

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة العليا للعلوم الفلاحية
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE
EL- HARRACH- ALGER

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques

Option : Sciences Alimentaires

THEME

*Effet pro-oxydant d'une dose élevée en α -Tocophérol sur
l'aspect histologique et certains biomarqueurs antioxydant
rénaux chez les rats Wistars*

Devant le jury

Présenté par : **Kanane Amel**

Président : M^{er}. MEKIMENE. L.

Professeur (ENSA)

Promoteur : M^{er}. AMMOUCHE.A

Professeur (ENSA)

Examineurs : M^{er}. CHIKOUCH.M

Professeur (CHU Mustapha)

: M^{me}. AMELLALA.A

Professeur (UMBB)

Année Universitaire : 2019-2020

REMERCIEMENTS

Remerciements

Cette thèse marque l'aboutissement de plusieurs années de travail intense et enrichissant et elle n'aurait pas fini, si je n'avais pas été soutenue et encouragée, c'est pourquoi je saisis cette occasion pour exprimer ma gratitude et mon obligeance.

Je remercie en premier lieu ALLAH le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de cette thèse, il a été et sera toujours à côté de moi pour réussir à terminer n'importe quel travail.

*Mes sincères remerciements vont à mon encadreur : Monsieur **Ammouche. A**; professeur au département de Technologie et de Nutrition Humaine, pour ses conseils judicieux qui m'ont permis de mener à bien cette étude, qu'il trouve ici l'expression de mes plus profonds respects et toutes mes gratitudes.*

*Je tiens à exprimer mes plus chers et vifs remerciements à mon Co- directeur de thèse, Monsieur **Laraba. A** ; professeur à l'Hôpital de Bab- El Oued qui m'a toujours apporté son soutien tout au long de ces années. Merci pour cette confiance sans faille, pour les encouragements dans les moments difficiles comme dans les bons, et d'avoir toujours cru en moi. Nul doute que ce soutien a été très précieux. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude, grâce à ses conseils enrichissants, j'ai pu mener ce travail à bien et finir ma thèse dans les meilleures conditions.*

J'exprime mes profonds remerciements aux membres de jury qui ont bien voulu juger ce travail :

*Madme **Amellal. H**; professeur à l'université de Boumerdes, qui m'a fait l'honneur de participer au jury de cette thèse en tant qu'examinatrice.*

*Monsieur **Chikouch. A**; professeur à l'hôpital Mustapha et Madame **Amellal. H**; professeur à l'université de Boumerdes qui m'ont fait l'honneur en acceptant de participer à ce jury malgré ces multiples occupations.*

REMERCIEMENTS

Monsieur **Mekimene. L.**; professeur à l'Ecole National d'Agronomie d'El-Harrach, qui m'a fait l'honneur de participer au jury de cette thèse en tant que Président.

Une partie importante de ce travail a été réalisée au Laboratoire de Biochimie & d'immunologie de l'Hôpital militaire de Ain Naadja sous la direction de Monsieur **Kacimi. N.**, et de Biochimie hormonale au service CPMC de l'Hôpital Mustapha), sous la responsabilité du Professeur **Grienne. L.**, qu'ils trouvent ici mes vifs remerciements pour leur accueil et aide précieuse.

Je tiens également à remercier Monsieur **Merrad M.**; professeur à l'Institut Pasteur de Sidi Fredj qui m'a permis de travailler au sein de son laboratoire.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance aux docteurs **Aït kaci. W.** & **Cherarid. K.**, ainsi que l'ensemble du personnel surtout **Farida** du service d'anatomie pathologie du service CPMC (Hôpital Mustapha), pour la réalisation des coupes histologiques.

Mon respect et reconnaissances sont adressés à Madame **Touaghit. N.**; docteur vétérinaire et responsable du laboratoire d'écophysiologie (IPA- Alger). Je tiens à la remercier et toute l'équipe pour leurs aides.

Je remercie très chaleureusement Monsieur **Brahim Errahmani**; Docteur en statistique qui m'a beaucoup aidé dans la réalisation de la partie analyse statistique et la soumission de l'article, grâce à ses précieux conseils, j'ai pu publier mon article dans de meilleures conditions.

Mon respect et reconnaissance sont adressés à Monsieur **Belallia. M.**; Technicien du laboratoire de technologie et de nutrition humaine à l'Ecole National d'Agronomie d'El-Harrach, pour la réalisation des profils en acides gras par Chromatographie Phase Gazeuse (CPG).

REMERCIEMENTS

*J'associe à mes remerciements au Dr **Nacera Haroun, Bouldjenat Faiza** doctorante et Madame **Sayed Hayet** Technicienne du laboratoire de biologie moléculaire de l'Université de Boumerdes pour la photographie et l'interprétation des coupes histologiques.*

Enfin, que tous ceux qui ont contribués, de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude. Et Merci à tous ceux que j'ai oublié, qu'ils m'en excusent...Merci à tous

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Acide Arachidonique

Ac CoA : Acétyl coenzyme A

ACS : Acyl Coa Synthétase

AGLC : Acides Gras Longue Chaines

AGE: Advanced glycation end products

AL: Acide Linoléique

ALA : Acide α -Linoléique

AGPI : Acide gras polyinsaturé

α -TO \cdot : Radicaux tocophéroxyles

BHT : Butylhydroxytoluène

CAT : Catalase

CRM : Chaîne respiratoire mitochondriale

DAG : Di Acyl Glycérol

DGAT : Diacylglycérol Acyl Transférase

DHA : Acide Docosahexaénoïque

DTPA : Acide diéthylène triamine penta acétique

EOA : Espèces Oxygénées Actives

ERN : Espèces réactives Nitrogénées

ERO : Espèces Réactives Oxygénées

FSO : Fresch Sunflower Oil

G-6 PDH : Glucose -6 Phospho-déshydrogénase

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion réductase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Disulfure de glutathion (Glutathion oxydé)

GST : Glutathion S-transférase

4-HNE : 4-hydroxynonéal

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HO₂• : Radical hydroperoxyde

LBP : Lipid Binding Protein

LOO• : Radical peroxyde d'acides gras

LPO : Peroxydation lipidique

LXR: Liver X Receptor

MAPK: Mitogen-activated-protein-kinase

MDA : Malondialdéhyde

MGAT: Mono acylglycérol Acyl Transférase

MPO : Miéloperoxydase

MTP : Microsomal Triglycéride Transfer Protein

NH₃ : Ammoniaque

NO• : Oxyde nitrique ou monoxyde d'azote

NOS_e : nitrique Oxyde synthase endothéliale

NO₂•: Dioxyde d'azote

NO₂⁻ : Nitrite

NO₃⁻ : Nitrate

O₂⁻ : Anion superoxyde

IO₂ : Oxygène singulet

OH• : Radical hydroxyl

ONOO⁻ : Ion peroxydinitrite

OLA: Oleique Linoléique Acide

ONOO : Peroxynitrite

PGF2 α : Prostaglandines F2 α

PPAR: Peroxisome Proliferator Activated Receptor

PC : Poids corporel

RO \cdot : Alkoxyde

ROOH : Peroxyde organiques ou hydroperoxyde

RO $_2\cdot$: Peroxyle

ROO \cdot : Radicaux peroxyds

R \cdot : Radical d'acide gras

RH : Acide gras

RNS : Reactive Nitrogen Species

RO : Alkoxyde

ROO : Peroxyle

ROO \cdot : Radical peroxyde

ROOH : Hydroperoxyde

Se : Sélénium

SN: Système Nerveux

SO : Stress Oxydatif

SOD : Superoxyde dismutase

OSOE1: Oxidized Sunflower Oil + 600 mg.kg⁻¹ d' α Tocophérol

OSOE2 : Oxidized Sunflower Oil + 1200 mg.kg⁻¹ d' α Tocophérol.

TBARS : Thio-Barbituric Acid Reactive Substances

TCA: Trichloroacétique acide

TG: Triglycerides

α -Toc: Alpha-Tocopherol

Abstract:

The present work consists in evaluating the effects of ingestion of 5% of oxidized sunflower oil for 46 hours at 98 °C with air insufflation, supplemented or not with α -Toc at doses of 600 and 1200 mg.kg⁻¹, on some enzymatic and non-enzymatic biomarkers of oxidative stress, MDA level and renal histopathology in growing *Wistar* rats.

The rats were divided into four groups: a control group receiving fresh sunflower oil (*FSO*) and three groups receiving different diets: the first (5% sunflower oxidized *OSO*), the second (5% sunflower oil oxidized and 600 mg.kg⁻¹ α -Toc *OSE1*) and the third (5% oxidized sunflower oil with 1200 mg.kg⁻¹ α -Toc *OSE2*). Rats were sacrificed after 12 weeks. The main results obtained indicate that the oxidized oil contains 232 mmol / kg of hydro-peroxides, 2,8 of secondary products (ethylenic diketones), 71,7% of polar glycerides and 43,3% of polar esters with a reduction of 40% linoleic acid compared to fresh oil. Although the oil is oxidized, it is still tolerated by the animal, but it reduces almost a quarter of the weight gain.

In addition, our results show a significant increase in LPO (p = 0.0001), accompanied by a significant decrease in antioxidant enzymatic activities, body weight and α -Toc levels, which clearly explain the mechanism of nephrotoxicity induced by oxidized sunflower oil. Oxidized sunflower oil (*OSO*) supplementation with 600 mg.kg⁻¹ of α -Toc normalizes the deleterious effect of oxidative stress by a return to normal body weight and LPO values similar to those of the control group rats. Furthermore, a significant increase in α -Toc and renal antioxidant activity comparable to the control group with a significant reduction in the concentration of LPO. However, administration of a higher dose of α -Toc (1200 mg.kg⁻¹) induces a significant increase in LPO (p = 0.0001), followed by a significant depletion of antioxidant status and α -Toc. The renal tissue sections of these groups revealed degenerative changes in glomeruli, renal tubules, congestion of blood vessels with severe inflammatory cell infiltration and more edema.

Thus, this study suggests that an oxidized oil (*OSO*) leads to oxidative stress that can be treated by moderate administration of α -Toc at a dose of 600 mg.kg⁻¹, while a high intake of α -Toc 1200 mg.kg⁻¹ has a pro-oxidant effect.

Key words: *α Tocopherol- Antioxidant enzymes- Oxidative stress- Prooxidant effect- Rats- Rein- Sunflower oil.*

ABSTRACT

Résumé :

Le présent travail consiste à évaluer les effets de l'ingestion de 5% d'huile de tournesol oxydée pendant 46 heures à 98°C avec insufflation d'air, supplémenté ou non en α -Toc à des doses de 600 et 1200 mg.kg⁻¹, sur certains bio-marqueurs enzymatique et non enzymatique du stress oxydatif, le taux de MDA et l'histopathologie rénale chez des rats *Wistar* en croissance.

Les rats ont été répartis en quatre groupes : un groupe témoin recevant de l'huile de tournesol fraîche (*FSO*) et trois groupes recevant différents régimes : le premier (5% de d'huile de tournesol oxydé *OSO*), le seconde (5% d'huile de tournesol oxydée et 600 mg.kg⁻¹ d' α -Toc *OSE1*) et le troisième (5% d'huile de tournesol oxydée avec 1200 mg.kg⁻¹ d' α -Toc *OSE2*). Les rats ont été sacrifiés après 12 semaines. Les principaux résultats obtenus indiquent que l'huile oxydée contient **232** mmol/kg d'hydro-péroxydes, **2,8** de produits secondaires (dicétones éthyléniques), **71,7%** de glycérides polaires et **43,3%** d'esters polaires avec une réduction de **40%** d'acide linoléique par rapport à l'huile fraîche. Bien que l'huile soit oxydée, elle reste tolérée par l'animal, mais elle entraîne une diminution presque d'un quart de la croissance pondérale.

De plus, nos résultats montrent une augmentation significative des LPO ($p = 0,0001$), accompagnée d'une diminution significative des activités enzymatiques antioxydantes, du poids corporel et des taux d' α -Toc, qui expliquent clairement le mécanisme de la néphrotoxicité induite par l'huile de tournesol oxydée. La supplémentation en huile de tournesol oxydée avec 600 mg.kg⁻¹ d' α -Toc (*OSO*) normalise l'effet délétère du stress oxydatif par un retour au poids corporel normal et des valeurs de LPO similaires à celles des rats du groupe témoin. Par ailleurs, une augmentation significative d' α -Toc et de l'activité antioxydante rénale comparable au groupe témoin avec une réduction significative de la concentration des LPO. Toutes fois, l'administration d'une dose plus élevée d' α -Toc (1200 mg.kg⁻¹) induit une élévation significative des LPO ($p = 0,0001$), suivie d'une déplétion significative du statut antioxydant et des taux d' α -Toc. Les sections des tissus rénaux de ces groupes ont révélé des changements dégénératifs dans les glomérules, les tubules rénaux, congestion des vaisseaux sanguins avec infiltration des cellules inflammatoires sévères et plus d'œdèmes.

Ainsi, cette étude suggère qu'une huile oxydée (*OSO*) conduit à un stress oxydatif qui peut être traité par une administration modérée d' α -Toc à une dose de **600 mg.kg⁻¹**, tandis qu'un apport élevé de **1200 mg.kg⁻¹** présente un effet pro-oxydant.

Mots clé : *α Tocophérol- Enzymes antioxydantes - Effet pro-oxydant- Huile de tournesol -*

Rats- Rein- Stress oxydatif

ملخص

يتحدث هذا العمل عن تقييم تأثيرات ابتلاع 5% من زيت عباد الشمس المؤكسد لمدة 46 ساعة عند درجة حرارة 98 مئوية مع نفخ الهواء و جرعة 600 و 1200 مغ/كغ¹ من ألفا توكوفيرول ، على بعض المؤشرات الحيوية الأنزيمية و غير الأنزيمية للإجهاد التأكسدي و مستوى MDA و التثريح الكلوي في نمو الفئران .

تم تقسيم الفئران إلى أربعة مجموعات: مجموعة مراقبة تتلقى زيت عباد الشمس الطازج (FSO) وثلاث مجموعات تتلقى وجبات مختلفة : الأول (5% من عباد الشمس المؤكسد) والثاني (5% من عباد الشمس المؤكسد و600مغ من α -Toc) و الثالث (5% من عباد الشمس المؤكسد و1200مغ من α -Toc). تمت التضحية بالفئران بعد 12 أسبوعاً و النتائج الرئيسية التي تم الحصول عليها تشير إلى أن الزيت المؤكسد تحتوي على 232 ملي مول لكل كيلوغرام من هيدرو بيروكسيدات ، 2.8 من المنتجات الثانوية (ديكينونز إيثيلينيك) ، 71.7% من الغليسريد القطبية و 43.3% من الإسترات القطبية مع تخفيض 40% من حمض اللينوليك نسبة إلى زيت طازج على الرغم من تأكسد الزيت ، إلا أنه لا يزال يتحملة الحيوان ، لكنه يقلل من ربع زيادة الوزن تقريباً.

بالإضافة إلى ذلك، تظهر نتائجنا زيادة كبيرة في LPO ($p = 0.0001$)، يرافقه إنخفاض كبير في الأنشطة الأنزيمية المضادة للأكسدة والتي تفسر بوضوح آلية التسمم الكلوي، ووزن النمو، ومستويات α -Toc الناجم عن زيت عباد الشمس المؤكسد.

تعمل مكملات زيت عباد الشمس المؤكسدة و المزودة ب 600 مغ ألفا توكوفيرول (OSE1) على تطبيع التأثير الضار للإجهاد التأكسدي من خلال العودة إلى وزن الجسم الطبيعي وقيم LPO المتشابهة لتلك الخاصة بفئران مجموعة التحكم. علاوة على ذلك ، هناك زيادة معنوية في نسبة ألفا توكوفيرول ونشاط مضادات الأكسدة الكلوية مقارنة بالمجموعة الضابطة. عكس ذلك، فإن إعطاء جرعة أعلى من 1200 مغ/كغ¹ من ألفا توكوفيرول يؤدي إلى زيادة معنوية في نسبة LPO ($p = 0.0001$) متبوعاً باستنفاد كبير في نشاط مضادات الأكسدة ونسبة ألفا توكوفيرول.

كشفت أقسام النسيج الكلوي في هذه المجموعات عن تغيرات تنكسية في الكبيبات ، والنبيبات الكلوية ، وإحتقان الأوعية الدموية مع تسلل الخلايا الإلتهابية الوحيدة والمزيد من الوذمة. وبالتالي، تشير هذه الدراسة إلى أن الزيت المؤكسد OSO تؤدي إلى إجهاد تأكسدي يمكن معالجته عن طريق إعطاء معتدل لجرعة 600مغ/كغ¹ ألفا توكوفيرول، في حين أن تناول كمية أكبر بنسبة 1200 مغ/كغ¹ له تأثير مؤيد للأكسدة.

كلمات مفتاح

زيت عباد الشمس- الإجهاد التأكسدي- فئران- كلى-ألفا توكوفيرول- مضادات الأكسدة- تأثير للموالية للأكسدة

SOMMAIRE

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I. LES LIPIDES ALIMENTAIRES.....	4
I.1. GENERALITES.....	4
I.1.1. Définition.....	4
I.1.2. Structure et classification des acides gras.....	4
I.1.3. Rôle structural.....	5
I.1.4. Rôle énergétique.....	6
I.1.5. Rôle nutritionnel.....	6
I.1.5. Rôle fonctionnel et métabolique.....	7
I.1.6. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés (AGPI).....	7
I.1.7. Source des AGPI.....	9
I.1.8. Apports nutritionnels conseillés en AGPI.....	10
I.1.9. Digestion des lipides.....	11
I.1.10. Absorption des lipides au niveau des entérocytes.....	12
II. STRESS OXYDANT.....	14
II.1. Paradoxe de l'oxygène.....	14
II.2. Définition du stress oxydant.....	15
II.3. Radical libre.....	15
II.4. Espèces réactives d'oxygènes (ERO).....	16
II.4.1. Principales formes des ERO.....	16
II.4.1.1. ERO radicalaires.....	19

<i>II.4.1.2. ERO non radicalaires.....</i>	<i>20</i>
<i>II.4.2. Aspects physicochimiques des ERO.....</i>	<i>22</i>
<i>II.4.3. Localisation des formes réactives oxygénées.....</i>	<i>22</i>
<i>II.4.4. Sources des ERO.....</i>	<i>23</i>
<i>II.4.5. Effets des ERO.....</i>	<i>26</i>
<i>II.5. Défense antioxydante.....</i>	<i>27</i>
<i>II.6. Classification des antioxydants.....</i>	<i>28</i>
 III. RUPTURE DE LA BALANCE ANTIOXYDANT /PROOXYDANT	
<i>III.1. Facteurs contribuant à augmenter le stress oxydant.....</i>	<i>30</i>
<i>III.2. Alimentation déséquilibrée.....</i>	<i>30</i>
<i>III.3. Dommages créés aux biomolécules par le stress oxydant.....</i>	<i>31</i>
 IV. Marqueurs biologiques du stress oxydant.....	
<i>IV.1. Biomarqueurs des dommages oxydatifs.....</i>	<i>35</i>
<i>IV.2. Biomarqueurs du système de défense antioxydant.....</i>	<i>36</i>
<i>IV.3. Capacité antioxydante globale.....</i>	<i>39</i>
 V. STRESS OXYDANT ET PATHOLOGIES HUMAINES	
<i>V.1. Stress oxydant et maladies cardiovasculaires.....</i>	<i>40</i>
<i>V.1.1. Insuffisance cardiaque.....</i>	<i>43</i>
<i>V.1.2. Ischémie et reperfusion.....</i>	<i>44</i>
<i>V.1.3. Diabète.....</i>	<i>45</i>
<i>V.1.4. Insuffisance rénale.....</i>	<i>46</i>
<i>V.1.5. Vieillesse.....</i>	<i>46</i>

<i>V.1.6. Cancer</i>	47
<i>V.1.7. Maladie de Parkinson (MP)</i>	48
<i>V.1.8. Maladie d'Alzheimer</i>	49
<i>V.1.9. Obésité</i>	
<i>V.1.10. Fertilité masculine</i>	
 VI. MAINTIEN DE LA BALANCE ANTIOXYDANT/PRO OXYDANT	
<i>VI.1. Système antioxydant enzymatique endogène</i>	50
<i>VI.1.1. Superoxyde dismutase</i>	50
<i>VI.1.2. Glutathion peroxydase</i>	50
<i>VI.1.3. Catalase (Cat</i>	51
<i>VI.1.4. Glutathion réductase (GR</i>	51
<i>VI.2. Systèmes antioxydant non enzymatique endogène</i>	52
<i>VI.2.1. Glutathion</i>	52
<i>VI.2.2. Vitamines</i>	53
<i>VI.2.3. Oligoéléments</i>	54
<i>VI. Vit E</i>	58
<i>VI.1. Définition et structure</i>	58
<i>VI.2. Principales sources et besoin physiologique</i>	58
<i>VI.3. Rôle biologique</i>	59
<i>VI.4. Interactions entre la vitamine E et certains antioxydants</i>	60
<i>VII. Lutte contre le stress oxydant</i>	62
<i>VII.1. Prévention nutritionnelle</i>	63

<i>VII.1.1. Micronutriments</i>	63
<i>VII.1.2. Micro-constituants antioxydants</i>	65
 <i>Chapitre II : Matériels et méthodes</i>	
<i>I. MATERIELS</i>	66
<i>I.1. Animaux et régimes alimentaires</i>	66
<i>I.2. Réactifs et appareillages</i>	69
<i>I.2.1. Réactifs</i>	69
<i>I.2.2. Chromatographie en phase gazeuse</i>	69
<i>I.2.3. Chromatographie liquide Haute Performance</i>	69
<i>I.2.4. Chromatographie d'adsorption</i>	70
<i>II. METHODES</i>	71
<i>II.1. Dégradation de l'huile</i>	71
<i>II.2. ETUDE DE L'HUILE OXYDEE</i>	72
<i>II.2.1. Evaluation de l'altération globale</i>	72
<i>II.2.2. Dosage des produits polaires</i>	72
<i>II.3. Etude du tissu rénal</i>	72
<i>II.3.1. Préparation de l'homogénat</i>	72
<i>II.3.2. Dosage des protéines</i>	73
<i>II.3.3. Détermination de la peroxydation lipidique (LPO) par le taux du malondialdéhyde (MDA) au niveau tissulaire</i>	73
<i>II.3.4. Dosage de la concentration en α-Tocophérol</i>	75
<i>II.3.5. Dosage des activités enzymatiques anti oxydantes</i>	75
<i>II.3.5.1. Dosage de la catalase</i>	75

