Neuroprostanes as Biomarkers of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases/*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2014** ; 2014. 10 pages .<http://dx.doi.org/10.1155/2014/572491>.

Mohammed M.T., Kadhim S.M., Jassim A. M.N. , Abbas S.I. Free radicals and human health/ *International Journal of Innovation Sciences and research*. **2015**; 4(6) : 218-223.

Moukette B., Pieme C.A., Nya Biapa P.C., Ngogang J.Y. In vitro antioxidant and anti-lipoperoxidative activities of bark extracts of *Xylopia aethiopica* against ion-mediated toxicity on liver homogenates/*J Complement Integr Med*. **2015**; 12(3):195-204. Doi: 10.1515/jcim-2015-0002.

Myers R.K., McGavin M.D., Zachary J.F. Cellular Adaptations, Cell Injury, and Cell Death . **2016**. <http://veteriankey.com/>.

N

Naduthota R.M., Bharath R.D., Jhunjunwala K., Yadav R., Saini J., et al. Imaging biomarker correlates with oxidative stress in Parkinson's disease/*neuroindia*. **2017** ; 65 : 263-268.

Nagababu E., Rifkind J.M., Sesikeran B., Lakshmaiah N. Assessment of Antioxidant Activities of Eugenol by *in vitro* and *in vivo* Methods/*Methods Mol Biol*. **2010**; 610: 165–180. Doi: 10.1007/978-1-60327-029-8_10.

Nam T.G. Lipid Peroxidation and Its Toxicological Implications /*Toxicol Res*. **2011**; 27(1): 1–6.

Negi R., Pande D., Kumar A., BasuS., KhannaR.S., et al . In-vivo Oxidative DNA damage, Protein Oxidation and Lipid Peroxidation as a Biomarker of Oxidative stress in Preterm Low Birth Weight Infants/*Journal of Medical Sciences*. **2011**;11: 77-83. Doi: 10.3923/jms.2011.77.83.

Références

Negre-Salvayre A., Coatrieux C., Ingueneau C., Salvayre R. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors/*Br J Pharmacol*. **2008**; 153(1): 6–20. Doi: 10.1038/sj.bjp.0707395.

Nie B., Gan W., Shi F., Hu G., Chen L., et al. Age-Dependent Accumulation of 8-Oxoguanine in the DNA and RNA in Various Rat Tissues/*Oxid Med Cell Longev*. **2013**. Doi: 10.1155/2013/303181.

Niki E. Lipid peroxidation products as oxidative stress biomarkers/*BioFactors*. **2008**; 34: 171–180.

Nimse S.B., Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms / *RSC Adv*. **2015**.

Noori S. An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System/*Open Access Scientific Reports*. **2012** 1:413. <http://dx.doi.org/10.4172/scientificreports.413>.

Nowak J.K. Oxidative stress, polyunsaturated fatty acids derived oxidation products and bis retinoids as potential inducers of CNS diseases: focus on age-related macular degeneration /*Pharmacological Reports*. **2013**; 65 :288-304.

Nwosu D.C., Emmanuelfeanyi O., Nkwocha B.C., Nwanna C.A., Nwanjo H.U., et al. change in lipid peroxidation marker (mda)and non enzymatic antioxidants (vit c & e) in hiv seropositive children in an urban community of abia state.nigeria/*Bio.Innov*. **2016**;5(1): 24-30.

O

Ohta Y., Yashiro K., Ohashi K., Horikoshi Y., Kusumoto C., et al. Effect of dietary vitamin E supplementation on liver oxidative damage in rats with water immersion restraint stress/*j nutr sci vitaminol*. **2015**; 61: 113-122.

Oloyede O.I., Aluko O.M. Determination of Antioxidant Potential of Momordica Foetida Leaf Extract on Tissue Homogenate/*sjmct*.**2012**; 2012 : 4 Pages. Doi: 10.7237/sjmct/225.

Omodanisi E.I., Aboua Y.G., Oguntibeju O. Assessment of the Anti-Hyperglycaemic, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of the Methanol Extract of Moringa Oleifera in Diabetes-Induced Nephrotoxic Male Wistar Rats/*Molecules*. **2017**; 22(4). Doi: 10.3390/molecules22040439.

P

Paal J.V.D., Neyts E.C., Verlackt C.C.W., BogaertsA. Effect of lipid peroxidation on membrane permeability of cancer and normal cells subjected to oxidative stress/*Chem. Sci*. **2016**; 7: 489–498. Doi: 10.1039/c5sc02311d.