<i>II.3.5.2. Dosage de l'activité de la Superoxyde dismutase (SOD).....</i>	<i>76</i>
<i>II.3.5.3. Dosage de la Glutathionne peroxydase (GPx).....</i>	<i>76</i>
<i>II.3.5.4. Dosage de la glutathionne réductase (GR).....</i>	<i>77</i>
<i>II.3.5.5. Dosage de la glucose 6 phospho-déshydrogénase (G6PDH).....</i>	<i>77</i>
<i>III. Analyse statistique.....</i>	<i>80</i>

Chapitre III :RESULTATS ET DISCUSSION

<i>III.1. ETUDE DE L'HUILE DE TOURNESOL THERMO-OXYDEE.....</i>	<i>81</i>
<i>III.1.1. Choix de la méthode de dosage.....</i>	<i>81</i>
<i>III.1.2. Altération de l'huile de tournesol.....</i>	<i>81</i>
<i>III.1.2.1. Formation de mousses et viscosité.....</i>	<i>82</i>
<i>III.1.2.2. Goût et odeur.....</i>	<i>83</i>
<i>III.1.2.3. Coloration.....</i>	<i>83</i>
<i>III.1.2.4. Acidité.....</i>	<i>84</i>
<i>III.1.2.5. Taux d'α-Tocophérol.....</i>	<i>84</i>
<i>III.1.2.6. Indice d'iode.....</i>	<i>84</i>
<i>III.1.2.7. Indice de peroxyde (IP).....</i>	<i>85</i>
<i>III.1.3. Etude du profil en acides gras.....</i>	<i>87</i>
<i>III.1.4. Etude des produits secondaires de l'oxydation.....</i>	<i>90</i>
<i>III.2. EFFETS DE L'OXYDATION SUR CERTAINS PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES.....</i>	<i>93</i>
<i>III.2.1. Croissance pondérale.....</i>	<i>93</i>
<i>III.2.2. Poids rénal.....</i>	<i>97</i>
<i>III.2.3. Peroxydes lipidiques et le système antioxydant enzymatique et</i>	

non enzymatique.....99

III.3. EFFET D'UNE SUPPLEMENTATION A 600 mg D' α -TOC/Kg D'ALIMENT SUR :

III.3.1. Les lipo-peroxydes et le taux d' α -Toc rénal.....113

III.3.2. Activités enzymatiques antioxydantes.....117

III.4. EFFET D'UNE SUPPLEMENTATION A 1200MG D' α -TOC/Kg D'ALIMENT SUR :

III.4.1. Le taux d' α -Toc et biomarqueurs du stress.....119

III.5. ETUDE HISTOLOGIQUE DES CELLULES RENALES.....122

III.5.1. EFFET DE L'HUILE THERMO-OXYDEE.....123

III.5.2. Effet d'une supplémentation à 600 mg d' α -Toc/kg d'aliments.....126

III.5.3. Effet d'une supplémentation à 1200 mg d' α -Toc/kg d'aliments.....128

CONCLUSION.....130

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Introduction

Pour son bon fonctionnement, l'organisme a un besoin en lipides qui constituent presque la moitié du cerveau humain. En plus de leur rôle énergétique, ils représentent une source d'acides gras essentiels (AGE) et de vitamines liposolubles. Certains acides gras polyinsaturés essentiels (AGPI) jouent un rôle de précurseurs d'écicosainoïdes notamment, l'acide arachidonique qui agit comme second messenger activateur de la Protéine Kinase C, régulatrice des fonctions cellulaires (**Nishizuka,1988**).

D'autre part, les acides gras à longue chaîne (AGLC) régulent l'expression génique de certains facteurs de transcription tels que le Peroxisome Proliferator Activated Receptor (PPAR) (**Niot et al.,2009**), qui participe à la régulation des gènes du métabolisme lipidique ou de la β -oxydation dans le foie (**Poulsen et al.,2012**). En outre, l'acide α -linoléique (ALA), l'acide docosahexaénoïque (DHA), et l'acide eicosapentaénoïque (EPA) ont un effet inhibiteur sur la croissance des tumeurs mammaires et des métastases, suite à leurs effets apoptotiques (**Calviello et al.,1998**).

En effet, l'huile de tournesol est largement utilisée comme source d'acide linoléique et pour la préparation de nombreux régimes de base. Néanmoins, en raison de sa forte teneur en acides gras polyinsaturés, elle est susceptible à la peroxydation, et par conséquent les radicaux libres peuvent être formés en grandes quantités (**Mei et al.,2014**).

La lipoperoxydation est indispensable à l'organisme, c'est un enchainement de réactions radicalaires entre les AGPI et l'oxygène pour donner des espèces réactives oxygénées (ERO). Dans les conditions physiologiques, ces espèces réactives participent à divers processus vitaux tels que la transduction de signaux cellulaires, la régulation des gènes, le fonctionnement de certaines enzymes, la défense immunitaire contre les agents pathogènes et la destruction par apoptose de certaines cellules tumorales. Cependant, une surproduction de ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) et /ou un déficit du système de défense antioxydant, entraînent une rupture de l'équilibre de la balance pro-oxydant/anti-oxydant appelé « *stress oxydant* » (**Mutlu-Türkoğlu et al.,2003 ; Sies et Jones,2007 ; Bailey et al., 2010**).

Lorsque l'excès des ERO au niveau cellulaire n'est plus contrôlé, ceci engendre de nombreux dommages souvent irréversibles, principalement au niveau génomique, protéique et

lipidique (**Gutteridg, 1992**) dont le cumul au fil du temps, se traduit par l'apparition de plusieurs situations pathologiques (**Kanazawa et al., 2002 ; Tirkey et al., 2005 ; Beevi et al., 2010**).

An niveau membranaire, l'accumulation des espèces réactives provoquent une peroxydation lipidique des phospholipides qui altère leur fluidité et les activités de différentes enzymes mitochondriales, entraînant ainsi une diminution de l'énergie intracellulaire, une nécrose cellulaire et une défaillance des organes (**Yazar et al., 2004**).

D'un point de vue physiologique, le rein est particulièrement sensible à l'action des toxines, en raison de son intense activité métabolique et de ses multiples fonctions, notamment celles d'excrétion et de concentration des xénobiotiques (**Sunderman et al., 2001**).

Dans ce sens, les travaux de recherche de **Krajcovicova et al., (2012)** et **Wang et al., (2015)** ont démontré que le stress oxydatif est impliqué dans la néphrotoxicité, à travers les dommages de l'ADN qui obstruent la structure et la fonction principale des cellules, ce qui contribue à plusieurs troubles dégénératifs de la physiopathologie des maladies rénales.

Selon **Yazar et al., (2004)** et **Li et al., (2015)**, le stress oxydatif constitue un déséquilibre dans la production et l'élimination des espèces réactives de l'oxygène, qui sont des médiateurs clés de la défaillance multi-viscérale et de la mortalité induite par les endotoxines.

Par ailleurs, pour maintenir l'équilibre antioxydant-prooxydant, l'organisme est protégé contre le stress oxydatif par un système antioxydant complexe (**Buettner et Schafer, 2000 Dhalla et al., 2002**). Ce système de défense antioxydant consiste en un réseau enzymatique et non enzymatique aussi bien endogène qu'exogène, agissant synergiquement (**Masella et al., 2005**). Ainsi, la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) sont les principales enzymes antioxydantes qui agissent comme première barrière de défense pour neutraliser les résidus oxydants (**Mohammad, 2013**).

L'antioxydant non enzymatique en particulier, la vit E est une vitamine liposoluble majeure. Elle se présente sous plusieurs formes naturelles (α , β , γ et δ). La forme α est considérée comme la plus active biologiquement et d'une importance cruciale dans la protection des molécules lipophiles en raison de son radical stable et de ses propriétés moléculaires (**Halliwell, 1993**).

L' α -tocophérol est très efficace contre l'élimination des radicaux libres issus de la lipo- peroxydation (**Vargas et al., 2014**) et est reconnu comme puissant bris de chaîne, empêchant la

formation de produits d'oxydation toxiques notamment, ceux formés à partir des acides gras insaturés au niveau des membranes (**Estakhri et al., 2013**) et des lipoprotéines (**Subasre, 2014**).

En outre, plusieurs études ont rapporté l'effet potentiel de la Vit E sur les activités des enzymes antioxydantes et le taux des LPO (**Ammouche et al., 2002 ; Kiron et al., 2004**) chez l'homme et plusieurs espèces animales.

In vitro, la capacité de l' α -tocophérol à agir comme pro-oxydant et à augmenter la peroxydation des lipides est bien connue (**Bowry et Ingold, 1992**). En effet, l'étude de **Mukai (1993)** sur les suspensions micellaires et celle de **Thomas et al., (1996)** sur les LDL isolées, ont montré un effet pro-oxydant de fortes doses d' α -tocophérol. Cette activité pro-oxydante est expliquée par la réaction du radical tocophéroxyl avec des acides gras polyinsaturés des LDL ou des radicaux pyroxyles, qui entraînent une accumulation des hydroperoxydes et des diènes conjugués (**Mukai, 1993**). De plus, **Miller et al., (2005)** ont souligné à travers une méta-analyse, une relation dose-dépendante entre la supplémentation en vitamine E et la mortalité.

In vivo, très peu d'études ont porté sur le potentiel pro-oxydant de doses élevées en α -tocophérol. C'est dans cette optique que s'inscrit ce travail, qui a pour objectif de démontrer l'effet antioxydant et pro-oxydant de l' α -Toc à des doses de 600 et 1200 mg/kg d'aliments respectivement, chez des rats recevant un régime à base d'huile de tournesol oxydée après une durée de 12 semaines sur :

- ✓ Les paramètres physiologiques (poids corporel et poids rénal) ;
- ✓ Certains paramètres du stress oxydant tels que (dosage des TBARS) ;
- ✓ Quelques bio-marqueurs du stress notamment, le dosage de la SOD, la CAT, la GPx, la GR, la G 6-PDH et le taux de vit E ;
- ✓ La structure histologique du rein.

Notre travail sera réparti en deux sections :

1- Une synthèse bibliographique : dans un premier chapitre, nous présenterons des généralités sur les lipides, la notion des espèces réactives d'oxygène, le stress oxydant, les systèmes de défense antioxydante, et les cibles du stress oxydant, les bio-marqueurs du stress et les pathologies liées au stress oxydant. Dans le second chapitre, nous aborderons la notion de la vit E, son rôle physiologique dans l'organisme et son interaction avec d'autres vitamines. Enfin, le dernier chapitre sera consacré à l'effet pro-oxydant de la vit E.

2- La partie expérimentale : elle comporte deux volets, dans le premier (matériel et méthodes) nous décrirons les méthodes utilisées et la préparation des échantillons. Le deuxième volet exposera les résultats obtenus et la discussion à travers le dosage des paramètres du stress oxydant, certains bio-marqueurs du stress et l'étude histologique rénale. Enfin, nous discuterons l'ensemble des résultats obtenus dans cette étude, et on proposera quelques perspectives futures à ce travail de recherche.

I. LES LIPIDES ALIMENTAIRES

I.1. GENERALITES

I.1.1. Définition

Les lipides correspondent aux corps gras liquides ou solides, ils se caractérisent par leur solubilité. Les lipides simples (homo-lipides) sont des composés ternaires formés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ce sont des composés à solubilité nulle ou faible dans l'eau, mais élevée dans les solvants organiques non polaires (méthanol, chloroforme, acétone, etc) (**Anthea et al.,1993**).

Les lipides sont constitués principalement de TAG, de cholestérol, d'alcools gras libres ou estérifiés, des AG et de quelques composés mineurs. Les TAG sont des lipides neutres de tri-esters de glycérol et d'AG ; ils représentent 98% de l'huile végétale raffinée et résultent de l'union de trois AG au glycérol. Les composés mineurs intègrent les mono et di-acylglycérol, AGL, PL, stérols et les vitamines liposolubles (**Strayer,2006**).

I.1.2. Structure et classification des AG

Selon la classification de **Hennen (1995)**, les lipides sont classés en six groupes : les triglycérides, les glycéro-phospholipides, les sphingolipides, les terpénoïdes, les stérols, les stéroïdes et les AG. Les AG sont des acides carboxyliques à chaînes aliphatiques hydrophobes saturés ou non. Ils sont composés d'une chaîne linéaire carbonée allant de 4 à 28 carbones portant une extrémité méthyle (CH₃) et une extrémité carboxyle (-COOH) (**Guesnet et al.,2005**).

Les AG sont classés en fonction de différents critères :

- La longueur de la chaîne carbonée : on distingue les AG à chaîne courte (moins de 8 carbones), à chaîne moyenne (entre 8 et 14 carbones) et à chaîne longue (plus de 14 carbones).
- La position de la double liaison sur la chaîne carbonée : on note ainsi, 3 classes d'AG : les AGS saturés (AGS), les Acides Gras Mono-Insaturés (AGMI) possédant une insaturation, les Acides Gras Poly-Insaturés (AGPI) avec au moins 2 insaturations (**figure1**).
- La configuration des doubles liaisons : les AGI naturels sont majoritairement sous forme « cis ». La nomenclature biochimique est comme suit : **C_x : y n-z** ou

X = Nombre de carbones

Y = Nombre de double liaison

$n-z$ = Correspond à la position de la première double liaison à partir de l'extrémité méthyle (**Frénot et Vierling, 2001**).

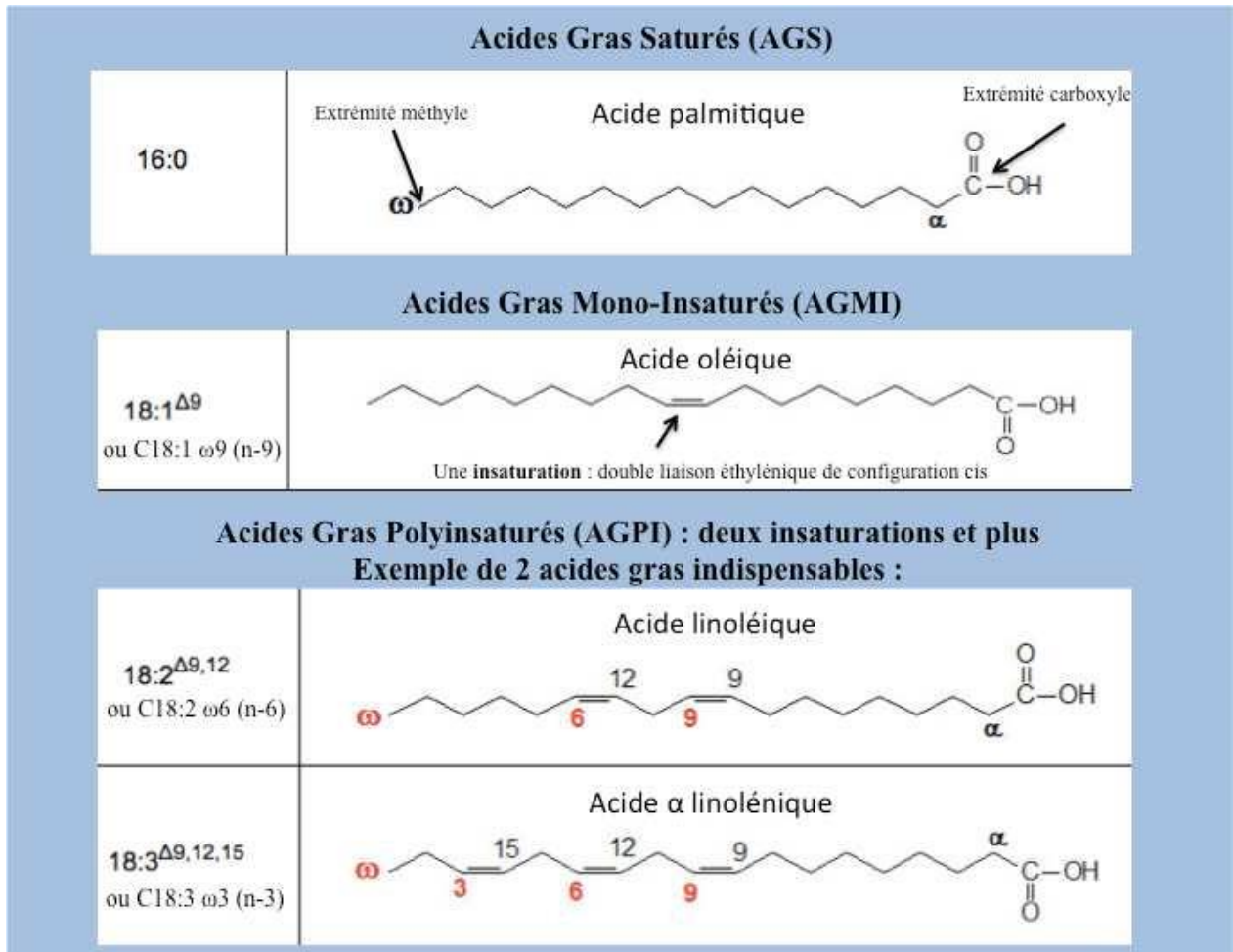


Figure 1 : Principales classes des acides gras (Structure et nomenclature) (Guesnet et al., 2005).

1.1.3. Rôle structural

Les membranes cellulaires sont constituées d'une double couche phospholipidique. Les AGPI essentiels, LA (C18 :2 n-6), AA (C20 :4 n-6), DHA (C22 :6 n-3) et les acides gras mono-insaturés tel que l'acide oléique (OLAC 18 :1 n-9), en sont les constituants fondamentaux. Les acides gras insaturés permettent la fluidité membranaire et régulent l'activité des protéines, des enzymes, des récepteurs, des transporteurs, des canaux et des membranes plasmiques (**Piyyeyre,**

2013). Les acides gras saturés en association avec le cholestérol dans les cellules animales ou les ergostérol dans les cellules végétales, favorisent la formation de zones rigides telles que les radeaux lipidiques (lipids rafts) et les cavéoles, qui régulent l'activité des protéines membranaires (**Pike et al.,2005**).

D'après **Otten et al., (1997)**, le régime alimentaire détermine la distribution des phospholipides membranaires. En effet, lorsque les phospholipides sont saturés, la membrane cellulaire est rigide et lorsque le taux de cholestérol est élevé, la fluidité de la membrane diminue en parallèle (**Pike et al.,2005**).

1.1.4. Rôle énergétique

Les lipides sont une source d'énergie importante puisqu'ils ont la plus forte densité énergétique (9 kcal/g). Ils constituent une réserve d'énergie stockée sous forme de TG au niveau du tissu adipeux. C'est la réserve la plus importante et de disponible en cas de jeûne ou effort prolongé. En effet, le glycogène peut alimenter environ une journée de dépense énergétique, alors que les lipides stockés au niveau du tissu adipeux peuvent alimenter leurs demande en énergie (**Nakamura et al., 2014**). Parmi les AG, ce sont principalement les AG saturés suivi par les AGMI qui assurent ce rôle énergétique, alors que les AGPI favorisent plutôt la lipolyse (**Pivgevre,2013**).

1.1.5. Rôle nutritionnel

Leur premier rôle est d'apporter des AG indispensables, tels que l'AG linoléique (C18 : 2 n-6) et linoléique (C18 : 3 n-3). Ces deux AG sont les chefs des fils des séries d'AGPI dites $\omega 6$ et $\omega 3$. Ils jouent un rôle fondamental dans diverses fonctions cellulaires, que ce soit au niveau structural en tant que composant essentiel des membranes ou comme précurseurs de médiateurs lipidiques (hormones, prostaglandines, etc.) ou encore régulateur de certains gènes par liaison des récepteurs nucléaires. Cependant, un déséquilibre d'apport peut être à l'origine d'un retard de croissance pondérale et squelettique avec un défaut de calcification de l'os, alors que leur absence peut aller d'un simple désordre métabolique à des symptômes biologiques plus graves. Néanmoins, les lipides sont peu satiétogènes comparés aux protéines et aux glucides ; ces

caractéristiques expliquent leur rôle dans le développement rapide de l'obésité et de ses maladies associées (Dewit *et al.*, 2011).

De plus, les lipides constituent un véhicule des vitamines liposolubles (A, D, E et K) et d'autres micronutriments tels que les caroténoïdes (Pigeyre, 2013).

1.1.5. Rôle fonctionnel et métabolique

Les acides gras polyinsaturés sont des régulateurs de la transduction d'un stimulus cellulaire. Ainsi, l'acide arachidonique peut agir comme second messenger activateur de la PKC régulatrice des fonctions cellulaires (Nishizuka, 1988).

De plus, les AGLC peuvent réguler l'expression génique à travers des facteurs de transcription tels que le PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Receptor) et la régulation des gènes du métabolisme lipidique, notamment la β -oxydation hépatique. D'autres récepteurs comme LXR (Liver X Receptor) sont impliqués dans la lipogénèse, mais ils ont comme antagonistes des AGPI qui bloquent leur activation de manière compétitive. Certains acides gras polyinsaturés, jouent un rôle de précurseurs des eicosanoïdes notamment, les prostaglandines, les leucotriènes, les thromboxanes et les prostacyclines et l'acide arachidonique reste le principal précurseur des eicosanoïdes.

Par ailleurs, l'action de la phospholipase A2 sur un phospholipide membranaire, libère un acide gras et un lysophospholipide et la transformation en produit actif est assurée par les oxygénases. Quant aux cyclooxygénases, elles forment les prostanoïdes telles que les (prostaglandines, prostacyclines et thromboxanes) tandis que les lipoxygénases produisent les leucotriènes. Les composés de ces précurseurs sont impliqués dans l'inflammation, la cicatrisation, la coagulation et les réponses immunitaires (Pigeyre, 2013).

1.1.6. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés (AGPI)

L'acide linoléique (LA, 18 : 2 n-6) et l'acide α -linoléique (ALA, 18 : 3 n-3) ne peuvent être synthétisés à partir de l'acide oléique (18 : 1 n-9) chez les mammifères, suite à l'absence des désaturases ($\Delta 12$ et $\Delta 15$) et doivent être obligatoirement apportés par l'alimentation. Une fois absorbés, ces précurseurs conduisent à la synthèse spécifique d'AGPI à longue chaîne (AGPI-LC) au niveau hépatique. Dans le réticulum endoplasmique (RE), ces précurseurs subissent une série de désaturations et d'élongations successives à partir de leur extrémité carboxyle, permettant ainsi, la synthèse des acides arachidonique (AA, 20 : 4n-6) et eicosa-pentaénoïque (EPA, 20 : 5 n-3).

D'autre part, la synthèse des acides docosa-pentaénoïque (DPA, 22 :5 n-6) et docosa-hexaénoïque (DHA, 22 :6 n-3) est réalisée dans les peroxyosomes par la β -oxydation partielle d'AGPI à 24 carbones (Moore *et al.*,1995 ; Sprecher, 2002 ; Burdge et Calder, 2005).

Par ailleurs, l'âge de l'organisme et la qualité alimentaire déterminent le potentiel enzymatique. En effet, en cas d'apport alimentaire équilibré, la voie de synthèse de la famille des AGPI $\omega 6$ s'arrête au niveau de l'AA, mais lors d'une déficience en AGPI $\omega 3$, le processus de synthèse se poursuit jusqu'à la production de l'acide docosapentaénoïque (DPA $\omega 6$), qui va compenser totalement la diminution de l'acide docosa-hexaénoïque (DHA $\omega 6$) ceci est considéré comme un indice d'une carence en AGPI $\omega 3$. Les désaturases ($\Delta 5$ et $\Delta 6$) utilisées étant communes aux 2 voies de conversion, il existe une compétition métabolique entre les familles $\omega 6$ et $\omega 3$ (figure 2). De ce fait, la quantité de dérivés synthétisés est fortement influencée par les apports alimentaires en précurseurs, notamment par le rapport *LA (C18 :2) /ALA (C18 :3)*. Toutefois, les AGPI-LC peuvent également être apportés directement par l'alimentation (Legrand, 2004 ; Guesnet *et al.*,2005).

En outre, l'acide arachidonique (C20 :4 $\omega 6$) est le composé le plus actif de la famille des $\omega 6$; il permet la biosynthèse et l'activation des eicosanoïdes comme les (prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes et lipoxines). Par contre, les membres les plus actifs des AGPI de la famille $\omega 3$, sont les acides docosa-hexaénoïque (DHA : C22 : 6 $\omega 3$) et l'eicosa-pentaénoïque (EPA : C20 :5 $\omega 3$). En effet, le DHA est un composant de la membrane phospholipidique de la plupart des cellules, particulièrement la rétine, le cerveau et les spermatozoïdes, alors que l'EPA joue un rôle important dans l'action des différents métabolites des voies des cyclo-oxygénase et les lipoxygénase (Legrand, 2007).

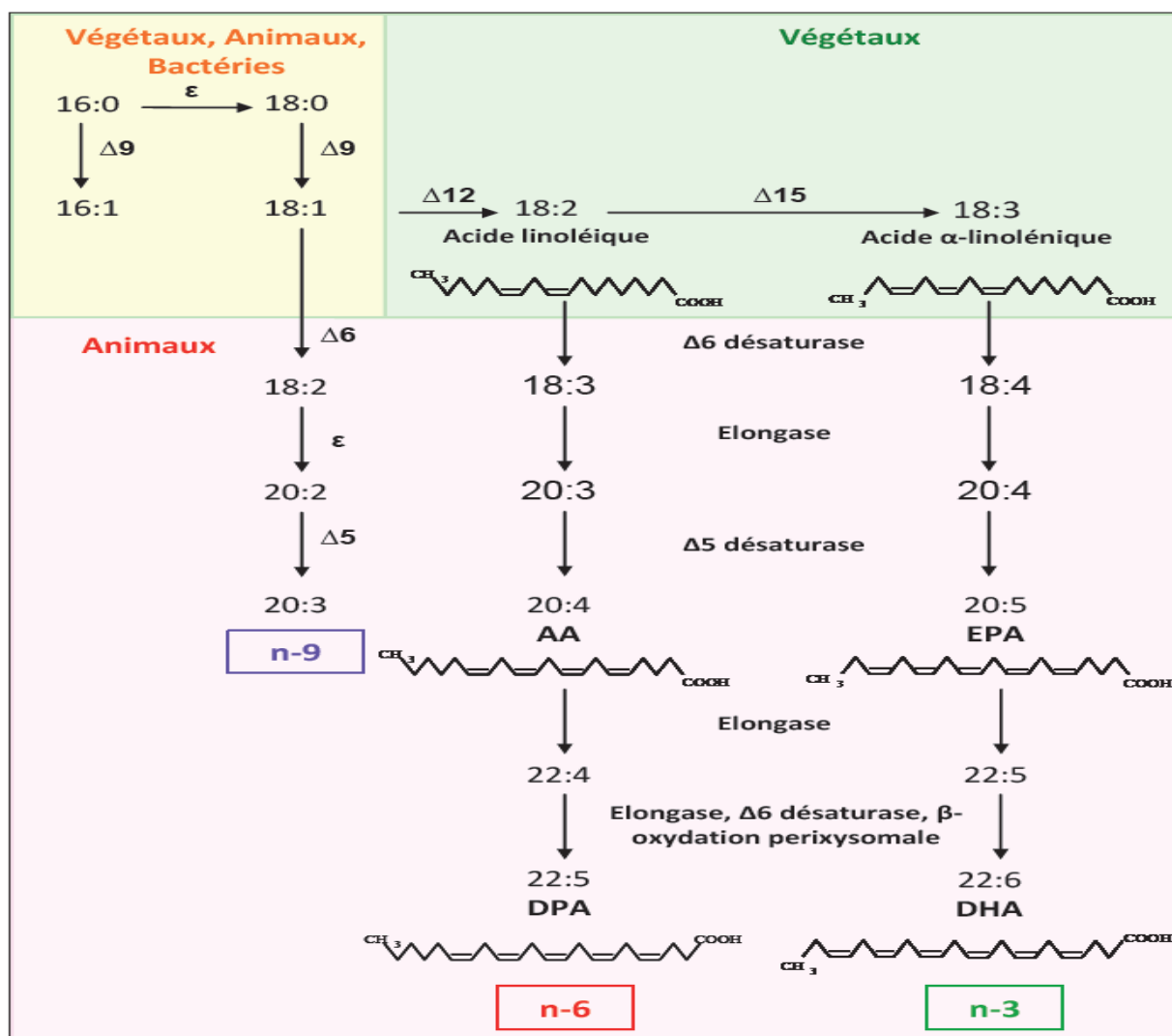


Figure 2 : Voie de bioconversion des principales familles d'acides gras polyinsaturés (Legrand, 2007).

1.1.7. Source des AGPI

Les $\omega 6$ dérivent de l'acide linoléique (LA, 18 :2, n-6) et proviennent essentiellement des huiles végétales tels que (le maïs, les noix, le lin et le tournesol) qui en contiennent entre 50 à 70%. Quant aux $\omega 3$ dérivant de l'acide α -linoléique (C18 :3, n-3), ils sont contenus essentiellement dans les huiles de (colza, noix, soja et lin), où ils représentent en moyenne 7 à 14 % des AG totaux (Combe Boué-Vayesse, 2004). Les AGPI à longue chaîne $\omega 6$ sont apportés par la viande, les abats et les œufs, tandis que les dérivés à longue chaîne de la famille des $\omega 3$ tels que l'EPA et le DHA sont abondants dans les produits marins comme le (poisson gras, saumon, thon et le maquereau) (Legrand, 2004).

1.1.8. Apports nutritionnels conseillés en AGPI

Chez l'adulte, l'apport lipidique est fixé entre **35** et **40%**, dont des recommandations particulières ont été établies en fonction des différents types d'acides gras concernés. Pour l'acide linoléique, les apports nutritionnels conseillés (ANC) sont fixés à **4%** des apports énergétiques (soit 10g/jour chez l'homme et 8g/jour chez la femme). Pour l'acide α -linoléique, l'apport est fixé à **1 %** des apports énergétiques totaux (soit 2,5 g/jour chez l'homme 2g/jour chez la femme). Par ailleurs, il est important de bien équilibrer les apports en AGPI ω 6 par rapport à ceux des ω 3 pour pallier aux problèmes de concurrence métabolique entre les deux voies de conversion. Ainsi, il est recommandé que le rapport (**LA / ALA**) soit inférieur ou égal à **5**. D'autre part, il est recommandé d'apporter 500mg/jour d'AGPI à longue chaîne de la famille ω 3 dont 250 mg de DHA (**Tableau I**). En effet, le taux de conversion du précurseur ALA en DHA est insuffisant pour satisfaire les besoins de l'organisme. En outre, Il est recommandé que le rapport en AGPI (ω 6/ ω 3) tende vers **5**, pour limiter la compétition enzymatique durant la biosynthèse (**Combe et Boué-Vayesse, 2004**).

Tableau I : Apports Nutritionnels Conseillés (ANC) en acides gras pour un adulte consommant 2000 Kcal (AFFSA,2010).

		Besoin physiologique minimal	Prévention du risque				ANC 2010	
			Syndrome métabolique-diabète-obésité	Pathologies cardiovasculaires	Cancers: sein et côlon	Pathologies neuro-psychiatriques		Autres pathologies
Lipides Totaux		30	30-40	35-40	35-40	35-40	≤ 40	35-40
AG indispensables	Acide linoléique LA, C18:2 n-6	2	2	5	2	2	≤ 4	4
	Acide α-linolénique ALA, C18:3 n-3	0,8	0,8	1	0,8	0,8	0,8	1
	Acide docosahéxaénoïque DHA, C22:5 n-3	250 mg	500 mg	500-750 mg	500 mg	≥ 200-300 mg	500 mg	250 mg
AG non indispensables	Acide Eicosapentaénoïque EPA, C20:5 n-3	/						250 mg
Acide laurique (C12:0)+ Acide myristique (C14:0) + Acide palmitique (C16:0)		/		≤ 8				≤ 8
Acides gras saturés totaux		/		≤ 12	≤ 12			≤ 12
Acide oléique C18:1 n-9		/		≤ 20				15-20

Les valeurs sont exprimées en pourcentage de l'apport énergétique, appelé « Apport Énergétique » (AE), excepté pour le DHA (acide docosa-hexaénoïque, C22 :6 ω3) et l'EPA (acide eicosa-pentaénoïque, C20 :5 ω3) dont les valeurs sont exprimées en milligramme (AFFSA, 2010).

1.1.9. Digestion des lipides

Dans l'alimentation, environ 98% des acides gras sont apportés sous forme estérifiée essentiellement dans les TG, le reste des PL et des esters de cholestérol. La première étape de la digestion est l'hydrolyse des TG en DAG ensuite MG et enfin en AG. La lipase gastrique est activée en milieu acide et en absence des sels biliaires ; elle hydrolyse préférentiellement les TG contenant des AG à chaîne moyenne en position Sn3. Les produits de cette dégradation déclenchent l'activation des sécrétions pancréatiques et biliaires. Les sécrétions biliaires vont émulsifier les produits de l'hydrolyse duodénale sous forme de micelles, tandis que les sécrétions pancréatiques contenant la lipase pancréatique et les PL vont poursuivre l'hydrolyse des lipides. En effet, l'action de la lipase pancréatique est responsable de la majorité de l'activité lipasique,

elle est relarguée dans le duodénum et hydrolyse essentiellement les TG, libérant ainsi, des MG et des AG libres. L'activité de cette lipase nécessite l'action d'une Co-lipase en présence de sels biliaires. Les produits de dégradation sont ensuite associés aux sels biliaires, aux PL et aux stérols pour former des micelles mixtes qui entrent en contact avec la muqueuse intestinale puis absorbées par les entérocytes (**Mu et Hoy, 2004**).

1.1.10. Absorption des lipides au niveau des entérocytes

L'absorption intestinale des lipides passe par trois étapes successives

- Le captage entérocytaire
- Métabolisme intracellulaire
- Synthèse et la sécrétion des chylomicrons

a/- Captage entérocytaire

Les entérocytes possèdent à la surface un environnement acide généré par des pompes à protons, ce qui entraîne une protonation massive des AG dans les micelles conduisant à leur dissociation et à la libération des AG protonés qui sont capturés par diffusion passive (**Kamp et al., 1993**).

Néanmoins, un autre système de captage au niveau entérocytaire a été suggéré, notamment l'existence de *LBP* membranaire (**Lipid Binding Protein**) telles que, la CD36, la cavéoline1 et la FATP4. De plus, la *FABP* est décrite comme un LBP et s'est révélé être une aspartate-amino-transférase dont le rôle physiologique dans le mécanisme d'absorption des lipides n'est pas encore élucidé (**Buttet et al., 2014**).

b/- Métabolisme intracellulaire

Les acides gras une fois transférés vers le RE, ils sont activés en Acyl CoA par une **ACS** avant d'être estérifiés en TG. Dans l'entérocyte, la synthèse des TG peut se faire selon deux voies métaboliques différentes :

- Voie du 2-Mono-acylglycerol spécifique de l'intestin ; voie majoritaire à 80% en période postprandial et ;

- Voie de l' α -glycérophosphate minoritaire (20% de la réestérification totale des TG au niveau intestinal).

La voie du 2 Mono-acylglycérol est sous le contrôle de Mono-acylglycérol-Acyl Transférase (**MGAT**) et le Di-acylglycérol-Acyl Transférase (**DGAT**). La **MGAT** catalyse la 1^{ère} réaction de resynthèse des TG en agissant sur le 2 Mono-glycérol en produisant le 1,2 Di-Glycérol (1,2 DG). Il existe trois isoformes de **MGAT** et seule la **MGAT2** qui est exprimée au niveau du jéjunum (**Cao et Shi, 2003**).

La **DGAT** catalyse la dernière réaction de la synthèse des TG à partir du 1,2 DG et d'un AcylCoA. Il existe deux isoformes de la **DGAT** dont la **DGAT2** est plus exprimée que la **DGAT1**. En effet, la **DGAT1** est plus orientée du côté de la lumière du RE et serait impliquée dans l'estérification des TG utilisés pour la synthèse des chylomicrons, alors que la **DGAT2** est orientée du côté cytoplasmique, conduisant les TG vers le stockage dans les gouttelettes lipidiques antérocytaires (**Niot et al., 2009**).

La fonction des deux isoformes **DGAT** au niveau intestinal est complémentaire et assure l'équilibre entre le stockage d'un pool de TG entérocytaire et la synthèse de lipoprotéines. Cet équilibre participe dans la régulation de la triglycéridémie post prandiale et interprandiale via l'utilisation des TG stockés. De plus, le rôle important de ces gouttelettes est conforté par le fait que leur TG sont sécrétés sous forme de chylomicrons dans les 10 à 30 mn du repas (**Mattes et al., 2002**).

c/- Synthèse et sécrétion des chylomicrons (CM)

En période postprandiale les CM riches en TG sont majoritairement synthétisés puis sécrétés. Elles sont constituées de **85%** de TG, **8%** de PL, **3%** d'esters de cholestérol, **2%** de cholestérol libre et **1%** de protéines. Elles délivrent les TG alimentaires au niveau des tissus utilisateurs tels que (le muscle, le cœur, etc.) ou les tissus de stockage (adipeux), où ils seront stockés. (**Hussain, 2014**).

Les CM contiennent des Apo B48 et d'autres Apolipoprotéines telles que (Apo AI, Apo CII et Apo CIII). Par ailleurs, il est admis que l'assemblage des pré-chylomicrons se déroule en 2 étapes indépendantes (**Cartwright et Higgins, 2001**).

- Production d'une lipoprotéine primaire au niveau du RE rugueux formant des particules de haute densité contenant de l'Apo B48, PL, du cholestérol et une petite quantité de TG transloquées par la Microsomal Triglycéride Transfer Protein (**MTP**).
- Fusion de ces particules avec des gouttelettes riches en TG et en esters de cholestérol pour former des pré-chylomicrons qui vont gagner l'appareil de Golgi, la **MTP** est aussi impliquée dans cette étape.

Une fois dans le Golgi et un ajout d'Apo CII, CIII et Apo AI pour donner des CM, ces dernières sont transportées par la lymphe jusqu'à la circulation générale. Les TG des CM sont dégradés par une lipoprotéine lipase et les AG libérés sont utilisés comme source d'énergie par les tissus périphériques ou mis en réserve (**Mansbach et Siddiqi, 2010**).

II. STRESS OXYDANT

II.1. Paradoxe de l'oxygène

L'oxygène est indispensable aux organismes aérobies pour produire de l'énergie à travers des réactions d'oxydo-réduction, mais les cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques et cette toxicité est due à la forme partiellement réduite (**Meziti, 2007**). L'oxygène a tendance d'accepter $2e^-$ et il passe ainsi de l'état oxydé à l'état réduit. Le processus de réduction de l'oxygène en eau dans la chaîne respiratoire n'est pas parfait, car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives d'oxygène (ERO) particulièrement réactionnelles (**Koppenol, 2001**).

Dans une première étape, le radical libre anion superoxyde est formé, ce qui conduit à la production d'autres espèces réactives comme le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, le radical hydroxyle, l'acide hypochloreux et des dérivés nitrés. De par leur instabilité, les ERO sont toxiques et interagissent avec toutes les substances biologiques ; Des dénaturations de protéines, inactivations d'enzymes, oxydation de glucose, des cassures au niveau de l'ADN avec possibilité de mutation et des processus de peroxydation lipidique peuvent apparaître avec des conséquences irréversibles pour la cellule (**Pincemail et al., 2002**).

II.2. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la

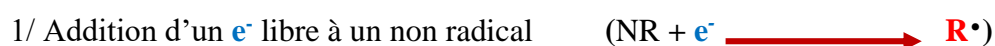
balance « pro-oxydants/antioxydants » en faveur des oxydants, ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines à travers l'altération des récepteurs et les enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation. Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants (**Sergent *et al.*, 2000**).

Dans les circonstances quotidiennes normales, les radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense et dans ce cas, la balance (antioxydante /prooxydant) est en équilibre. La perturbation de courte ou longue durée de l'équilibre endogène entre les radicaux libres et les antioxydants, est due à une défense antioxydante défaillante ou à un état pro- oxydant accru nommé « *stress oxydant* » (**Favier, 2003**).

II.3. Radical libre

C'est un atome, molécule ou fragment de molécules capable d'exister sous forme indépendante contenant au moins un e^- célibataire sur sa couche externe, ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre e^- pour atteindre la stabilité (**Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003b ; Finaud, 2006**).

Les radicaux libres peuvent se former par trois procédés :



Un radical libre peut arracher un électron (se comporter comme un oxydant), ou céder un (agissant comme un réducteur), bien que le terme radical soit souvent assimilé à une espèce réactive ou un oxydant. En effet, l' O_2 est une molécule bi- radicalaire formée de deux atomes présentant sur leur orbitale externe deux e^- non appariés. Il est susceptible de capter facilement **1** puis **2** e^- pour être partiellement réduit en (anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$) puis en H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène). Il est ainsi, à l'origine de la formation (d'espèces réactives oxygénées : ROS) (**Koehler-Ramonatxo, 2006**).

La production des RL est largement physiologique, elle est déterminée, dirigée et utile tels que la production d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) pendant la phagocytose, la libération de l'oxyde d'azote (NO) par l'endothélium qui constitue un des mécanismes de régulation du tonus vasculaire en plus de leur rôle dans la signalisation cellulaire. Bien que physiologique, la production de RL peut être accidentelle, potentielle et délétère, comme la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette production radicalaire est dommageable, si elle est prolongée ou incontrôlée dépassant les capacités de neutralisation de l'organisme (Mette,2006). De plus, les RL ont une durée de vie extrêmement courte de nanoseconde à la milliseconde (Koechlin-Ramonatxo,2006).

II.4. Espèces réactives d'oxygènes (ERO)

Lorsque les molécules sont oxydées par l'oxygène, celui-ci est réduit et forme des espèces réactives d'oxygène (ERO) (figure 3), mais dont la réactivité est supérieure à celle de la même molécule d'oxygène présent dans l'air (Garel *et al.*,2007). Il existe majoritairement trois grandes familles d'espèces réactives :

a/- Espèces réactives oxygénée (ERO ou ROS)

Ce sont des molécules qui contiennent de l'oxygène, mais qui sont plus réactives que l' O_2 de l'air. Ces ERO incluent les radicaux libres tels que l'anion super oxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), des composés réactifs oxydants non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet (1O_2) et l'ozone (O_3) (Mac laren,2007).

b/-Espèces réactives azotées (ERN ou RNS)

Ce sont des oxydants dérivés de l'oxyde nitrique (NO_3) ou monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), ils sont appelés (RONS) (Réactive Oxygen and Nitrogen species) au lieu de ROS pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires et non radicalaires (Tableau II) (Mac laren, 2007).

Voies de formation des radicaux libres de l'oxygène

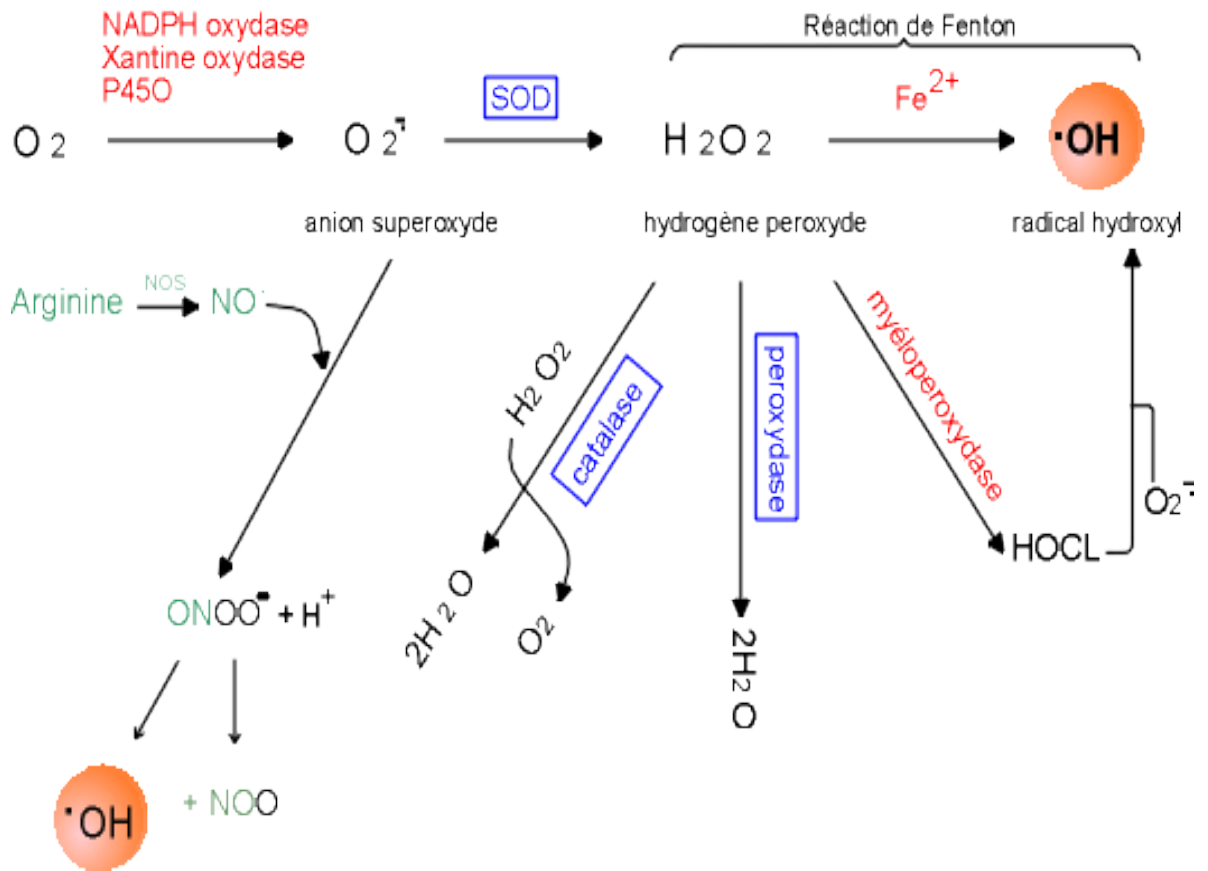


Figure 3 : Voie de formation des radicaux libres de l'oxygène (Garel et al.,2007).