Références

Palipoch S., Koomhin P. Oxidative Stress-Associated Pathology: A Review/*Sains Malaysiana*. **2015**; 44 (10) :1444–1446.

Pari L., Karthikeyan A., Karthika P., Rathinam A. Protective effects of hesperidin on oxidative stress, dyslipidaemia and histological changes in iron-induced hepatic and renal toxicity in rats/*Toxicology Reports*. **2015** ; 2 :46–55.

Peña R.C., Silva V.O., Quina F.H., Bertotti M. Hydrogen peroxide monitoring in Fenton reaction by using a ruthenium oxide hexacyanoferrate/multiwalled carbon nanotubes modified electrode/*Journal of Electroanalytical Chemistry*. **2012**;686 :1–6.

Perluigi M., Coccia R., Butterfield D.A. 4-Hydroxy-2-Nonenal, a Reactive Product of Lipid Peroxidation, and Neurodegenerative Diseases: A Toxic Combination Illuminated by Redox Proteomics Studies/*Antioxid Redox Signal*. **2012**;17(11):1590–1609. Doi: 10.1089/ars.2011.4406.

Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health /*Int J Biomed Sei*. **2008**; 4 (2): 89 -96.

Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases / *Indian J Clin Biochem* .**2015**; 30 (1): 11 à 26.

Piechota-Polanczyk A., Fichna J. The role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases /*Pharmacol J. Naunyn-Schmiedeberg*. **2014**; 387 (7) ; 605-620.

Pieme C.A., Tatangmo J.A., SiSmo G., Nya P.C.B., Moor V.J.A., et al. Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes/*BMC Res Notes*.**2017**; 10(1):141. Doi: 10.1186/s13104-017-2463-6.

Pillon N.J., Croze M.L., VellaLaurent R.E., Soulère L., Soulage C.O. The Lipid Peroxidation By-Product 4-Hydroxy-2-Nonenal (4-HNE) Induces Insulin Resistance in Skeletal Muscle through Both Carbonyl and Oxidative Stress/*Endocrinology* .**2012** ; 153 (5): 2099 - 2111. Doi: <https://doi.org/10.1210/en.2011-1957>.

Pinheiro P.F., Justino G.C. structural-analysis-of-flavonoids-and-related-compounds-a-review-of-spectroscopic-applications/ "*Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*". **2012**. Doi: 10.5772/29152.

Pizzimenti S., Toaldo C., Pettazzoni P., Dianzani M.U., Barrera G. The "Two-Faced" Effects of Reactive Oxygen Species and the Lipid Peroxidation Product 4-Hydroxynonenal in the Hallmarks of Cancer/*Cancers* **2010**; 2(2): 338-363. Doi:10.3390/cancers2020338.

Références

Powers S.K., Jackson M.J. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production/ *Physiological Reviews*. **2008**; 88 (4):1243-1276. Doi:10.1152 / physrev.00031.2007.

Prasad P.S.H., ramakrishnan N. in vitro lipid peroxidation assay of rumex vesicarius *Int j pharm pharm sci*. **2012**; 4: 368-370.

Procházková D., Boušová I., Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids/*fitoterapia*.**2011**;82(4) :513-523 <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018>.

Q

Qu Y.H., Fu J.K., Liu K., Zuo Z.Y., Jia H.N., et al. Screening of α -Tocopherol Transfer Protein Sensitive Genes in Human Hepatoma Cells (HepG2)/*Int. J. Mol. Sci*. **2016**;17(7):1016. Doi:10.3390/ijms17071016.

Quan J., Li T., Zhao W., Xu H., Qiu D., Yin X. Hepatoprotective effect of polysaccharides from *Boschniakia rossica* on carbon tetrachloride-induced toxicity in mice/*Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. **2013**;52 (3) : 244-252.

R

Raederstorff D., Wyss A., Calder P.C., Weber P., Eggersdorfer M. Vitamin E function and requirements in relation to PUFA /*Br J Nutr*. **2015**; 114 (8): 1113-1122. Doi: 10.1017 / S000711451500272X.

Ramana K.V., Srivastava S., Singhal S.S. Lipid Peroxidation Products in Human Health and Disease/*Oxid Med Cell Longev*. **2017**; Doi: 10.1155/2017/2163285.

Rao P. S., Kalva S., Yerramilli A., Mamidi S. Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants/*free radicals and antioxidants*. **2011**;1(4). Doi: 10.5530 / ax.2011.4.2.