Tableau II : Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques (Mac laren,2007)

Espèces oxygénées actives ERO	Abréviation
Radical (ion, anion) superoxyde	$O_2^{\bullet-}$
Radical hydroperoxyde	HO_2^{\bullet}
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}
Oxygène Singulet	1O_2
Ozone	O_3
<i>Espèces azotées actives EAA</i>	
Oxyde Nitrique ou monoxyde d'azote	NO^{\bullet}
Dioxyde d'azote	NO_2^{\bullet}
Peroxynitrite	$ONOO^-$
Radical peroxyde	RO_2^{\bullet}
Radical alkoxyde	RO^{\bullet}

c/- Espèces soufrées actives (ESA)

Les espèces azotées et soufrées actives sont considérées comme secondaires vis-à-vis des ERO, elles sont produites après une réaction des EOA avec d'autres molécules (**Cai et Harrison, 2000**).

II.4.1. Principales formes des ERO

II.4.1.1. ERO radicalaires

a/- Anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$)

C'est l'espèce la plus couramment générée par la cellule ; l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) peut provenir de plusieurs sources cellulaires. Il est formé après réduction d'une molécule d' O_2 par un électron et en présence d'un cofacteur NADPH. Les différentes enzymes permettant cette réaction sont : la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, les cyclo-oxygénases (COX), les lipo-oxygénases, les oxydes nitriques synthases (NOS), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et celles de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie (**Cai et Harrison, 2000**).

Les anions superoxydes sont indirectement toxiques en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le monoxyde d'azote (NO), produisant respectivement des radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}) et des peroxynitrites ($ONOO^-$) (**Cai et Harrison, 2000 ; Démarchez, 2012**).

b/- Radical hydroxyle (HO^{\bullet})

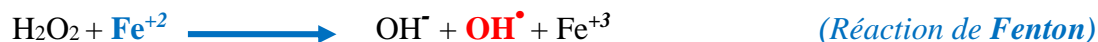
C'est l'ERO la plus destructrice pour la cellule et ses composants. Malgré une durée de vie très brève (10^{-10} s) et l'impossibilité de franchir les membranes, elle possède une très grande réactivité liée à un potentiel oxydant très élevé dans les systèmes biologiques. Elle agit selon trois mécanismes : en arrachant soit un électron ou un atome d'hydrogène ou encore en s'additionnant sur les doubles liaisons. Sa cible biologique est représentée par la plupart des molécules organiques et inorganiques des cellules, en particulier, l'ADN, les protéines, les lipides, les acide-aminés, les glucides et les métaux.

Le radical OH^{\bullet} peut être induit par la réduction de l' H_2O_2 selon la réaction d'**Haber-Weiss** engendrant alors un ion OH^- inoffensif et un radical hydroxyle HO^{\bullet} .



Cette réaction est lente, mais en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l' H_2O_2 donne naissance *in vivo* via la réaction de **Fenton** à un radical hydroxyle HO^{\bullet} hautement réactif.

In vivo et en présence du fer ou du cuivre l'H₂O₂ donne naissance à un radical OH[•] hautement réactif (**Bonnefont-Rousselot et al.,2003b**).



c/- Oxyde nitrique (NO[•])

L'oxyde nitrique est un gaz qui ainsi diffuse bien à travers les membranes. Il est issu de l'oxydation de l'un des azotes terminaux de l'acide aminé L-Arginine par l'oxyde nitrique synthase (NOS). Il n'est délétère pour la cellule que lorsqu'il est présent en quantité importante et il génère ainsi, une autre ERO : le peroxynitrite NO₃⁻ (**Bonnefont-Rousselot et al.,2003b**).

d/- Radicaux pyroxyles (ROO[•])

Ce sont des radicaux secondaires issus de l'oxydation des AGPI, initiée par l'oxygène singulet ou le radical hydroxyle (OH[•]). Ils sont dotés d'un pouvoir oxydant important mais inférieur à celui des radicaux hydroxyles (OH[•]), avec le même mécanisme d'action que ce dernier. Ils peuvent se décomposer pour donner des radicaux superoxydes (O₂^{•-}). Ils sont à l'origine des réactions en chaîne tels que la peroxydation lipidique qui a des conséquences multiples notamment une diminution de la fluidité des membranes, une augmentation de la charge négative de surface, une oxydation des groupements thiols, une inactivation des enzymes membranaires, une perturbation des membranes des organites cellulaires, un gonflement des mitochondries avec inhibition de la chaîne respiratoire et la perte du cytochrome C (**Mc michel, 2007 ;Powers et Jackson, 2008**). Ces radicaux sont formés à partir de l'oxydation des AGPI selon deux réactions :



II.4.1.2. ERO non radicalaires

a)- Oxygène singulet (¹O₂)

C'est la forme « excitée » de l'oxygène moléculaire qui est très instable et extrêmement réactif, il possède la même structure électronique que l'oxygène mais « agencée » différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Il n'est donc pas radicalaire et a une durée de vie très limitée. Au contact des molécules de son environnement, notamment les molécules d'eau, il se désactive en libérant de l'énergie. Il est formé en moindre quantité que les oxy-radicaux et est produit lors de la peroxydation lipidique, la flambée respiratoire et suite à l'action des rayons ultraviolets sur le dioxygène (**Démarchez,2012**).

b/- Peroxyde de l'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène (**H₂O₂**) est généré dans le peroxysome, les microsomes et les mitochondries par une réaction de dismutation du radical superoxyde (O₂^{•-}) par la SOD comme l'indique la réaction ci-après (**Ramirez et al., 2008**).



La dismutation de O₂^{•-} spontanée ou catalysée par les superoxydes dismutases est la source majeur de l'H₂O₂. L'H₂O₂ n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs. En se décomposant en anions hydroxyles et en radicaux hydroxyles par la réaction de Fenton en présence de sels métalliques (Fe²⁺ et Cu⁺), il devient toxique (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**).

Il pénètre facilement les membranes biologiques et provoque la dégradation des protéines, des lipides, l'oxydation de l'ADN et l'inactivation d'enzymes. Sa capacité à traverser les membranes biologiques et à diffuser loin de son lieu de synthèse, fait du peroxyde d'hydrogène une des composantes utilisées par les cellules dans la signalisation intra et/ou intercellulaire. (**Ramirez et al.,2008**).

c/- Peroxynitrite (NO₃⁻)

L'anion super oxyde ($O_2^{\bullet -}$) et l'oxyde d'azote (NO^{\bullet}) se combinent rapidement pour générer une molécule au fort pouvoir oxydant le peroxyde d'azote ($ONOO^{\bullet}$). Le NO_3^{\bullet} est une espèce réactive qui cause beaucoup de dommages aux composants cellulaires. Les deux radicaux

$O_2^{\bullet -}$ et NO^{\bullet} sont modérément toxiques individuellement, mais lorsqu'ils sont produits à proximité l'un de l'autre, ils se combinent immédiatement pour former un oxydant puissant, non radicalaire, le peroxyde d'azote ou $ONOO^{\bullet}$ comme le montre la réaction suivante (**Liaudet, 2007**) :



La forme protonée du radical peroxyde d'azote ($ONOOH$) est un puissant agent oxydant causant des dommages importants similaires à ceux observés avec le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) (**Démarchez, 2012**).

d/- Acide hypochlorique (HOCl)

Il est formé à partir du peroxyde d'hydrogène. Il passe facilement à travers les membranes biologiques, et peut altérer les constituants protéiques de la cellule à cause de son fort pouvoir oxydant (**Bonnefont Rousselot et al., 2003b**).



II.4.2. Aspect physicochimique des ERO

Les espèces radicalaires hydroxyle, l'anion superoxyde (OH^{\bullet} et $O_2^{\bullet -}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) constituent les protagonistes majeurs du stress oxydant. Les sources cellulaires de ces ERO sont principalement d'origine mitochondriale (chaîne respiratoire) (**Cadenas et Davies, 2000**), mais elles peuvent provenir de divers processus métaboliques et la transformation des xénobiotiques par le système enzymatique type Cyt P450 (**Beaudeau, 2006**). Bien que le dioxygène donne naissance aux espèces réactives oxygénées chimiquement peu réactifs, les ERO possèdent une réactivité chimique plus élevée et délétères vis-à-vis des biomolécules. Les propriétés thermodynamique et cinétique des ERO permettent de mieux comprendre la réactivité chimique de ces entités au niveau moléculaire. Le rôle potentiellement toxique de ces espèces est observé dans de nombreux désordres pathologiques (**Delattre et al., 2005**).

II.4.3. Localisation des formes réactives oxygénées

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, la plupart des radicaux libres se forment au cours du métabolisme de l'oxygène dans les mitochondries. Les radicaux libres peuvent être produits lors de la défense antibactérienne. Les cellules phagocytaires (macrophages, neutrophiles, etc.) activées pendant la réaction inflammatoire libèrent un anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$, phénomène appelé flambée respiratoire. Les radicaux superoxydes formés peuvent subir des transformations en donnant naissance aux dérivés oxygénés toxiques (Pincemail, 2002 ; Valko *et al.*, 2006).

Dans l'organisme, il existe de nombreuses sources de formes réactives dont l'importance varie selon les tissus. On distingue des sources endogènes et exogènes (Thannickal *et al.*, 2000 ; Droge, 2002).

II.4.4. Sources des ERO

Nos cellules sont continuellement agressées par des radicaux libres, essentiellement des espèces réactives de l'oxygène, dont la formation est liée aussi bien à des facteurs exogènes qu'endogènes (Castronovo, 2003).

II.4.4.1. Sources endogènes

Dans l'organisme il y a de nombreuses sources de ROS dont l'importance varie selon les tissus et les organites, que ce soit au niveau des mitochondries, des membranes, du réticulum endoplasmique, ou tout simplement dans le cytosol. D'une manière générale, toute réaction biochimique faisant intervenir de l'oxygène moléculaire est susceptible d'être à l'origine d'une production des radicaux libres oxygénés (Thannickal et Fanburg, 2000)

a) -Auto- oxydation des petites molécules

L'auto-oxydation des petites molécules telles que l'adrénaline, les flavines, l'hydroquinone et la dopamine impliquée dans la maladie de parkinson, est une importante source d'espèces oxygénées réactives. Le produit direct de ces auto- oxydations est l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) (Thannickal et Fanburg, 2000).

b) - Les ions métalliques

A des concentrations élevées, le fer et le cuivre sont des ions métalliques considérés comme des remarquables promoteurs des processus radicalaires (**Fontaine *et al.*, 2002**), ils ont la capacité de transformer le H₂O₂ en radical hydroxyle encore plus toxique, selon la réaction de Fenton (**Gardès-Albert *et al.*, 2003**) :



c)-Mitochondrie

Les éléments clés dans le fonctionnement de la mitochondrie sont d'une part, les réactions enzymatiques d'oxydation des substrats et d'autre part, la chaîne du transport des électrons ou chaîne respiratoire. L'oxydation des substrats par le cycle de Krebs ou la β -oxydation entraîne la réduction du NAD⁺ en NADH et du FAD⁺ en FADH₂. Ces intermédiaires sont appelés équivalents réducteurs et fournissent des électrons à la chaîne respiratoire. Cette dernière est composée de cinq complexes : NADH-ubiquinone oxydoréductase (complexe I), succinate déshydrogénase (complexe II), ubiquinol cytochrome C réductase (complexe III), cytochrome C oxydase (complexe IV) et ATP synthase (complexe V) (**Kushnareva *et al.*, 2002**).

L'oxydation de ces coenzymes s'accompagne d'une perte de protons et d'électrons qui par l'intermédiaire de la chaîne respiratoire mitochondriale (CRM), sont transférés à l'oxygène moléculaire (O₂), accepteur terminal de la chaîne. La fuite d'électron mitochondriale est la source majoritaire d'espèces oxygénées réactives, ainsi la production d'anion super oxyde (O₂^{•-}) est de 150 mmol/jour pour l'organisme en repos (**Delattre *et al.*, 2005**).

En outre, la mitochondrie est responsable de l'initiation de la plupart des réactions des radicaux libres (**Fusco, 2007**). La principale forme générée est l'anion superoxyde O₂^{•-} qui est dismuté en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et en peroxynitrite ONOO⁻ (**Pierre *et al.*, 2002**).

Lors d'un faible stress, l'action mitochondriale des ERO joue un rôle dans la signalisation cellulaire, mais en cas d'un stress intense, leur action devienne délétère en induisant l'oxydation des protéines et des lipides mitochondriale (**Murphy, 2009**).

d/- Lysosome

La myéloperoxydase lysosomale (MPO) est responsable de la formation de l'acide hypochloreux (HOCL) à travers l'oxydation de l'ion Cl^- par H_2O_2 et de l'acide hypo-thiocyanique (HOSCN) par action de H_2O_2 sur les ions thiocyanates (SCN^-).

La MPO peut catalyser l'oxydation des ions nitrites (NO_2^-) formant ainsi, des espèces réactives azotées tel que le dioxyde d'azote (NO_2^\bullet) qui attaque les protéines et génère des résidus nitrotyrosine.

L'intérêt de la MPO au cours du SO, résulte de sa fonction primordiale de transformation du H_2O_2 et du $\text{O}_2^{\bullet-}$ en d'autres espèces hautement réactives de l'oxygène (**Delattre et al., 2005**).

e/-Réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique contient des enzymes du métabolisme des lipides, des protéines, et notamment des complexes enzymatiques de détoxification de métabolites hautement réactifs qui catalysent des réactions de détoxification des molécules liposolubles. La plus connue de ces enzymes est le Cyt P450 qui oxyde les acides gras insaturés et certains xénobiotiques et réduit l'oxygène moléculaire pour former l'anion super oxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) et /ou l'hydro-peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). De ce fait, certaines espèces réactives oxygénées produites, semblent intervenir dans la régulation redox de certaines fonctions essentielles du réticulum endoplasmique telles que la sécrétion des protéines (**Delattre et al., 2005**).

Dans les conditions du stress du RE une accumulation des protéines endommagées, entraîne une activation des facteurs de transcription pro-inflammatoire NF- κ B via la phosphorylation des protéines kinases MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) et JNK (c-Jun N-terminal kinases) via la production des ERO telle que le H_2O_2 (**Jiang et al., 2003 ; Zhang et Kaufman, 2008 ; Kitamura,2011**).

f/- Peroxysome

Le peroxysome est une source importante dans la production cellulaire de H_2O_2 car cet organite contient de nombreuses enzymes générant l' H_2O_2 . En effet, ce dernier est utilisé comme substrat par la catalase peroxysomale afin de réaliser des réactions de peroxydation.

Les peroxysomes sont connus par la présence d'une large variété d'enzymes peroxysomales regroupées sous le nom d'oxydases. Dans les conditions physiologiques, ils synthétisent le H₂O₂ à travers la réduction de l'oxygène moléculaire en eau mais ne produisent pas d'anions superoxyde (O₂^{•-}). La β-oxydation des acides gras et les réactions enzymatiques des oxydases comptent parmi les principaux processus métaboliques impliqués dans la génération de H₂O₂ dans les peroxysomes. (**Hwang et Huh, 2012**).

i/-Noyau

La membrane nucléaire possède des cytochromes oxydases et une chaîne de transport des électrons, dont la fonction physiologique est inconnue. Son activité est beaucoup plus faible que son homologue mitochondrial, mais une perte d'électrons peut également intervenir, générant ainsi l'anion superoxyde (O₂^{•-}). Les effets de ces ERO produites à proximité de l'ADN nucléaire pourraient être fonctionnellement importants, par leur capacité à générer des lésions oxydatives de l'ADN (**Delattre et al., 2005**).

j/-NADPH oxydase

Elle joue un rôle important dans la réponse immunitaire et plus précisément dans la lutte contre les micro-organismes. En effet, lors de la phagocytose cette enzyme est présente dans la membrane plasmique des phagocytes, Elle catalyse la réduction de l'oxygène pour former des radicaux superoxydes selon la réaction suivante (**Werner, 2004**).



Il existe aussi une NADPH oxydase dans les cellules non phagocytaires dont le rôle serait de régler la croissance cellulaire (**Krause, 2004**).

h/- Xanthine oxydase

C'est une enzyme qui génère des radicaux libres en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique, selon la réaction ci-dessous :



Cette enzyme est présente dans le sang, les cellules épithéliales et le foie. La localisation cellulaire de cette enzyme est essentiellement cytoplasmique (**Harrisson, 2002**).

La production d'espèces réactives oxygénées par la xanthine oxydase est faible dans les conditions physiologiques, mais jouerait un rôle important lors de l'ischémie-reperfusion (**Wakatsuki et al., 1999 ; Ono et al., 2009**).

k/- Les oxydes nitrique synthases

Beaucoup de cellules sont capables de produire du monoxyde d'azote (NO) à partir de l'arginine et de l'oxygène, dans une réaction catalysée par l'oxyde nitrique synthase (NOS), selon la réaction ci-dessous. En effet, des études réalisées à l'aide des enzymes purifiées ont montré que la NOS est capable de générer des anions superoxydes dans des situations de déficit de son substrat, L-arginine, ou de ces cofacteurs d'activation (**Xia et al., 1998**).



l/- Lipoxygénase et acide arachidonique

L'acide arachidonique, provenant de l'hydrolyse des phospholipides par la phospholipase A2, est le substrat de la lipoxygénase pour la synthèse des leucotriènes (**figure 4**). Cette synthèse met en jeu une série d'oxydation qui implique la production des ROS notamment l'hydroperoxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Marnett, 1999**). Il existe plusieurs lipoxygénases notamment, la 5 lipoxygénase (5-LOX) et la 12 lipoxygénase (12-LOX) bien que la 5-LOX est la plus connue pour son rôle dans la synthèse des leucotriènes (**Biesalski et al., 1997**).

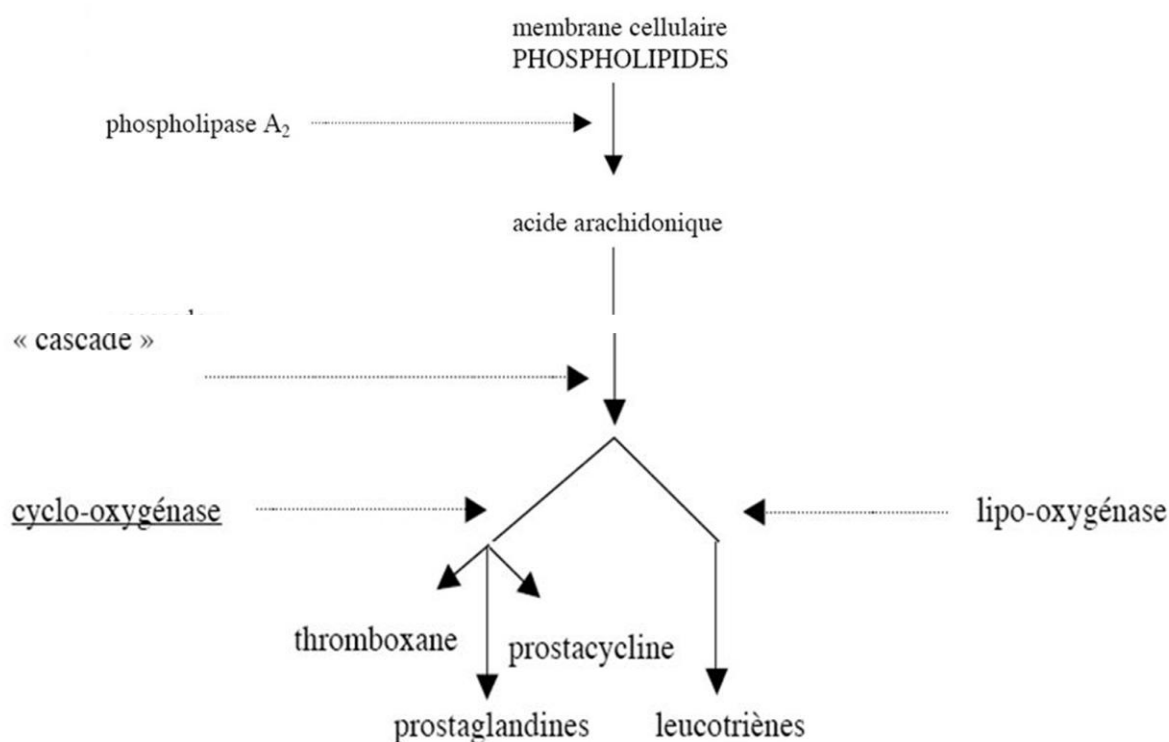


Figure 4 : Action de la lipo-xygénase et cyclo-génase (Delattre et al.,2005).

II.4.4.2. Sources exogènes

Les sources exogènes des radicaux libres sont multiples. Ainsi, les rayonnements UV et les radiations ionisantes induisent la synthèse des radicaux dérivés de l'oxygène notamment, l'anion superoxyde (O_2^{\bullet}), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) et l'oxygène singulet ($1O_2$). Le mono oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2) sont des toxiques présentes dans les goudrons, le tabac et les polluants industriels ; elles sont à l'origine d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires (Favier, 2003).

D'autres facteurs sont capables de générer des radicaux libres tels que les particules inhalées (silice, amiante, etc.), métaux toxiques (chrome et vanadium), certains composés phénols, quelques médicaments et les anticancéreux (Valko et al., 2006 ; Valavanidis et al.,2009). De plus, l'infection au VIH augmente intensivement la production des radicaux libres (Mohammedi, 2005).

II.4.4.3. Autres sources des ERO

Au cours d'un exercice physique, le débit sanguin diminue par compression des capillaires sanguins due à la contraction des muscles, à l'arrêt le débit délivre une grande quantité d'oxygène

aux tissus, ce phénomène est appelé « *ischémie reperfusion* ». Lors de la reperfusion il y'a afflux massif d'oxygène, ainsi la xanthine oxydase (XO) transforme la xanthine en acide urique en donnant des électrons à l'oxygène, ce qui induit la formation d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) (Cooper *et al.*,2002).

a/- Oxydation d'hémoglobine

Dans les globules rouges, à travers une réaction d'oxydation intermoléculaire spontanée, l'oxyhémoglobine génère de la méthémoglobine et l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). Ce dérivé oxydé de l'Hb est une forme oxydée d'hémoglobine dont le **fer ferreux divalent (II)** est oxydé à l'état **ferrique trivalent (III)** (*figure 5*), ce qui rend la molécule incapable de fixer l'oxygène et donc non fonctionnelle (Wallace *et al.*,2010).

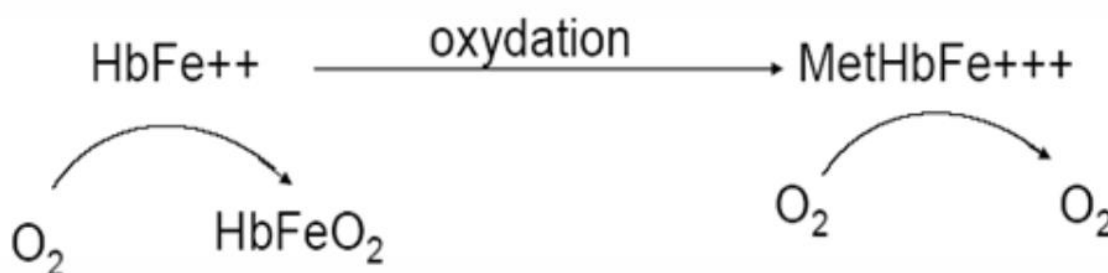


Figure 5 : Oxydation de l'hémoglobine

Cette oxydation est physiologique, mais la proportion reste normalement inférieure à 2% car la *méthémoglobine réductase-1* réduit rapidement la méthémoglobine. Ceci dit, ces concentrations peuvent atteindre des taux pathologiques sous l'action d'un certain nombre de produits chimiques (agents méthémoglobinsants) ou due à un déficit en systèmes enzymatiques réducteurs ou encore une mutation de l'hémoglobine (méthémoglobinémie congénitale récessive).

Par ailleurs, l'oxydation de l'hémoglobine est parfois nécessaire car elle offre une voie de défense contre les nombreuses formes de molécules oxydantes radicalaires ou non.

II.4.5. Effets des ERO

Les radicaux libres sont indispensables au fonctionnement de l'organisme, mais à de basses concentrations dans le milieu cellulaire. Parmi les rôles physiologiques des radicaux libres, on cite :

II.4.5.1. Rôle dans la contraction musculaire

Certaines études ont montré que les radicaux libres agissent sur le couplage excitation-contraction au niveau des fibres musculaires (**Close et al., 2005**). Dans ce contexte, **Favero et al., (1995)** ont montré que l'hydro-péroxyde d'hydrogène (H_2O_2) favorise la libération des ions calcium (Ca^{+2}) au niveau du réticulum endoplasmique et stimule ainsi, l'ouverture des canaux calciques.

II.4.5.2. Rôle immunitaire

Les radicaux libres jouent un rôle dans le déroulement de la réaction immunitaire. La phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène brutale et intense connue sous le nom de « *burst oxydatif* », ou « *explosion oxydatif* ». Au sein du phagosome, l'activation de la NADPH oxydase et l'action de la superoxyde dismutase (SOD) avec l'oxyde nitrique synthétase (NOS) aboutissent à un mélange très corrosif des espèces réactives d'oxygènes, telles que l'anion superoxyde d'oxygène ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), l'hydro-péroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et acide peroxynitrite (ONOOH). Ce mélange réactionnel détruit l'ensemble des composants bactériens par oxydation (**Favier et al., 2003**).

II.4.5.3. Rôle dans l'expression des gènes

Les radicaux libres induisent l'expression de nombreux gènes par l'intermédiaire des voies de signalisation impliquant les MAPK (**Uchida et al., 1999 ; Moeller et al., 2004 ; Cyrne et al., 2013**).

De plus, les radicaux libres participent à d'autres rôles notamment :

- La régulation de la dilatation capillaire
- La destruction des cellules tumorales par apoptose
- Le fonctionnement de certains neurones, notamment ceux de la mémoire
- La fécondation de l'ovaire
- La production énergétique et la croissance cellulaire (**Ardestain et yazdanparast, 2007 ; Touafek, 2010**).

II.5. Défense antioxydante

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce dernier (Halliwell et Gutteridge, 1990 ; Mette, 2006).

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre et al., 2005).

On distingue classiquement deux catégories d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques ; comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques et les antioxydants non enzymatiques pour lesquels nous différencierons ceux qui sont liposolubles répartis dans les membranes biologiques de ceux qui sont hydrosolubles répartis dans le cytosol, le milieu extracellulaire et le plasma.

Les stratégies de défense vis-à-vis du stress oxydant sont variées (figure 6).

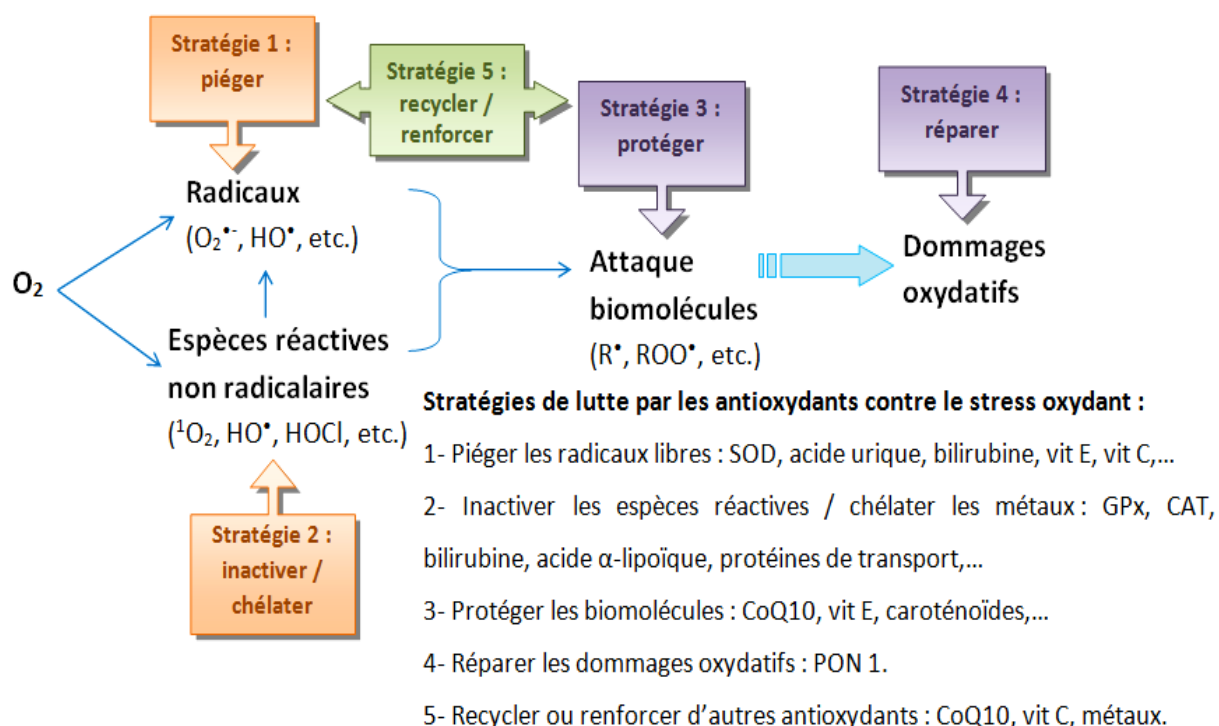


Figure 6 : Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydant (Grandjean, 2005).

En donnant un e^- , ils deviennent eux-mêmes des radicaux libres qui doivent se rééquilibrer. Ainsi, le tocophéryl résultant de l'oxydation du tocophérol dépend de l'ascorbate qui devient du déhydro-ascorbate lui-même régénéré par le glutathion, qui dépend à son tour du NADPH pour sa réduction, constituant une spirale antioxydante (Mette, 2006).

II.6. Classification des antioxydants

II.6.1. Classification par rapport au mécanisme d'action

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir soit en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés (**groupe 1**), ou en épurant les radicaux libres oxygénés formés (**groupe 2**). En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Albert, 2003).

II.6.1.1. Groupe I (les antioxydants primaires)

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation, en convertissant les radicaux libres en leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux pyroxylés, pour deux raisons : a) La concentration élevée de ces radicaux et b) la faible énergie du groupement (ROO^\bullet). Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation (Frankel *et al.*, 2000 ; Huang *et al.*, 2005).

II.6.1.2. Groupe II (les antioxydants secondaires)

Les antioxydants secondaires englobent une large gamme de différentes substances chimiques chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, des inhibiteurs des enzymes antioxydantes et des destructeurs des hydro-peroxydes. Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions antioxydantes, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur des radicaux libres, un désactivateur des oxygènes singulets dans une solution aqueuse et régénérer le tocophérol. De

même, plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux (Miller *et al.*, 1996).

III. RUPTURE DE LA BALANCE ANTIOXYDANT PRO-OXYDANT

Une production accrue des radicaux libres et ou une diminution de la défense antioxydante entraîne un déséquilibre de la balance antioxydante (*figure 7*).

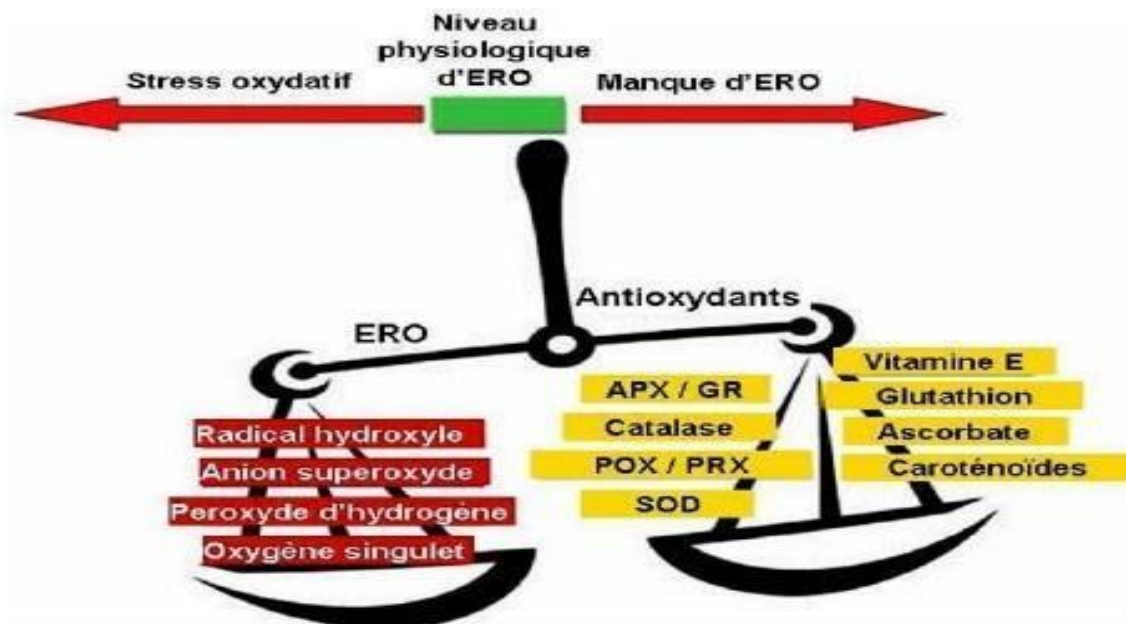


Figure 7 : Radicaux libres /Antioxydants (Belaïch et Boujraf, 2016)

III.1. Facteurs contribuant à augmenter le stress oxydant

In vivo, plusieurs systèmes biochimiques peuvent être à l'origine d'une production accrue d'ERO tels que (Dardik, 2009) :

- L'altération de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie lors d'un processus de vieillissement ou toute situation caractérisée par un phénomène d'ischémie - reperfusion.

- L'activation des globules blancs qui sous l'effet d'agents étrangers, passent d'un état quiescent à l'état actif, ce qui est traduit par une augmentation de 40% de la consommation d'O₂.
- L'activation de la xanthine oxydase et de l'hémoglobine.
- Libération du fer libre et le métabolisme accru des prostaglandines.
- L'effet cytotoxique direct de l'homocystéine sur les cellules endothéliales suite à l'oxydation de l'homocystéine réduite par le fer.

III.2. Alimentation déséquilibrée

Les antioxydants sont essentiellement apportés par les fruits et les légumes riches en vit (A, C et E), oligoéléments et polyphénols. Une étude menée sur 123 sujets sains de la région liégeoise a montré une diminution de 26,30% du taux plasmatique en vitamines chez les sujets qui ne consomment pas de fruits par rapport à ceux ingérant entre 1 à 4 fruits /jour (**Pincemail et al.,2010**).

Toutefois, l'alimentation déséquilibrée et appauvrie en antioxydants tels que les fast-foods sont des facteurs qui favorisent le stress oxydant. L'étude de **Palli, (2000)** a montré l'effet bénéfique d'une consommation des fruits et légumes sur la réduction des taux cellulaires d'ADN oxydé, dont l'effet délétère est connu dans tous les types de cancers.

III.3. Dommages créés aux biomolécules par le stress oxydant

Selon **Monteil et al., (2004)**, les différentes cibles des ERO sont résumées dans la (**Figure 8**).

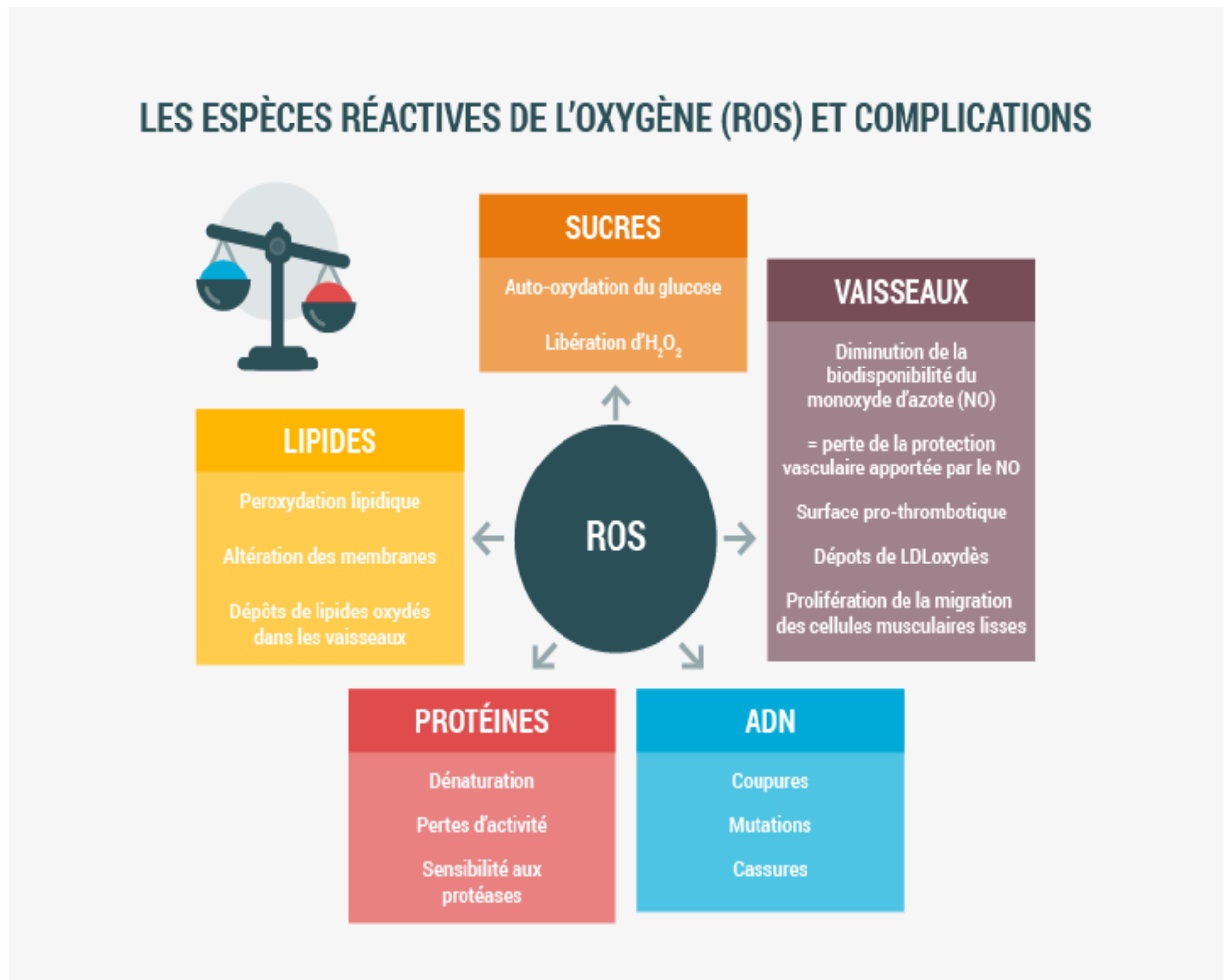


Figure 8 : Différentes cibles des espèces réactives de l'oxygène (Monteil et al.,2004).

III.3.1. Dommages oxydatifs des lipides

Les premières cibles des ERO sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires (Pamplona et al.,2000 ; Hulbert,2005). Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des espèces oxygénées activées (EOA) en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives : *initiation, propagation et terminaison* (figure 9) (Halliwell et Gutteridge, 1999). La phase d'*initiation* consiste en une déshydrogénation d'un acide gras (LH) en un radical d'acide gras (L^\bullet), provoquée par un initiateur radicalaire tel que le OH^\bullet et le HOO^\bullet . Le radical lipidique (L^\bullet) subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical plus stable, qui peut réagir avec une

molécule d' O_2 et former un radical peroxyde (LOO^\bullet) (Esterbauer *et al.*, 1992), ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène d'un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction *phase de propagation*. Il est admis que chaque radical (R^\bullet) peut être à l'origine d'une centaine de molécules d'hydro-peroxyde avant que la phase de terminaison survienne. L'hydro-peroxyde lipidique ($ROOH$) formé est réduit et neutralisé par la glutathion peroxydase et la vit E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes c'est la phase de *terminaison*, mais il peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de Fe^{2+} ou Cu^{2+} et entraîner la formation d'alcalines et d'aldéhydes toxiques dont le malonyl-dialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxynonanal ($4-HNE$); ces derniers ont été étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN (Marnett, 1999). Cette réaction est à l'origine d'accumulation d'hydro-peroxydes lipidiques au niveau membranaire ce qui entraîne une diminution de sa fluidité et perméabilité ; sa fonction étant complètement perturbée, la membrane se désorganise. Si les dégâts sont trop importants, les peroxydes lipidiques peuvent conduire à la mort de la cellule. Les peroxydes lipidiques peuvent aussi réagir avec d'autres composés cellulaires et être à l'origine de la formation de molécules très toxiques, par exemple, ils peuvent réagir avec l'ADN et être à l'origine de substances mutagènes. (Beaudeau *et al.*, 2003).

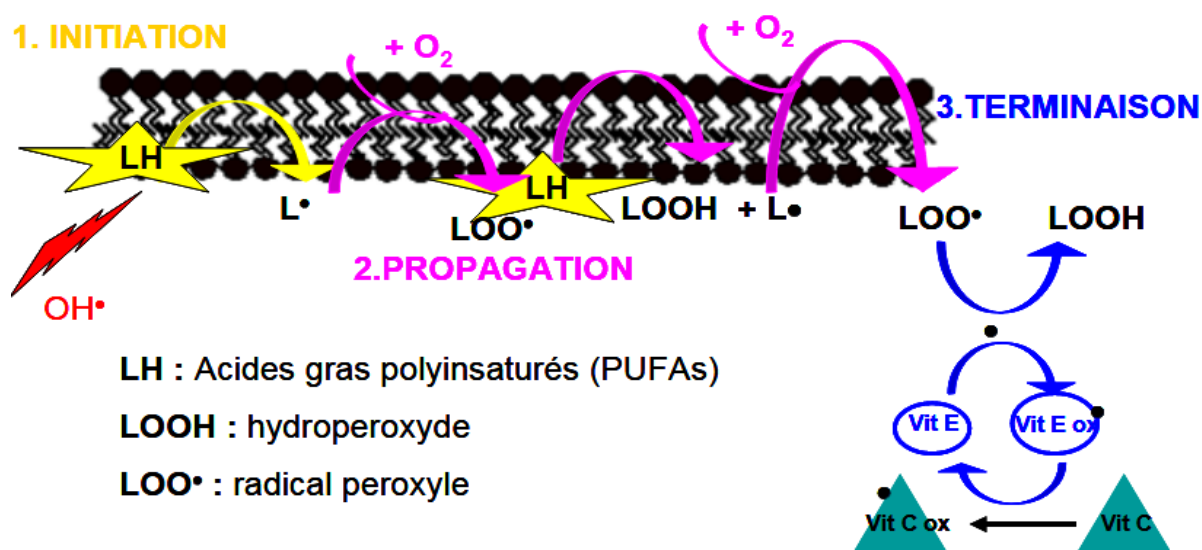


Figure 9 : Différentes phases de la peroxydation lipidiques (Michel *et al.*, 2008)

D'autres aldéhydes peuvent être formés lors de la peroxydation lipidique tels que le *MDA* (malonyl-dialdéhyde) qui est un composé très mutagène et le (4 hydroxy-nonéol) *4HNE* qui est très toxique pour la cellule (**Esterbauer *et al.*,1992**).