Repetto M., Semprine J., Boveris A. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determinatio/*lipid peroxidation*.**2012**. <Http://dx.doi.org/10.5772/45943>.

Reuter S. , Gupta S.C., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?/ *Free Rad Biol Med*. **2010**; 49: 1603-1616.

Ritesh K.R., Suganya A., Dileepkumar H.V., Rajashekar Y., Shivanandappa T. A single acute hepatotoxic dose of CCl₄ causes oxidative stress in the rat brain/*Toxicology Reports* .**2015**; 2 : 891–895.

Références

Rosa D.P., Bona S., Simonetto D., Zettler C., MARRONI C.A., et al. Marron melatonin protects the liver and erythrocytes against oxidative stress in cirrhotic rats /*ARQGA*.**2010** ; 47 (1).

S

Sadeghi H., Hosseinzadeh S., Touri M.A., Ghavamzadeh M., Barmak M.J., et al. Hepatoprotective effect of *Rosa canina* fruit extract against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat/*Avicenna J Phytomed*. **2016** ; 6(2): 181–188.

Sánchez-Sevilla L., Mendieta-Condado E., Hernández-Muñoz R. treatment reverses α -tocopherol-induced desynchronization of polyamine and retinoid metabolism during rat liver regeneration Lourdes/*Journal of Translational Medicine*. **2016**; 14:307. Doi: 10.1186/s12967-016-1062-y.

Santo A., Zhu H., Li Y. R. Reactive Oxygen Species/*Cell Med Press* .**2016**; 2(4):245–263, <http://dx.doi.org/10.20455/ros.2016.847>.

Sarma A.D., Mallick R.A., Ghosh A.K. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions/*International Journal of Pharma Sciences et Recherche (IJPSR)*. **2010**; 1 (3) :185-192.

Schaur R.J., Siems W., Bresgen N., Eckl P.M. 4-Hydroxy-nonenal A Bioactive Lipid Peroxidation Product/*Biomolecules*. **2015**; 5(4):2247-2337. Doi:10.3390/biom5042247.

Schiavone S., Jaquet V., Trabace L., Krause K.H. Severe Life Stress and Oxidative Stress in the Brain: From Animal Models to Human Pathology /*Antioxid Redox Signal*. **2013**; 18(12): 1475–1490. Doi: 10.1089/ars.2012.4720.

Schmölz L., Birringer M., Lorkowski S., Wallert M.Complexity of vitamin E metabolism/*World J Biol Chem*. **2016**; 7(1): 14-43. Doi: 10.4331/WJBC.v7.i1.14.

Schwarzer E., Arese P., Skorokhod O.A. Role of the Lipoperoxidation Product 4-Hydroxynonenal in the Pathogenesis of Severe Malaria Anemia and Malaria Immunodepression/*Oxid Med Cell Longev*. **2015** . Doi : 10.1155 / 2015/638416.

Ścibior A., Gołębiowska D., Niedźwiecka I. Magnesium Can Protect against Vanadium-Induced Lipid Peroxidation in the Hepatic Tissue/*Oxid Med Cell Longev*.**2013**. Doi: 10.1155/2013/802734.

Seol Y., Javande I. Citric Acid-Modified Fenton's Reaction for the Oxidation of Chlorinated Ethylenes in Soil Solution Systems Earth Sciences Division/ *Lawrence Berkeley National Laboratory*.**2008**. <http://escholarship.org/uc/item/7zb8h3v2> .

Shah D., Mahajan N., Sah S., Nath S.K., Paudyal B. Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus/*J Biomed Sci*. **2014**; 21(1): 23. Doi: 10.1186/1423-0127-21-23.

Références

Shahidi F., Zhong Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability/*Chem. Soc. Rev.* **2010**; 39, 4067-4079 . Doi.10.1039/B922183M.

Shakya A.K. Medicinal plants: Future source of new drugs/*International Journal of Herbal Medicine.* **2016**; 4(4): 59-64.

Sharma P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessaraki M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions / *Journal of Botany.* **2012**; 2012 . <http://dx.doi.org/10.1155/2012/217037>.

Shazia Q., Mohammad Z. H., Rahman T., Shekhar H.U. Correlation of Oxidative Stress with Serum Trace Element Levels and Antioxidant Enzyme Status in Beta Thalassemia Major Patients: A Review of the Literature/*Anemia.* **2012**; (2012):7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/270923>.