L'attaque des lipides concerne les lipoprotéines circulantes aboutissant à la formation des LDL oxydées, qui une fois captées par les macrophages forment des dépôts lipidiques de la plaque d'athérome. L'attaque des phospholipides membranaires altère le fonctionnement de nombreux récepteurs, transporteurs et traduction des signaux suite aux changements de la fluidité membranaires (**Favier, 2003**).

III.3.2. Dommage oxydatif des protéines

Les protéines sont susceptibles d'être oxydées par les espèces réactives d'oxygène. Cette oxydation provoque l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine. Ces réactions sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{+2} et le Fe^{+2} et elles peuvent être classés en deux catégories : a) Celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique et b) Modification des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique (**Levine,2002**).

En effet, les acides aminés les plus sensibles sont le tryptophane, la tyrosine et l'histidine sur lesquels le radical hydroxyle (OH^\bullet) s'additionne et modifie ainsi leur conformation, d'où l'agrégation des protéines qui deviennent plus résistantes à la protéolyse physiologique. Ceci concerne particulièrement les enzymes cytosoliques et les protéines de transport qui perdent leurs fonctionnalités (**Grandjean, 2005**).

En outre, les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) et l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) attaquent les protéines du tissu de soutien comme le collagène du tissu conjonctif ce qui altère leur fonction (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). En effet, les protéines oxydées perdent leur capacité à se fixer correctement sur un récepteur ou à fixer spécifiquement un ligand, ainsi la signalisation cellulaire est tronquée (**Favier, 2003**).

III.3.3. Dommage oxydatif des glucides

Les espèces réactives d'oxygène attaquent les muco-polysaccharides notamment les protéoglycanes du cartilage. En présence de traces métalliques, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques en libérant des céto-aldéhydes, des hydro-péroxydes

d'hydrogène (H_2O_2) et des radicaux hydroxyles (OH^\bullet) qui induisent la coupure des protéines ou leur glycation. Ce phénomène de glucosoxydation est beaucoup plus constaté chez les diabétiques et contribue ainsi à la fragilité de leurs parois vasculaires et leur rétine (**Favier, 2003**).

III.3.4. Dommage oxydatif de l'ADN

L'ADN mitochondrial est la cible privilégiée des oxydations par les ROS, du fait de sa proximité directe à l'une des principales sources des ROS cellulaires qui est la chaîne respiratoire mitochondriale. Le taux de bases oxydées est de deux à trois fois supérieur dans l'ADN mitochondrial par rapport à l'ADN nucléaire (**Stevnsner, 2002**). En effet, le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieur à celle du génome nucléaire (**Richter et al., 1988**). Les mécanismes explicatifs peuvent être attribués selon (**Ames et al., 1993**) à :

- L'absence d'histone protectrice autour de l'ADN mitochondrial
- Sa localisation proche de la membrane interne
- Des mécanismes de réparation frustrés
- Une structure circulante sans introns qui augmente le risque de mutations pathogènes

Selon **Grandjean (2005)**, les altérations de l'ADN sont causées essentiellement par le radical hydroxyle (OH^\bullet) et elles sont de différents types :

- Modification de la guanine suite à sa réaction avec un radical OH pour former la 8-Hydroxy-2'-désoxyguanosine, qui s'apparie avec une adénine au lieu d'une cytosine. Ceci induit une mutation de l'ADN qui déclenche le développement du cancer et augmente le processus du vieillissement.
- Destruction de la liaison entre la base et le désoxyribose
- Destruction de désoxyribose responsable de la cassure du brin.
- Formation de pontage avec les protéines ou les dérivés d'oxydation lipidique tel que le malonyl-dialdéhyde (MDA).

Les conséquences des radicaux libres sur l'ADN peuvent entraîner une mutagénèse, un arrêt de croissance cellulaire par blocage des mécanismes de réplication, une inhibition de la synthèse protéique par blocage des mécanismes de transcription, de traduction et enfin une mort cellulaire (**Dizdaroglu et al.,2002 ; Cooke et al.,2003 ; Dizdaroglu et al.,2012**).

IV. Marqueurs biologiques du stress oxydant

Bien que l'évaluation du stress oxydant soit nécessaire, elle demeure compliquée. En effet, les espèces radicalaires sont fugaces et instables ce qui les rend difficiles à isoler et à doser (**Mohinder et Naveen, 2014**). Il faut donc envisager de doser des molécules biologiquement stables produites par l'action des espèces radicalaires. En effet, un marqueur idéal du stress oxydant réunit les conditions suivantes (**Levine et al.,2001**) :

- Il serait détectable même à faibles concentrations,
- Possède une structure chimique qui lui est propre,
- Aurait une demi-vie longue et sa production serait augmentée ou diminuée exclusivement en cas d'un stress oxydant (SO).

IV.1. Biomarqueurs des dommages oxydatifs

IV.1.1. Biomarqueurs de la peroxydation lipidique

Les hydro-péroxydes sont des produits primaires de la peroxydation lipidique. Ces molécules oxydées peuvent se décomposer en « *produits secondaires* » et « *terminaux* » pour former des endopéroxydes cycliques et finalement des aldéhydes comme le malonyl-dialdéhyde (MDA), le 4 hydroxy-nonéanal (4-HNE) ou des isoprostanes (**Michel et al.,2008**).

a) -Malonyl-dialdéhyde (MDA)

Le malonyl-dialdéhyde (MDA) est l'un des produits finaux de la peroxydation des lipides dans les membranes cellulaires ou dans les LDL (**Mongens,2013**), il est formé essentiellement par la peroxydation d'un acide gras comme l'acide arachidonique.

Par ailleurs, les niveaux de MDA sont souvent estimés par le dosage de l'acide thiobarbiturique (**TBARS**) (**Jairam et al.,2012**).

b) -Isoprostanes

Les isoprostanes sont un groupe de prostaglandines bioactives générés par peroxydation, *in vivo*, de l'acide arachidonique. Sur de nombreuses isoprostanes formées, la série « *F* » des isoprostanes et la 8-iso-prostaglandine «F2 α » (8-iso-PGF2 α) en particulier, ont été suggérés comme des marqueurs spécifiques, fiables et non invasifs de la peroxydation lipidique (Halliwell,2000 ; Milne *et al.*,2005).

Les isoprostanes peuvent être facilement mesurées dans la plupart des fluides biologiques tels que le plasma, les urines, condensats d'air expiré et expectoration. En outre, la 8-iso-PGF2 α est très stable dans des échantillons isolés (Griffiths *et al.*,2002) et ses niveaux ne sont pas influencés par le taux de lipides dans l'alimentation, contrairement aux MDA (Halliwell,2000 ; Gopaul *et al.*, 2001).

Par ailleurs, des niveaux élevés de 8-iso-PGF2 α ont été impliqués dans de nombreuses pathologies, telles que les maladies cardio-vasculaires, l'asthme allergique et la maladie d'Alzheimer (Montuschi,2004 ; Milne,2005).

IV.1.2. Biomarqueurs de l'oxydation des protéines

a) -Protéines carbonylées

Plusieurs études suggèrent que les espèces réactives d'oxygènes générées pendant l'oxydation peuvent potentiellement réagir avec les groupes latéraux des acides aminés et cliver les polypeptides (Garrison,1987).

L'oxydation des protéines entraîne la formation de carbonyles réactifs avec des groupes (aldéhydes et cétones), qui peuvent être facilement suivis expérimentalement et qui sont considérés parmi les meilleurs marqueurs du SO. Ces groupes carbonyles sont principalement obtenus par une réaction entre des groupes latéraux d'acides aminés (généralement la *Lys*, l'*Arg*, la *Pro* et la *Thr*) avec des radicaux hydroxyles (OH^{*}), mais ils peuvent aussi résulter de la réaction entre les ERO et les lipides notamment le (4-HNE et le MDA) ou les glucides comme les céto-amines et les céto-aldéhydes. Des niveaux élevés de protéines carbonylées ont été détectés chez des patients atteints de maladies neurodégénératives, de diabète, d'hypercholestérolémie et d'arthrite (Berlett et Stadtman,1997).

b) -Nitrotyrosine

Comme indiqué précédemment, l'oxyde d'azote (NO[•]) produit par l'oxyde nitrique synthase (NOS) réagit avec l'anion superoxyde (O₂^{•-}) pour former le peroxynétrique ONOO⁻

(Beckman et Koppenol,1996). Ce dernier, et ses métabolites secondaires peuvent provoquer une nitration de la tyrosine, créant la 3-nitrotyrosine, qui est une empreinte d'oxydation/nitration des protéines. Des concentrations élevées de la 3-nitrotyrosine sont observées dans les maladies associées aux espèces réactives d'oxygène, comme l'athérosclérose, l'ischémie myocardique, l'inflammation, la sclérose latérale amyotrophique, ainsi que dans des modèles toxiques et cancérigènes (Knight et al.,2001).

IV.1.3. Biomarqueurs de l'oxydation des acides nucléiques

a) 8-hydroxydésoxy-guanosine (8-OH-DG)

La 8-OH-DG est une forme oxydée de la guanine, résultant des dommages de l'ADN et qui induit des mutations. Ce composé provoque des trans-versions de type A/T à C/G ou G/C à T/A, en raison de son appariement de base avec l'adénine et la cytosine. En effet, des niveaux élevés de la 8-OH-DG ont été détectés dans les cellules affectées par les radicaux libres associés à la tumorigenèse, ce qui confirme que le SO joue un rôle dans la progression tumorale (Mohinder et Naveen,2014).

b) 8-nitroguanine

Similaire à la 8-OH-DG, la 8-nitroguanine est générée par nitration de la guanine et de ses nucléosides et nucléotides sous ses formes libres ou sous forme d'ADN/ARN par l'oxyde d'azote (NO^\bullet) et le peroxy-nitrite ONOO^- . Contrairement aux tissus normaux, des niveaux élevés de la 8-nitroguanine ont été trouvés dans le noyau des cellules inflammatoires et/ou épithéliales des tissus enflammés (Ohshima et al.,2006).

IV.1.4. Biomarqueurs de l'oxydation des glucides

Les produits de glycation avancée (ou AGE Advanced Glycation End products) sont le résultat de glycation non enzymatique des protéines par des sucres réducteurs. Ces produits s'accumulent dans le plasma et les tissus en raison du vieillissement, du diabète, d'insuffisance rénale et d'autres états pathologiques (Miyata et al.,1997 ; Halliwell,2009).

Les produits glyqués sont considérés comme des biomarqueurs pour le contrôle de la glycémie, du risque de complications associées au diabète, de la mortalité par les maladies cardiaques coronariennes (Kilhovd et al.,2007) et aussi un index pour mesurer l'effet du traitement des patients diabétiques atteints de rétinopathie, néphropathie, et neuropathie (Wu,1993).

IV.2. Biomarqueurs du système de défense antioxydant

IV.2.1. Biomarqueurs enzymatiques

La SOD et la GPx sont les deux premières lignes de défense enzymatiques pour contrer les effets délétères des espèces réactives d'oxygène (*figure 10*). Ces deux enzymes localisées dans les globules rouges se mesurent aisément dans le sang et elles sont considérées comme des marqueurs très fiables du SO (**Fontaine,2007**).

IV.2.2. Biomarqueurs non enzymatiques

a) - Les vitamines

Les vitamines (E, A et C) ainsi que l'ubiquinone (Q10) agissent de façon isolée ou en synergie, pour neutraliser les espèces réactives d'oxygène. Elles sont considérées comme de bons marqueurs permettant d'évaluer le statut de SO d'un individu (**Yoshikawa et Naito, 2002 ; Pincemail,2009**).

b) - Les oligo-éléments

Dans le cadre du SO, l'attention se porte tout particulièrement sur trois oligo-éléments : le Cuivre, le Zinc et le Sélénium. Le dosage du taux plasmatique de ces oligo-éléments permet d'évaluer l'état du stress oxydatif et par conséquent de le corriger. L'étude du rapport de concentration entre le cuivre et le zinc (Cu^{+2}/Zn^{+2}) est d'un très grand intérêt. En condition physiologique, la valeur du rapport est proche de *1*. Toute modification à la hausse devra être interprétée comme étant un signe de la présence d'un stress oxydatif (**Mezzetti,1998**).

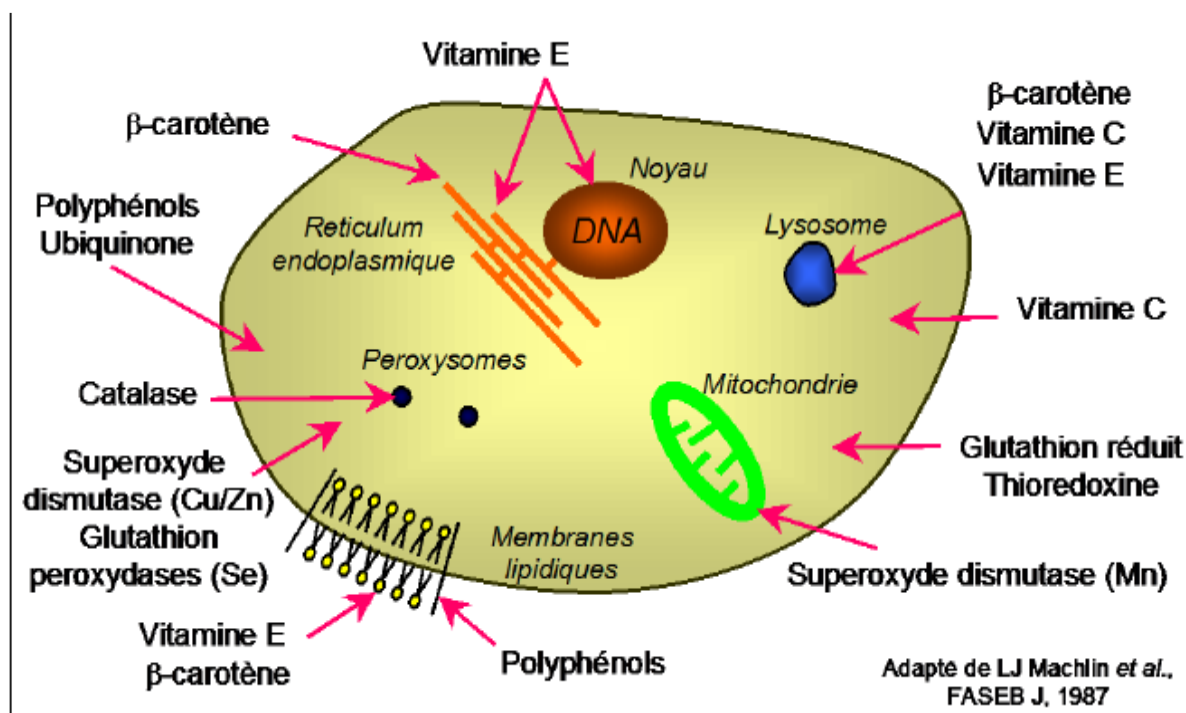


Figure 10 : Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires (Pastre, 2005).

c)-Ratio Redox (GSH/GSSG)

Le glutathion (γ -glutamyl-cystéinyl-glycine) est le plus abondant des thiols de faible poids moléculaire. Le glutathion existe sous deux formes : la forme de tripeptide réduite (GSH) et la forme oxydée connue sous le nom de glutathion disulfure ou glutathion oxydé (GSSG). Le GSH a divers rôles allant de la signalisation redox, la transduction du signal, l'expression des gènes, l'apoptose et le métabolisme de l'oxyde d'azote (NO) (Jones, 2002 ; Townsend et al., 2003). Plus important encore, il est le majeur piègeur des RL tels que les radicaux (OH^\bullet et RO_2^\bullet), le ONOO^- et le H_2O_2 à travers des réactions enzymatiques directe ou indirecte (Immenschuh et Ramadorig, 2000 ; Sen, 2000). Au cours de ces réactions, le GSH est oxydée pour former le GSSG, qui à son tour peut être réduit en GSH par la glutathion réductase NADPH-dépendante. Le rapport (GSH/GSSG) est souvent appelé « *le ratio redox* » et il est considéré comme un indicateur sensible du SO. Tout changement dans ce rapport vers l'état d'oxydation active plusieurs voies de signalisation (y compris les protéines kinase B, les protéines phosphatases (1 et 2), le facteur nucléaire kB, etc.) induisant ainsi, la prolifération cellulaire et la stimulation de l'apoptose (Liu et al., 2001).

IV.3. La capacité antioxydante globale

Lors du stress oxydant, les défenses antioxydantes de l'organisme sont diminuées puisqu'elles sont dépassées par l'action pro-oxydante des composés produits. Le plasma humain est riche en antioxydants de petite taille de types hydrophile, notamment (l'acide urique, l'acide ascorbique, le glutathion et la bilirubine) et de type lipophile comme (l' α -Tocophérol, le rétinol, la β -carotène et l'ubiquinone). Par contre, les globules rouges sont très riches en enzymes antioxydantes telles que la SOD, la CAT et la GPx. Plusieurs études ont montré que les antioxydants de petite taille sont généralement consommés lors d'un SO faible (adaptation), tandis que le taux d'enzymes antioxydantes est augmenté par expression moléculaire. Cependant, lorsque l'intensité du SO est trop importante, l'activité antioxydante enzymatique est diminuée (**Pincemail,2001**).

Dans le cas d'un SO, chaque antioxydant est affecté à des degrés divers. Il est dès lors intéressant de disposer de méthodes permettant d'évaluer de manière globale la capacité antioxydante totale d'un échantillon biologique. La technique consiste à mettre en contact un système *in vitro* générant des ERO avec une cible comme les acides gras et l'ADN, dont la destruction oxydative est suivie en fonction du temps. Si cette réaction est réalisée en présence d'un échantillon de plasma, les antioxydants présents dans celui-ci vont interagir avec les ERO et ce n'est qu'après leur consommation complète que l'oxydation de la cible pourra démarrer. Le temps de latence (temps avant le démarrage de l'oxydation) sera donc directement proportionnel à la quantité d'antioxydants présents dans l'échantillon plasmatique. Sur les globules rouges, il est également possible d'évaluer leur résistance *in vitro* à un SO en les soumettant à un système produisant des espèces réactives d'oxygènes. Dans ce cas, à un intervalle régulier, le taux d'hémolyse est mesuré comme marqueur *in vitro* du dommage oxydatif. Le temps de latence avant le démarrage de l'hémolyse sera directement proportionnel à la quantité d'antioxydants présents dans les érythrocytes (**Pincemail,2014**).

V. STRESS OXYDANT ET PATHOLOGIES HUMAINES

V.1. Maladies cardiovasculaires

V.1.1. Athérosclérose

C'est une formation de plaque d'athérome au niveau de l'intima qui obscurcit de plus en plus le passage de la circulation sanguine. En effet, l'augmentation de la concentration du cholestérol LDL dans le plasma constitue un facteur de risque majeur pour l'athérosclérose, comme démontré

par diverses études cliniques, épidémiologiques et génétiques (**Jialali et Devaraj, 1996 ; Mohinder et Naveen, 2014**). Les LDL sont modifiées par oxydation au niveau des cellules de la paroi artérielle ; ainsi des formes modifiées des LDL telles que l'acétyl-LDL ou les LDL oxydées sont à l'origine de la formation des cellules spumeuses (**Brown,1993**). Par ailleurs, les macrophages jouent un rôle d'accepteurs qui ont une grande capacité de stockage des LDL modifiées (**Goldstein et al., 1980**). Ces dernières peuvent à leur tour transformer les LDL minimalement oxydées (MM-LDL) en des formes plus oxydées mais non reconnues par les récepteurs LDL, d'où elles seront prises en charge par la voie des récepteurs éboueurs, conduisant ainsi à l'accumulation d'esters de cholestérol et à la formation des cellules spumeuses (**Witzum et Steinberg, 1991**).

En outre, les LDL oxydées (Ox-LDL) sont de puissants inhibiteurs de la mobilité des macrophages, ce qui peut promouvoir le maintien de ces derniers dans la paroi artérielle et favoriser la dysfonction endothéliale et l'athérogénèse (**Singh et Jialal,2006**).

Plusieurs voies enzymatiques contribuent au niveau de la paroi artérielle à la production de différents oxydants tels que la NADPH oxydase, la NOS, la MPO, la xanthine oxydase, la LOX, COX et la CRM. Ainsi, la NADPH oxydase endothéliale est une importante source d'ERO dans les vaisseaux sanguins alors que la NOS se trouve dans les cellules du muscle lisse vasculaire et les macrophages activés au niveau des lésions athérosclérotiques (**Murthy et al.,2004**).

D'autre part, l'enzyme MPO catalyse la conversion de l'ion (Cl⁻) en acide hypochloreux (HOCL), celui-ci est le précurseur des chlorhydrines et des radicaux tyrosyls qui participent à des réactions d'oxydation des LDL (**Malle,2000**). Quant à la LOX, c'est une di-oxygénase qui oxyde les acides gras poly-insaturés en hydro-péroxydes d'acides gras. Selon **Kuhn, (2005)**, les espèces réactives d'oxygène mitochondriales sont étroitement associées à l'augmentation du risque d'athérosclérose.

V.1.2. Insuffisance cardiaque (IC)

Le SO est impliqué dans la progression de l'IC, il est à l'origine de l'induction de l'apoptose myocytaire ou encore de l'hypertrophie cardiaque (**Takano et al.,2003 ; Monteil,2004**).

La mitochondrie est le site principal de production des ERO, mais également la cible privilégiée de leurs actions délétères et joue un rôle important dans la pathologie cardiaque. Ceci a été montré expérimentalement par **Ide et al., (1999 ; 2001)** ayant observé une augmentation de

la production mitochondriale d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). Cette production d'ERO se traduit par une altération des macromolécules mitochondriales.

D'autre part, la peroxydation lipidique produit des aldéhydes tels que le 4HNE, qui inactive l'isocitrate déshydrogénase mitochondriale. L'altération de cette enzyme clé du métabolisme énergétique myocytaire, intervient précocement au cours du développement de l'hypertrophie cardiaque et suggère fortement l'implication du SO dans les altérations métaboliques observées au cours de l'IC (**Benderdour *et al.*,2003**). De plus, l'ADN mitochondrial peut également être touché et contribuer au dysfonctionnement myocytaire (**Ide *et al.*,2001**).

La xanthine-oxydase et la NADPH oxydase sont activées au cours de l'IC (**Jong *et al.*,1990 ; De Biase *et al.*,2003**), du fait qu'elles participent au développement de l'hypertrophie de la cellule musculaire lisse (**Sorescu et Griendling,2002**).

En outre, les catécholamines sont des acteurs indispensables dans la régulation de la fonction cardiaque. Toutefois, elles sont rapidement oxydées en produits radicalaires hautement réactifs, qui sont les initiateurs de la cardiotoxicité. En concentration élevée et prolongée, les catécholamines produisent des effets délétères sur l'appareil cardio-vasculaire (**Dhalla *et al.*,2002**), ce qui induit une surcharge intracellulaire en calcium responsable d'une altération de la contractilité (**Tsien *et al.*, 1986 ; Dhalla *et al.*, 2000**).

Par ailleurs, la fonction endothéliale vasculaire est principalement déterminée par la biodisponibilité de l'oxyde d'azote (NO) qui est un médiateur de la vaso-relaxation. Étant donné que l'IC est liée à un SO qui se traduit par une production accrue de RL dans la paroi vasculaire, les anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) réduisent l'expression et l'activité de la NOS (oxyde nitrique synthase) dans les cellules endothéliales (**Gryglewski *et al.*,1986**), ce qui aggrave la diminution de la disponibilité en NO.

V.1. 3. Ischémie-reperfusion

Un accident ischémique se développe lorsque l'apport sanguin notamment en oxygène, est insuffisant ou stoppé. L'agression tissulaire hypoxique qui en résulte peut avoir des conséquences dramatiques sur le cœur, le cerveau, le rein, le tube digestif, le muscle, etc.) (**Van- Poucke *et al.*,2002**). Lorsque l'obstacle est levé, la perfusion restaurée et l'oxygénation tissulaire est de nouveau possible, une aggravation de l'état initial et une nécrose tissulaire sont observées (**MC Cord, 1985 ; Hallenbeck et Dutka,1990**).

La dénomination "*Ischémie -Reperfusion*" rappelle que les dégâts tissulaires liés à une interruption ou une réduction du flux sanguin, sont le résultat de deux phénomènes : l'effet direct de l'hypoxie-ischémie et l'effet indirect de la reperfusion -réoxygénation.

Les lésions observées se créent essentiellement lors de la phase de reperfusion (**Babior, 2000**). Le processus d'ischémie-reperfusion a été étudié beaucoup plus chez l'Homme et les lésions observées ont été attribuées aux ERO libérées par les neutrophiles pendant la première phase de reperfusion ; ces ERO sont d'origine mitochondriale, puis elles prennent naissance des neutrophiles activées par la MPO (**Tissier, 2011**).

En effet, pendant la phase d'ischémie, l'ATP ne peut pas être produite par le métabolisme aérobie. Lorsque la reperfusion a lieu, la xanthine oxydase catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine puis en acide urique, ce qui forme des anions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$). Ces derniers provoquent des lésions oxydatives immédiates par leur conversion en autres ERO (**Tissier, 2011**), de plus, des arythmies cardiaques sont observées lorsque le processus concerne le myocarde (**Jungbluth, 2008**).

D'autre part, certaines ERO tel que le (HOCl) entraîne l'inhibition de la pompe Ca^{2+} ATPase par oxydation des groupements thiols et empêchent la séquestration du Ca^{2+} dans le réticulum endoplasmique ce qui augmente la concentration intracellulaire en Ca^{2+} et l'activation des enzymes suivantes (**Cook et al., 2012**) :

- Les endonucléases conduisant à la fragmentation de l'ADN ;
- Les protéases entraînant la fragmentation des protéines et la conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase ;
- Les phospholipases hydrolysant les phospholipides et initiant l'agrégation plaquettaire.

V.1.4. Diabète

L'hyperglycémie conduisant à un état de SO, peut être impliquée dans de nombreuses complications du diabète (néphropathie, rétinopathie et neuropathie) (**Baynes et Thorpe, 1999 ; Rosen et al., 2001**), en particulier par la production d'AGE et l'oxydation des macromolécules.

Plusieurs mécanismes peuvent être impliqués dans la genèse d'un SO dans des conditions d'hyperglycémie chronique : auto-oxydation du glucose, surproduction des radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) par la CRM et par activation de la NADPH oxydase vasculaire, et formation des AGE. La surproduction de ces radicaux superoxydes est accrue en présence de fortes concentrations de glucose (**Nishikawa et al., 2000**).

En outre, les cellules vasculaires telles que les cellules endothéliales ou les cellules musculaires lisses sont capables de produire des ERO via l'activation des NADPH oxydases (Jones,2002). De fortes concentrations de glucose stimulent la production d'ERO en activant la NADPH oxydase par une voie dépendante de la protéine kinase C (Inoguchi *et al.*,2000).

A l'inverse, un déficit intracellulaire en NADPH a pour conséquence une faible régénération du GSH à partir du GSSG. La diminution du rapport (NAD⁺ /NADH) conduit par ailleurs à une chute de l'activité glycolytique (figure 11) (Packer *et al.*,2001).

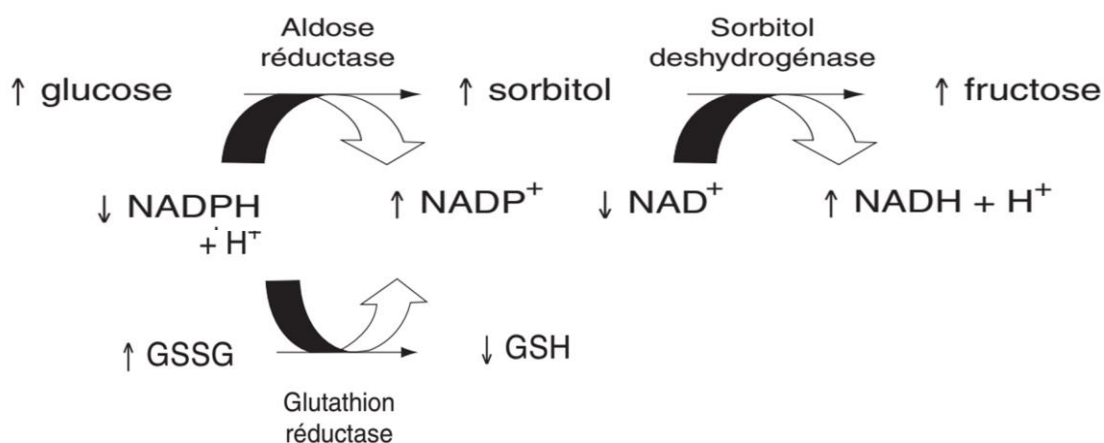


Figure 11 : Voie des polyols et stress oxydant (Packer *et al.*,2001).

Chez les diabétiques, les protéines carbonylées sont augmentées (Telci *et al.*, 2000 et Cakatay *et al.*,2000), ainsi que le taux de la 8-OH-DG (Dandona,1996). Néanmoins, le système anti-oxydant représenté par la SOD-Cu/Zn, la SOD-Mn, la CAT, la GPx, la GSH et la Vit E est diminué (Jain et Vie,1994 ; Bonnefont-Rousselot, 2003a).

IV. Insuffisance rénale (IRA)

L'IRA désigne un syndrome caractérisé par une diminution rapide (en heure ou en jour) des capacités du rein à éliminer les déchets et à maintenir l'homéostasie acido-basique et électrolytique. Cette perte des capacités d'épuration rénale se manifeste par l'accumulation des produits finaux du catabolisme azoté (urée et créatinine) avec une accumulation d'acides non volatils (Bagshaws et Bellomo,2007).

Sur un plan microscopique, le SO de l'ischémie/reperfusion entraîne la formation des ERO notamment l'oxyde nitrique, ce qui aboutit à la synthèse d'un métabolite cytotoxique principal le

peroxynitrite. Cette molécule induit une cascade de peroxydation des lipides avec une augmentation de la perméabilité des membranes plasmiques, lysosomales, mitochondriales et des lésions de l'ADN (Noiri *et al.*, 2001). Ces peroxynitrites (ONOO⁻) via un phénomène de SO, jouent un rôle central dans l'apparition d'une IRA (*figure 12*).

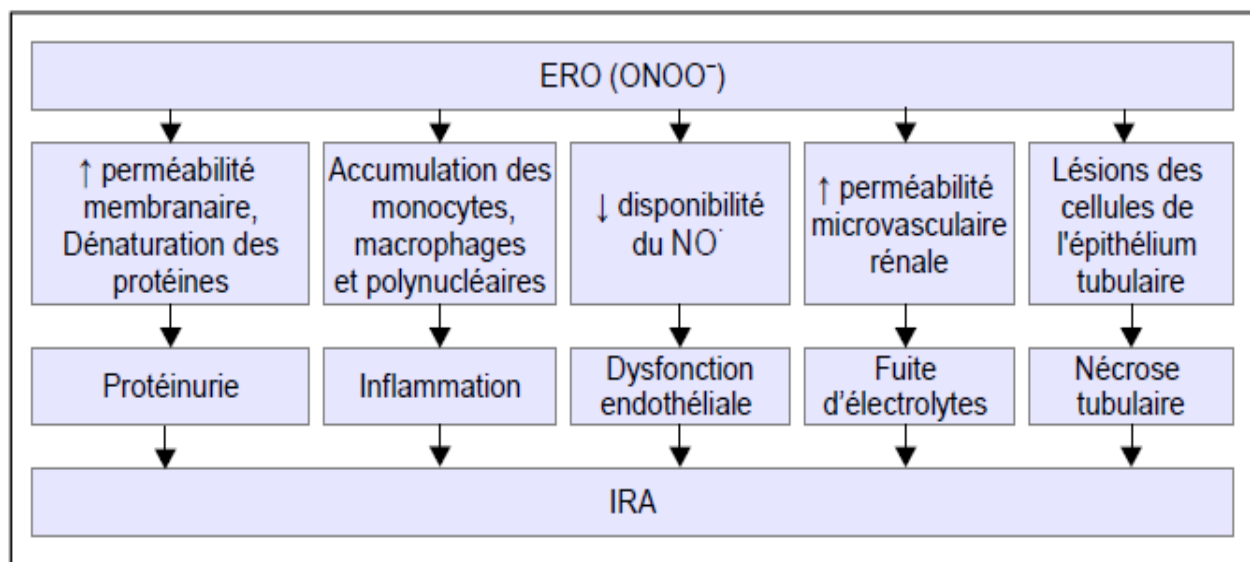


Figure 12 : L'interaction du stress oxydant avec l'insuffisance rénale (Zahmatkesh *et al.*, 2006)

IV. 3. Vieillesse

Le vieillissement est l'ensemble des processus physiologiques et psychologiques qui modifient après la phase de maturité, la structure et les fonctions de l'organisme d'un être vivant sous l'action du temps. Les ERO induisent des dommages oxydatifs moléculaires responsables du vieillissement (De Jaeger, 2011).

L'accumulation de produits d'oxydation des biomolécules au niveau plasmatique et au niveau cellulaire est responsable de dégâts organiques. Les RL attaquent les membranes cellulaires, ce qui produit un déchet métabolique appelé lipofuschine, qui par accumulation dans l'organisme apparaît sur la peau en formant des « tâches de vieillesse ». Différents travaux chez des sujets âgés, ont montré une augmentation de l'oxydation des lipides (Spiteller, 2001) et des protéines (Stadtman, 2001) avec une baisse significative des activités de la Cat et de la GPx (Guemouri *et al.*, 1991) et les concentrations plasmatiques en GSH (Kharb *et al.*, 2000). En outre, des dommages oxydatifs de l'ADN évalués par la mesure du 8-OH-DG au niveau urinaire sont significativement élevés en cas du vieillissement (Mendoza *et al.*, 2001 ; Tsurudome *et al.*, 2001).

IV.4. Cancer

Le cancer est une maladie multifactorielle causée par des facteurs internes comme (les mutations héréditaires, les hormones et les conditions immunitaires) et des facteurs environnementaux tels que (le tabac, l'alimentation, les rayonnements et les agents infectieux). Ces facteurs modulent les proto-oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs et les gènes de réparation de l'ADN à travers des intermédiaires cellulaires (dont les plus importants sont les ERO (**Sadikovic, 2008 ; Storz et al., 2013**)).

Les ERO générés de façon exogène ou endogène, vont contrecarrer les mécanismes de défenses antioxydantes des cellules normales et induisent des lésions de l'ADN. En effet, l'accumulation des dommages d'ADN entraîne une mutagenèse et par conséquent une prolifération cellulaire combinée à une déficience de la voie apoptotique. À l'inverse, les cellules tumorales ont des mécanismes antioxydants de régulation notamment, le glutathion, la SOD, la CAT, la GPx, etc. qui les protègent comme rapporté en cas de radiorésistance (**Visconti et Grieco, 2009 ; Kryston et al., 2011**).

Les ROS agissent comme messagers secondaires en modifiant la régulation redox du glutathion (GSH), il en résulte une activation de la thiorédoxine (TRX) qui active le facteur de transcription NF- κ B (**Palmer et Paulson, 1997**).

Dans les conditions normales, ce facteur de transcription est inactif dans le cytoplasme, mais une fois activé, le NF- κ B migre dans le noyau et participe à la synthèse de nombreux médiateurs, tels que les protéines d'adhésion impliquées dans le processus du développement du cancer. De plus, les ROS peuvent spécifiquement activer certaines voies de signalisation y compris les kinases et les facteurs de transcription qui sont impliqués dans la migration et l'invasion des cellules cancéreuses (**Storz, 2013**).

IV.5. Maladie de Parkinson (MP)

Le SO est potentiellement impliqué dans la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire (SN) (**Desport, 2002**). Ces neurones sont exposés à de grandes quantités de RL, dont une partie provient du catabolisme de la dopamine selon deux voies principales : a) une dégradation non enzymatique, dite auto-oxydation et b) une dégradation par oxydation. La dégradation par auto-oxydation produit des semi-quinones qui par polymérisation de la neuromélanine génère des RL. Suite à sa forte affinité pour le fer, la neuromélanine possède des propriétés oxydo-réductrices (**Ben-Shachar et Youdim, 1990**), qui transforment l'oxygène en

peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et une capacité d'amplifier la dismutation de l'anion superoxyde (O₂^{•-}) en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Swartz *et al.*, 1992).

La dégradation par oxydation, utilise la mono-amine oxydase (MAO) et produit également du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Une autre source de RL est constituée par la CRM des neurones dopaminergiques (Spina et Cohen, 1989).

Enfin, le SN est une des régions cérébrales les plus riches en fer, qui favorise la formation de RL à partir du H₂O₂ par la réaction de *Fenton*. Il est possible qu'un dysfonctionnement d'un de ces systèmes producteurs de RL puisse conduire à un SO qui favorise la destruction des neurones dopaminergiques au cours de la Maladie de Parkinson (Sofic *et al.*, 1991).

IV.6. Maladie d'Alzheimer (MA)

Il s'agit d'une maladie neurodégénérative du tissu cérébral qui entraîne la perte progressive et irréversible des fonctions mentales et de la mémoire. Le cerveau est riche en métaux de transition et AGPI potentiellement peroxydables. Sa faible concentration en enzymes anti-oxydantes en comparaison à d'autres tissus, le rend exposé au SO. La peroxydation lipidique semble jouer un rôle clé dans les déplétions de la membrane phospholipidique neuronale constatées dans la MA et est responsable de modifications de sa fluidité avec une inactivation des récepteurs ou d'enzymes membranaires (Lovell et Markesbery, 2007a).

Les bases nucléiques sont susceptibles d'être oxydées, ce qui serait à l'origine de mutations génétiques ou de défauts de transcription. L'altération de l'ADN contribue au dysfonctionnement et à la mort cellulaire (Lovell et Markesbery, 2007b). Les anomalies de morphologie et de fonction des mitochondries sont bien documentées dans la MA (Sultana et Butterfield, 2009 ; Swerdlow *et al.*, 2010). La présence de mitochondries défectueuses et l'augmentation de RL qui s'ensuit ont été mises en cause dans le déclenchement de la mort programmée des cellules (Eckert *et al.*, 2003).

Les métaux (aluminium, Cuivre, fer et Zinc) jouent un rôle de catalyseur essentiel dans la formation de RL (Christen, 2000 ; Huang *et al.*, 2009). Ainsi, le fer, dont la concentration est élevée dans le cerveau des sujets atteints de MA, contribue à travers la réaction de *Fenton* à la formation du radical hydroxyle (OH[•]) (Smith *et al.*, 2012).

IV.7. Obésité

Au cours de l'obésité, l'accumulation excessive des lipides stimule le développement du tissu adipeux en activant la prolifération des pré-adipocytes, leur différenciation en adipocytes et en augmentant la taille des adipocytes (**Mohinder et Naveen, 2014**). Or, il a été montré que le peroxyde d'hydrogène favorise la différenciation des pré-adipocyte en adipocyte, en régulant positivement des activateurs transcriptionnels tels que le Enhancer Binding Protein- β (C/EBP- β) et le «Peroxisomal Proliferator Activated Receptor - γ » (PPAR- γ), intervenant dans le programme de différenciation adipocytaire (**Jialal et Devaraj, 1996**). En outre, les ERO jouent un rôle dans le contrôle du poids, en agissant au niveau de l'hypothalamus, zone où sont localisés de nombreux neurones permettant le contrôle de la satiété ou de la faim (**Alfadda et Sallam.,2012**).

En effet, l'étude de **De Marchi et al., (2013)** précise l'existence d'une relation entre l'obésité et le stress oxydant basée sur le rôle clé de la protéine kinase C (PKC) et de la protéine Shc (p66Sch Shc « Src-homology 2/ α collagen-related », toutes deux sensibles au stress oxydant et impliquées dans les maladies cardiovasculaires et l'obésité (**Pincemail et al.,2000 ; Liu et al., 2001**).

Dans le même contexte, les études de **Townsend et al., (2003)** et **Franco et al., (2013)** menée sur des rats rendus obèses, ont rapporté une preuve supplémentaire de la relation entre l'obésité et le stress oxydant, suite à une augmentation des TBARS et une diminution des activités de la SOD et de la GPx au niveau du plasma et du foie.

D'autre part, le stress oxydant augmente avec le degré d'obésité. En effet, l'élévation des TBARS et de la 8-epi-prostaglandine F2- α au niveau plasmatique, est corrélée avec l'indice de masse corporelle et le tour de hanche (**Olusi, 2002 ; Keany et al.,2003**).

Chez l'Homme, l'association de l'obésité à un état de stress oxydant, a été montrée par (**Jones,2002 ; Keaney et al.,2003**) chez environ 3000 sujets obèses issus de la cohorte Framingham, grâce au suivi de la concentration des isoprostanes urinaires, qui constituent un des marqueurs les plus pertinents du stress oxydant (**Fang, 2002**).

Il a été démontré que les concentrations en antioxydants tels que les vit (C, E, et les caroténoïdes) et des minéraux (zinc, sélénium et magnésium) sont plus faibles chez les personnes obèses comparativement aux non-obèses, tant chez les enfants que chez les adultes (**Goldstein et al.,1980 ; Brown et Goldstein,1983**). En conclusion, le stress oxydant est donc à la fois induit par l'obésité, mais favorise aussi l'accumulation des graisses, ce qui crée un cercle vicieux.

IV.8. Fertilité masculine

Selon l'OMS, le facteur de la moitié des cas d'infertilité est masculin. Cette maladie touche environ un homme sur 20 et des altérations quantitatives et/ou qualitatives des spermatozoïdes sont présentes.

Une des principales causes de l'infertilité masculine est le stress oxydatif, environ 30 à 40 % des hommes infertiles présentent des niveaux élevés de ROS dans le liquide séminal (**Ben ali,2012**) avec un ADN fragmenté (**Tuo et al.,1991**). D'autre part, l'augmentation des ROS perturbe l'intégrité de l'ADN des spermatozoïdes et réduit leur mobilité, mais limite également, le potentiel de fertilisation de ces cellules (**Lopes et al.,1998 ; Aitken et al.,2010**).

La présence d'acides gras polyinsaturés dans les membranes des spermatozoïdes et la grande affinité des (ROS), déclenchent une peroxydation lipidique, dont l'un des produits intermédiaires est le Malonyl-dialdéhyde (MDA). Celui-ci se fixe sur les bases de l'ADN induisant des anomalies structurales et une réduction de la capacité de conjugaison spermatozoïdes-ovocytes, ce qui réduit le taux de la fécondation (**Haiba,2014**).

Le principal mécanisme des ROS dans les spermatozoïdes est la réaction redox NAD⁺ dépendante au niveau mitochondrial. En effet, les spermatozoïdes sont riches en mitochondries suite à leur besoin important d'énergie nécessaire à leur mobilité. La plus fréquente des ROS dans les spermatozoïdes est l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) qui se dimérise pour donner le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence de métaux comme le fer ou le cuivre, le H_2O_2 et l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) subissent une réaction qui produit une substance extrêmement toxique, l'ion hydroxyde (OH^-), qui est un puissant initiateur de la cascade d'oxydation lipidique protéiques et de l'ADN (**Ben ali, 2012**).

VI. MAINTIEN DE LA BALANCE ANTIOXYDANT/PRO-OXYDANT

VI.1. Système antioxydant enzymatique endogène

VI.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

La SOD est une métalloprotéine antioxydante primaire, elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) selon la réaction suivante (**Mandelker, 2008**).



La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leurs localisations cellulaires, la nature de leur site actif, leur composition en acides aminés et leurs cofacteurs métalliques. Ainsi, la SOD à cuivre et à zinc (*Cu, Zn-SOD*), intracellulaire située dans le cytoplasme et l'espace intermembranaire des mitochondries ; elle remplit une action antioxydante importante dans l'espace intermembranaire mitochondrial où il y a une accumulation importante de protons. En effet, les anions superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) entrants dans cet espace seront immédiatement dismutés par la *Cu, Zn-SOD* afin d'éviter la formation des radicaux plus réactifs notamment l'hydro-pyroxyle (HO_2^{\cdot}). Cette action antioxydante évite l'oxydation des acides gras polyinsaturés, et par conséquent protège des réactions en chaîne dans cette partie cellulaire riche en lipides insaturés (**Rahman, 2013**).

Une autre (*Cu,Zn-SOD*) extracellulaire principalement dans la matrice extracellulaire des tissus et à un degré moindre dans les liquides extracellulaires des tissus (plasma, lymphe) ; elle joue un rôle important dans la protection des surfaces cellulaires et des protéines de la matrice extracellulaire contre l'action des anions superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Une SOD à manganèse (*Mn-SOD*) qui est située à la fois dans la matrice et au niveau de la membrane interne de la mitochondrie (**Zelko et al.,2002**).