Shibata T., Shimizu K., Hirano K., Nakashima F., Kikuchi R., et al. Adductome-based identification of biomarkers for lipid peroxidation /*The American Society for Biochemistry and Molecular Biology.* **2017** ;292(20):8223-8235. Doi: 10.1074/jbc.M116.762609 .

Shinde A., Ganu J., Naik P. Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review/*Journal of Dental & Allied Sciences.***2012**; 1(2):63-66.

Siahpoosh A., Soleimani I. In vitro evaluation of inhibitory effect of Phoenix dactylifera bark extract on rat lipid peroxidation and blood hemolysis/*Trop J Pharm Res.* **2016**; 15(8):1707-1713 Doi: <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v15i8.16>.

Simonov M., Petruh I., Vlizlo V. Processes of lipid peroxidation and antioxidant defense in dairy cows depending on lactation period and season/*Rocz. Nauk.Zoot.T.* **2015**:107–115.

Singh S.P. Postharvest Oxidative Stress in Fresh Fruits/ *Postharvest Fruit and Vegetable Technology.* Edited by Ron B. H. Wills and John Golding. **2015**; 237–260. <https://doi.org/10.1201/b18489-12>.

Singh Z., Karthigesu I.P., Singh P., Kaur R. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: a Review/*Iranian J Publ Health.* **2014**; 43 (3) : 7-16. <http://ijph.tums.ac.ir>.

Sofowora A., Ogunbodede E., Onayade A. The Role and Place of Medicinal Plants in the Strategies for Disease Prevention/*Afr J Tradit Complement Altern Med.* **2013**; 10(5): 210–229.

Sowmya A., Nagarajan V. Effect of Azima tetracantha Lam on Ferrous Sulphate Induced Toxicity in Albino Rats/*Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences Hepatoprotective .* **2014**; 5 (1).

Starlin T., Gopalakrishnan V.K. enzymatic and non-enzymatic antioxidant properties of tylophora pauciflora wight and arn:an in vitro study/*Asian J Pharm Clin Res.* **2013** ;6: 68-71.

Références

Suárez-Jiménez G.M., López-Saiz C.M., Ramírez-Guerra H.E., Ezquerro-Brauer J.M., Ruiz-Cruz S., et al. Role of Endogenous and Exogenous Tocopherols in the Lipid Stability of Marine Oil Systems: A Review /*Int. J. Mol. Sci.* **2016**;17 (12) 1968. Doi: 10.3390/ijms17121968.

Suksomboon N., Poolsup N., Sinprasert S. Effects of vitamin E supplementation on glycaemic control in type 2 diabetes: systematic review of randomized controlled trials/*J Clin Pharm Ther.* **2011**; 36(1):53-63.

Szalay J. What Are Free Radicals? /Live Science Contributor. **2016**.

Szarka A., Tomasskovics B., Bánhegyi G . The Ascorbate-glutathione- α -tocopherol Triad in Abiotic Stress Response/ *Int. J. Mol. Sci.* **2012** ; 13 (4) : 4458-4483. Doi: 10.3390/ijms13044458.

Szymanska R., Pospisil P., Kruk J. Plant-Derived Antioxidants in Disease Prevention/ *Oxid Med Cell Longev.* **2016** . Doi: 10.1155/2016/1920208.

T

Tanguy M., Begué-Simon A.M. Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation /*Médecine.* **2009** ; 5 (6):256-260.

Thitimuta S., Pithayanukul P., Nithitanakool S., Bavovada R., Leanpolchareanchai J., et al. Camellia sinensis L. Extract and Its Potential Beneficial Effects in Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti-Hepatotoxic, and Anti-Tyrosinase Activities/*Molecules* .**2017**; 22(3) Doi: 10.3390/molecules22030401.

Tinggi U. Sélénium: son rôle antioxydant dans la santé humaine /*Entourer la santé Précédent Med.* **2008**; 13 (2): 102-108.

Tolooei M., Mirzaei A. Effects of Pistacia Atlantica Extract on Erythrocyte Membrane Rigidity, Oxidative Stress, and Hepatotoxicity Induced by CCl₄ in Rats / *Glob J Health Sci.* **2015** ; 7(7): 32–38. Doi: 10.5539/gjhs.v7n7p32.

Tsai J.C., Chiu C.S., Chen Y.C., Lee M.S., Hao X.Y., et al. Hepatoprotective effect of *Coreopsis tinctoria* flowers against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice/*BMC Complementary and Alternative Medicine.* **2017**; 17:139. Doi: 10.1186/s12906-017-1604-8.

Références

U

Urban k., Höhling H.J., Lüttenberg B., SzuwartT., Plate U. An in vitro study of osteoblast vitality influenced by the vitamins C and E/ *Head Face Med.* **2012**; 8: 25. Doi: 10.1186/1746-160X-8-25.

V

Vaishnav R.A., Singh I.N., Miller D.M. Lipid peroxidation-derived reactive aldehydes directly and differentially impair spinal cord and brain mitochondrial function. */J Neurotrauma.* **2010**; 27 (7):1311-20. Doi: 10.1089/neu.2009.1172.

Vasilaki A.T., McMillan D.C. Lipid Peroxidation/*Work Entry Encyclopedia of Cancer.* **2017** : 2054-2055.

Vergely C., Rochette L. Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire/*médecine thérapeutique cardiologique.* **2003** ; 1 (1).

Vishwanath P. Free radicals & antioxidants in health and disease */Santé et médecine .* **2011**. [https://www.slideshare.net/featured/category/health-medicine.](https://www.slideshare.net/featured/category/health-medicine)

W

Wachtel-Galor S., Benzie I.F.F. An Introduction to Its History, Usage, Regulation, Current Trends, and Research Needs/*Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects.* 2^{ème} édition. **2011**.

Weber L.W., Boll M., Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model/*Crit Rev Toxicol.* **2003**; 33(2):105–36.

X

Xua T., Liub S., Mab T., Jiac Z., Zhangd Z., et al. Aldehyde dehydrogenase 2 protects against oxidative stress associated with pulmonary arterial hypertension/ *Redox Biol.* **2017** ; 11 : 286–296.

Y

Yin L., Wei L., Fu R., Ding L., Guo Y., et al. Antioxidant and Hepatoprotective Activity of *Veronica ciliata* Fisch. Extracts Against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury in Mice/*Molecules* .**2014**; 19(6):7223-7236. Doi:10.3390/molecules19067223.

Références

Yoshioka H., Usuda H., Miura N., Fukuishi N., Nonogaki T., Onosaka S. Vitamin D3-induced hypercalcemia increases carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity through elevated oxidative stress in mice/*PLoS ONE*.**2017**;12(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176524>.

Yu Y., Guerrero C.R., Liu S., Amato N.J., Sharma Y., et al. Comprehensive Assessment of Oxidatively Induced Modifications of DNA in a Rat Model of Human Wilson's Disease/*Mol Cell Proteomics*. **2016**; 15(3): 810–817. Doi: 10.1074/mcp.M115.052696.

Yüksel S., Yiğit A.A. Malondialdehyde and nitric oxide levels and catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase levels in maternal blood during different trimesters of pregnancy and in the cord blood of newborns/*Turk J Med Sci*. **2015**; 45: 454-459. Doi: 10.3906/sag-1311-72.

Z

Zeeshan H.M.A. Endoplasmic Reticulum Stress and Associated ROS/*Int J Mol Sci*. **2016**; 17(3): 327.

Zegarac J.P., PhD. Oxidative Stress: Effects on Lipids, Proteins, and DNA/*BioAnalytical Testing and Research Laboratories. Brunswick Labs*. **2017**.

Zhong H., Yin H. Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4-HNE) in cancer: Focusing on mitochondria/*RedoxBiology*.**2015**;4 :193–199. http://grenet.free.fr/fjtreize/Entraîneurs/Documents/OHB/Stress_oxydant.pdf.

Zhuang T., Han H., Yang Z. Iron, Oxidative Stress and Gestational Diabetes/*Nutrients*. **2014** ; 6(9): 3968–3980. Doi: 10.3390/nu6093968.

Zhuo Z., Fang S., Hu Q., Huang D., Feng J. Digital gene expression profiling analysis of duodenum transcriptomes in SD rats administered ferrous sulfate or ferrous glycine chelate by gavage/*Sci Rep*. **2016**; 6. Doi: 10.1038/srep37923.

Zimmermann L., Moldzio R., Vazdar K., Krewenka K., Pohl E. Nutrient deprivation in neuroblastoma cells alters 4-hydroxynonenal-induced stress response/*Oncotarget*. **2017**; 8(5): 8173–8188. Doi: 10.18632/oncotarget.14132.

Références

Les sites :

http://grenet.free.fr/fjtreize/Entraîneurs/Documents/OHB/Stress_oxydant.pdf.

http://julientap.free.fr/travail_fichiers/vitamine_E.pdf.**2004**.

http://www.academia.edu/11319555/les_antioxydants_dans_les_aliments_et_leurs_bienfaits_chez_lHomme.

<http://www.cyberlipid.org/perox/oxid0006.htm> Peroxidation Mechanisms.

<http://www.pharmacorama.com/pharmacologie/medicaments-vitamines/vitamine-e-tocopherol/>.

https://fr.wikipedia.org/wiki/Réaction_de_Fenton.

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Sulfate_de_fer\(II\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Sulfate_de_fer(II)).

<https://www.nutralica.eu/dossiers-scientifiques/antioxydants-le-glutathion-réduit.html>

La Vitamine E - La santé naturellement .<http://www.santenaturellement.com/Vitamine-E.htm>

Office of Dietary Supplements. Facts About Dietary Supplements.**2011**. <http://ods.od.nih.gov>.

Vitamine E ou tocophérol/*Pharmacorama Connaissance des médicaments*. **2017**.

<http://www.pharmacorama.com/pharmacologie/medicaments-vitamines/vitamine-e-tocopherol/>.

Vitamine E WWW.organostate .educ.

MANSAR Lina Norhane & MAKHLOUFI Imene Date de soutenance : 01/07/ 2017

Thème : Contribution à l'étude de l'effet oxydant par le sulfate de fer et le tétrachlorure de carbone et l'effet protecteur et antioxydant d'un extrait végétal butanolique et de la vitamine E.

Nature du diplôme : Master.

Domaine : Science de la nature et de la vie.

Mention : Toxicologie et santé.

Résumé :

Le sulfate de fer (FeSO_4) est utilisé comme un additif dans les produits alimentaires et aussi pour traiter l'anémie ferroprive, tandis que le tétrachlorure de carbone (CCl_4) est utilisé en médecine comme un vermifuge. D'autre part, le FeSO_4 et le CCl_4 sont utilisés largement comme modèle d'évaluation de l'hépatotoxicité expérimentale.

Le but de notre étude est d'étudier l'effet protecteur et antioxydant d'un extrait butanolique (*n*-BuOH) de plantes riche en polyphénols et de la vitamine E, pour atténuer la peroxydation lipidique induite *in vitro* par le FeSO_4 et *in vivo* par le CCl_4 dans le foie des rats. Pour l'étude *in vitro*, des fragments du foie de rats ont été récupérés, afin de réaliser un traitement par l'extrait végétal butanolique ou la vitamine E et avec des concentrations différentes et l'addition du FeSO_4 (0,5mM). Pour l'étude *in vivo*, les rats *Wistar Albinos* (100-170g) recevaient quotidiennement durant 7 jours l'extrait *n*-BuOH à une dose de 200mg/kg et la vitamine E à la dose de 150mg/kg par gavage, le dernier jour après 6 heures, elles ont reçu une dose unique de CCl_4 (20%) à raison de 2ml/kg de poids corporel par injection intra-péritonéale.

Le stress oxydatif induit par le FeSO_4 et le CCl_4 a été mis en évidence par l'augmentation de la peroxydation lipidique, à travers l'estimation de la concentration du MDA *in vitro* et *in vivo*. Les variations ont été améliorées après avoir administré l'extrait *n*-BuOH de la plante ou de la vitamine E, qui s'est traduit par une baisse de la concentration inhibant (IC_{50}) *in vitro* (65,83%) et (83,50%), et *in vivo* par la diminution du taux du MDA (63,79%) et (80,36%) respectivement.

Les résultats obtenus montrent bien que la dose de l'extrait *n*-BuOH 200mg/kg et la dose de la vitamine E 150mg/kg ont assuré une hépato-protection significative $p < 0,01$ contre les dommages membranaires causés par le FeSO_4 et le CCl_4 .

Mots clés : Extrait *n*-BuOH, Vitamine E, FeSO_4 , CCl_4 , Peroxydation lipidique.

Lieu de travail : Laboratoire de Biologie et environnement UFM Constantine

Jury d'évaluation :

Président :	Mme Ameddah Souad	Professeur	UFM Constantine.
Rapporteur :	Mr Benrebai Mouad	M.CA	UFM Constantine.
Examineurs :	Mr Bouldjadj Redouane	MAA	UFM Constantine.
	Mme Dekkouk Nadia	MCB	Université Batna 1.