La distribution de ces différents isoformes varie selon le tissu. Dans le muscle, environ 65% à 85% de l'activité de la SOD se trouvent dans le cytosol et le reste dans les mitochondries. Les plus hauts niveaux de la superoxyde dismutase se trouvent dans le foie, la glande surrénale, les reins et la rate (**Scheibmeir et al.,2005**).

VI.1.2. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase est une enzyme dépendante du sélénium qui a une forte affinité pour le peroxyde d'hydrogène ; elle permet donc l'élimination du peroxyde d'hydrogène, même présent à faible concentration, selon la réaction suivante :

Le glutathion agit comme un co-substrat de la glutathion peroxydase. Cette réaction met en jeu deux molécules anti-oxydantes non enzymatiques, le glutathion réduit (*GSH*) comme donneur de proton pour former le glutathion disulfure (GSSG) selon les réactions suivantes (**Akbas et al.,2005**) :



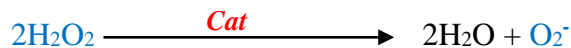
Le maintien de l'activité de la GPx nécessite la régénération du glutathion (*GSH*) assurée par le *glutathion réductase* selon la réaction :



Cette enzyme est majoritairement localisée dans le cytoplasme et une faible partie dans la mitochondrie. Par ailleurs, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produit au niveau des mitochondries et du cytoplasme est beaucoup plus éliminé par la GPx que la catalase (**Halliwell et Gutteridge, 1986 ;1988**).

VI.1.3. Catalase (Cat)

C'est une enzyme héminique composée de quatre chaînes polypeptidiques. Son site catalytique permet l'élimination du peroxyde d'hydrogène, présent à haute concentration, selon la réaction globale suivante :



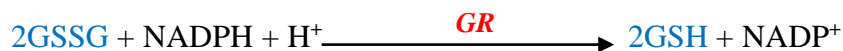
Quatre molécules de NADPH, liées à la catalase, confèrent à cette enzyme une protection contre l'attaque de H_2O_2 . Contrairement à la GPx, l'affinité de la catalase pour l' H_2O_2 est élevée uniquement quand les teneurs en peroxydes d'hydrogène sont accrues (**Buldak et al., 2014**). Son activité est particulièrement abondante dans les globules rouges, le foie, les reins et les poumons. La catalase joue un rôle important dans la détoxification des peroxysomes contre l' H_2O_2 (**Powerrs et Jackson, 2008**).

Cette enzyme est localisée principalement dans les peroxysomes, les mitochondries et faiblement dans le cytosol (**Deaton et marlin, 2003**).

VI.1.4. Glutathion réductase (GR)

Cette enzyme appartient à la famille des *flavoprotéines b disulfures oxydo-réductases*. Son rôle est la régénération du GSH à partir de GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur

d'électron. La GR est chargée de réduire le *disulfure de glutathion* suivant la réaction ci-après (Srinivason *et al.*, 2012).



En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de la régénérer constamment pour que la GPx maintienne sa fonction. La (figure 13) résume l'action antioxydante du système enzymatique endogène (Powerrs et Jackson, 2008).

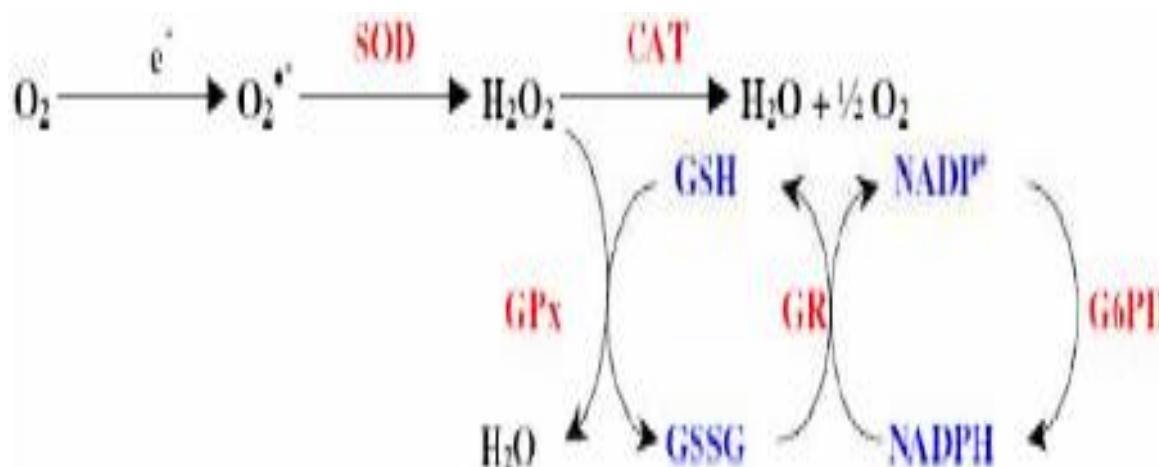


Figure 13 : Système antioxydant enzymatique endogène (Srinivason *et al.*, 2012).

VI.2. Système antioxydant non enzymatique endogène

VI.2.1. Glutathion

Le GSH est le majeur thiol disulfure représentant la solution tampon du redox de la cellule. Il est synthétisé à partir du L-glutamate, L-cystéine et la glycine. Le foie est la principale source de la synthèse du glutathion, il est abondant dans le cytosol, le noyau et la mitochondrie (Rahman, 2007). Le groupement actif de glutathion est le sulfhydryle (-SH) de la cystéine (Deaton et Martin, 2003).

En effet, lors de l'oxydation du glutathion, deux molécules de GSH se lient en formant un pont disulfure (S-S) par l'oxydation du groupement SH de chaque cystéine, il en résulte la formation de GSSG. Les principaux rôles de protection du glutathion sont comme suit (Rahman, 2007) :

- Il agit comme cofacteur de plusieurs enzymes de détoxification,
- Il participe dans le transport des AA à travers la membrane plasmique,

- Il piège les réactions hydroxyles et l'oxygène singulet ($1O_2^{\bullet}$) directement et régénère les vit (C et E) en leurs formes actives.

VI .2.2. Vitamines

a/-Vitamine A

La vit A est un nom générique pour les rétinoïdes (rétinol et Ac rétinoïque) et la provitamine A ou caroténoïdes notamment, la β -carotène, la lutéine et le lycopène. La β -carotène est le principal précurseur de la vit A (**Rao et Rao,2007**), elle est douée de plusieurs capacités, elle capte l' O_2 singulet sous faible pression d' O_2 et avec les autres caroténoïdes, elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante en s'opposant à la génotoxicité de nombreux agents (**Valko et al.,2006**).

b/-Vit C

Elle n'est pas synthétisée par l'organisme, elle est hydrosoluble à la concentration physiologique. Une vaste gamme de ROS tels que les ions hydroxyles, les radicaux pyroxyles, les anions superoxydes et les acides hypochloreux, les espèces réactives de nitrogène (peroxynitrites) et les radicaux dérivés des antioxydants notamment, les (radicaux α - tocophéroxy et l'urate) sont éliminés par la vit C (**Rahman, 2007**).

De plus, elle empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives d' O_2 (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées myéloperoxydases...). Lors de l'oxydation de la vit C en acide déhydro-ascorbique, elle perd une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vit E oxydée (**Powers et Jackson,2008**).

c/- Vit E

La forme naturelle de la vit E inclue 4 tocophérols isomères (α , β , γ et δ) (**figure 14**) et la forme α est la plus active (**Carr et al.,2000**). Etant liposoluble, elle se fixe aux membranes cellulaires et les lipoprotéines circulantes (**Fusco, 2007**) ce qui stoppe la propagation des réactions de peroxydation lipidique en captant un radical lipidique pyroxy (LOO \bullet). La vit E devient alors à son tour un radical (tocophéroxy) moins réactif que le radical pyroxy (LOO \bullet) qui pourra être pris en charge par une molécule antioxydante (**Khalil, 2002 ; Deaton et Marlin, 2003**).

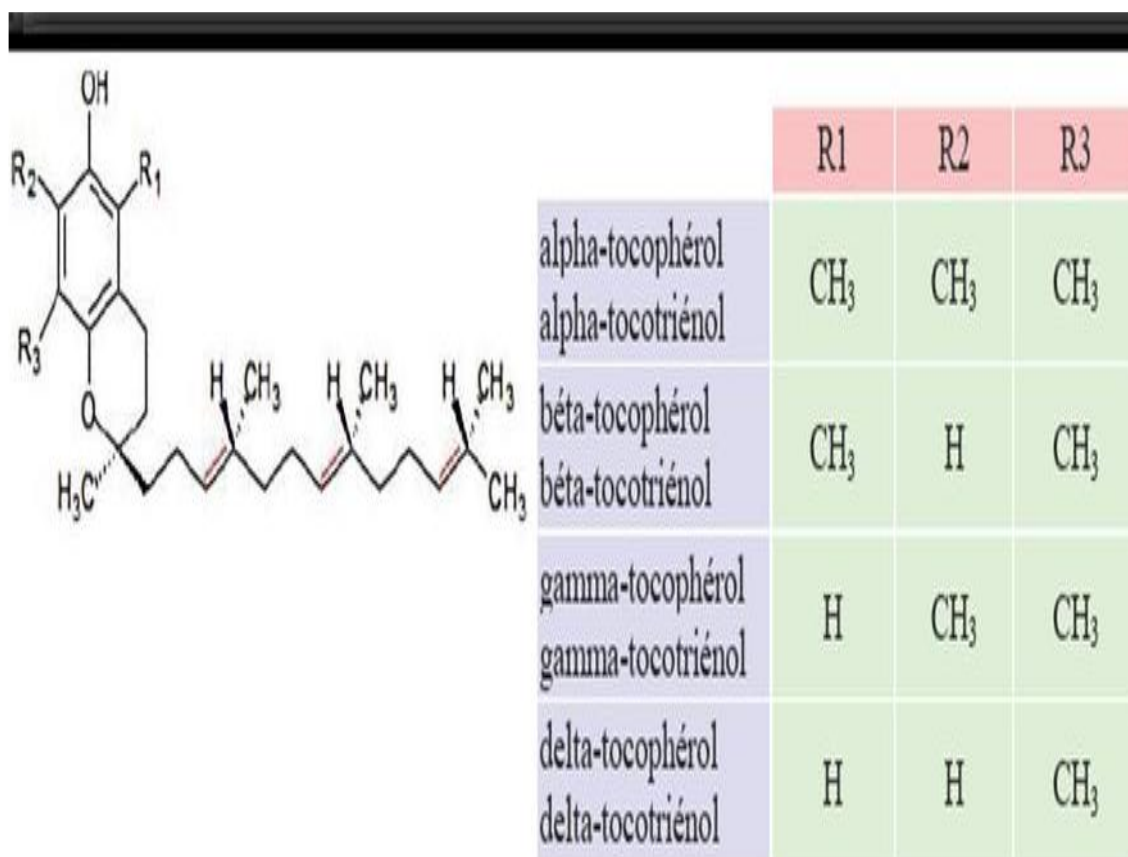


Figure 14 : Structure chimique de la Vitamine E. (Les doubles liaisons indiquées en rouge ne sont pas présentes dans les tocophérols) (Hoppe et Krennrich, 2000).

VI .2. 3. Oligoéléments

II.2.3.1. Sélénium (Se)

Le Sélénium est un micronutriment primordial dans le maintien des défenses antioxydantes (**Burk, 2002**). Son rôle clé est dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif de la glutathion peroxydase séléno-dépendante. Son activité anti-radicalaire est complétée par ses propriétés immuno-modulatrices (**L'huillier,2007**).

Le sélénium permet de maintenir un pool intra lymphocytaire de **GSH**, ce qui protège la membrane des groupements thiols (**Hawkes et al.,2002**). Ce rôle protecteur est complété par d'autres fonctions essentielles telles que son rôle de détoxification des métaux lourds notamment, le mercure, le plomb et le cadmium ainsi que son effet activateur dans la métabolisation des xénobiotiques (**Delattre et al.,2005**).

VI .2.3.2. Zinc (Zn^{+2})

Il joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la *SOD-Cu/Zn*. Le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes (**Powell, 2000**):

- Il inhibe la production des ERO, car il entre en compétition avec le fer et le cuivre pour diminuer leur absorption intestinale et d'autres part, en réduisant la chélation de ces derniers par la cystéine ;
- Il protège les groupements thiols (*SH*) des protéines contre l'oxydation induite par le fer en empêchant la formation des ponts disulfures intramoléculaire ;
- Il inhibe la peroxydation lipidique provoquée par un mélange $FeSO_4$ /Ac. Ascorbique au niveau des liposomes et des micelles lipidiques ;
- Il joue un rôle important au niveau membranaire en ayant un effet stabilisateur. Les concentrations les plus élevées se trouvent dans la prostate, la rétine, le muscle, l'os, le foie et le rein (**Stehbens, 2003**).

VI .2.3.4. Cuivre (Cu^{+2})

Le cuivre est un cofacteur essentiel de la SOD étant donné sa facilité à passer de l'état réduit à l'état oxydé (**Strayer, 2006**). Les activités de la *SOD-Cu/Zn* et la *céruléoplasmine* sont sensibles au déficit en cuivre ; une carence diminue l'activité de certains enzymes ne contenant pas le cuivre comme la Cat et la GPx et modifie d'autres piègeurs des ERO comme la métallothionéine (protéine contenant le cuivre et le zinc) et le thiol non protéique de glutathion (**Janet et al.,2005**).

Cependant, plusieurs études ont montré une augmentation du taux sérique en cuivre au cours du processus du vieillissement, ce qui explique que, cet élément joue à la fois le rôle de protecteur ou d'activateur d'une peroxydation lipidique (**Del Corso et al.,2008**).

VI .2.3.5. Ubiquinone (Q_{10})

Le coenzyme Q_{10} ubiquinone est un transporteur d'électron présent dans la chaîne oxydative mitochondriale, les membranes cellulaires, le plasma et les lipoprotéines ; il est capable de donner des électrons et permet à ce titre une protection des membranes contre la lipo-peroxydation (**Powers et Jackson, 2008**). Il assure ainsi un recyclage de la vit E par réduction de

la forme oxydée, ce qui amplifie son rôle protecteur contre la formation et la propagation des radicaux peroxydes (Ernster et Forsmark-Andree, 1993).

V.2.3.6. Bilirubine

C'est le produit de dégradation de l'hème (hémoglobine). Ses propriétés antioxydantes sont liées à sa capacité de lutter contre les radicaux peroxydes (ROO•) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Powers et Jackson, 2008) et de piéger l'oxygène singulet (¹O₂) protégeant de ce fait l'albumine et les acides gras liés à l'albumine, des attaques radicalaires (Neuzil et Stocker, 1993).

La bilirubine est transformée en biliverdine oxydée, qui sera recyclée grâce à la biliverdine réductase aux dépens d'une molécule de NADPH (Liu, 2006).

V.2.3.7. Ac. lipoïque

C'est un cofacteur d'un complexe enzymatique du cycle de Krebs « *complexe cétooglutarate-déshydrogénase* ». Il piège certains ERO telles que l'oxygène singulet (¹O₂), le radical (HO•) et l'acide hypochloreux (HClO) ; il chélate certains métaux de transition et participe au recyclage d'autres antioxydants notamment la vit C et vit E. L'acide lipoïque augmente la concentration en glutathion en favorisant sa régénération à partir du GSSG (Packer *et al.*, 1995).

V.2.3.8. Acide urique

C'est un produit final du métabolisme des purines. C'est le meilleur antioxydant du plasma *in vivo*, où il peut contribuer de 35 à 60% de la capacité antioxydante totale (Warning *et al.*, 2003 ; Bailey *et al.*, 2007). Il agit comme un donneur d'électron capable de stabiliser les radicaux hydroxyles, peroxydes et l'oxygène singulet (Powers et Jackson, 2008).

L'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne, puis il est régénéré par la vit C (Hellsten *et al.*, 2001).

V.2.3.8. Mélanine

Les mélanines sont des pigments formés par oxydation et polymérisation de la tyrosine par la tyrosine hydroxylase. Les mélanines noires et marron présentes sur la peau protègent des rayonnements ultraviolets. Elles se comportent comme des radicaux libres en particulier, l'anion

peroxyde ($O_2^{\bullet\bullet}$) qui est produit lors d'élimination de la mélanine et du radical peroxyde ($RO_2^{\bullet\bullet}$) (Korytowski *et al.*, 1986).

V.2.3.9. Mélatonine

C'est une hormone produite par méthylation de la sérotonine au niveau de la glande pinéale. Elle régule le rythme circadien, sa concentration est basse le jour et s'accroît la nuit. La mélatonine est capable de piéger plusieurs espèces radicalaires, mais sa capacité à rompre les chaînes de peroxydation lipidique est limitée (Wakatsuki *et al.*, 2000 ; Delattre *et al.*, 2005).

V.2.3.10. Polyphénols

Ils regroupent une grande variété de composés comprenant les flavonoïdes, les anthocyanes et les tannins. Ce sont des molécules chimiques produites par les plantes (Galleano *et al.*, 2010). Ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, les superoxydes, les peroxydes et le taux de bases oxydées d'ADN (8 OH-désoxy-guanine). Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Delattre *et al.*, 2005).

Par ailleurs, la famille la plus abondante des polyphénols est les flavonoïdes, dont l'effet protecteur est lié à leur capacité d'activer des enzymes antioxydantes, réduire les radicaux de l' α -tocophérol, inhiber les oxydases (Heim *et al.*, 2002), catalyser le transport des électrons et piéger les radicaux libres tels que les anions superoxydes (Lemanska *et al.*, 2001).

V.2.3.11. Hormones sexuelles (œstrogène)

Les hormones sexuelles femelles (œstradiol, œstrone et oestriol) inhibent la peroxydation lipidique des LDL ; cet effet est lié à la présence d'un hydroxyle phénolique dans leur structure, particularité identique à la vit E.

En effet, certaines études ont montré que les LDL isolées des femmes ménopausées traitées par du 17β -œstradiol étaient plus résistantes à la peroxydation induite par le cuivre *in vitro* que les LDL des femmes non traités (Sack *et al.*, 1994).

VI. Vit E

VI.1. Définition et structure

Le terme générique vit E regroupe deux grands groupes de molécules : les tocophérols et les tocotrienols, comprenant chacun différentes formes moléculaires (α , β , γ et δ) dépendant du nombre et de la position des groupements méthyles sur le cycle aromatique. Ainsi, la famille des tocophérols présente une chaîne latérale saturée tandis que celle des tocotrienols possède une chaîne latérale avec trois insaturations (**Jensen Lauridsen,2007 ; Aggarwal et al.,2010**).

Parmi les quatre tocophérols, l' α -tocophérol est la forme la plus présente dans l'organisme. C'est l'antioxydant majeur qui protège les membranes lipidiques en neutralisant les radicaux alkyl (R^\cdot), alkoxy (RO^\cdot) et peroxy (RO_2^\cdot).

VI.2. Principales sources de vit E et besoin physiologique

Les apports nutritionnels conseillés en vit E sont variables en fonction de l'âge et de l'état physiologique (**Tableau IV**) (**Martin,2001**). Ainsi, les besoins en vit E pour les adultes sont estimés à 12mg/jour alors que chez les enfants, ils sont compris entre 6 et 11mg/jour.

Tableau III : Apports Nutritionnels en Vit E conseillés (Martin, 2001).

<i>Catégorie de la population</i>	<i>Vitamine E mg /jour</i>
Nourrissons	4
Enfants de 1 à 3 ans	6
Enfants de 6 à 9 ans	7,5
Enfants de 7 à 9 ans	9
Enfants de 10 à 12 ans	11
Adolescents (es) (13 à 19 ans)	12
Adultes de sexe masculin ou féminin	12
Femmes enceintes	12
Femme allaitantes	12
Personnes âgées	20 à 50

Par ailleurs, l'EFSA, (European Food Safety Authority) a proposé un apport satisfaisant de 13 mg/j pour les hommes et 12 mg/j pour les femmes sur la base de l'apport moyen constaté dans un ensemble d'enquêtes nationales de consommation (ANSES,2016).

Des études chez l'homme ont montré qu'une supplémentation orale par la vit E augmente la résistance des LDL à l'oxydation (Jialal et Grundy,1993). Divers travaux ont également suggéré que l'apport en vit E augmente la concentration en HDL-Cs (Herberg *et al.*, 1996).

VI.3. Rôle biologique de la vit E

La vit E protège *in vivo* les structures moléculaires sensibles à l'oxydation notamment, les doubles liaisons des AGPI et les structures condensées riches en lipides comme les membranes cellulaires, et les lipoprotéines (Leger,1992). De même, elle empêche l'oxydation des bases nucléiques des brins d'ADN et des protéines (Duthie *et al.*,1996).

L' α -tocophérol est capable de piéger les radicaux $O_2^{\cdot -}$ et HO^{\cdot} , et de stabiliser l'oxygène singulet (1O_2). Mais, son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux ROO^* pour former un radical tocophéryle, qui peut se coupler avec un autre radical comme alkyl peroxy et conduit à la formation de peroxydes qui seront éliminés. Elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. La vit E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C, mais également par d'autres composés comme le glutathion (GSH), la vitamine A et l'ubiquinone (Delattre *et al.*,2005).

Des études expérimentales animales ont montré les effets bénéfiques d'une supplémentation en vit E notamment, la modulation de la réponse immunitaire, la diminution de la peroxydation lipidique, la réduction de la mortalité chez les souris brûlées et infectées (Kuroiwa *et al.*,1991 ; Lennon *et al.*,1993), une baisse d'accumulation intra- pulmonaire d'ERO, avec augmentation de la synthèse hépatique de protéines en réponse aux endotoxines (Grimble,1993).

VI.4. Interactions entre la vitamine E et certains antioxydants

Aucun facteur vitaminique ne peut être considéré isolément. En effet, l'activité de la plupart des vitamines dépend souvent d'un ou plusieurs autres nutriments (vitamines, minéraux et oligoéléments). Les interactions vitaminiques peuvent s'exercer au niveau de l'absorption intestinale, du métabolisme et des mécanismes d'action des vitamines. Les interactions vitaminiques se traduisent soit par des effets synergiques, ou par des effets antagonistes. Dans le premier cas, l'interaction des deux vitamines résulte en l'addition de l'effet de chacune des deux

vitamines tandis que dans le deuxième cas, l'interaction résulte en un effet supérieur à la somme des effets produits par chaque vitamine. Dans le troisième cas, la somme des effets est inférieure à l'effet propre de chaque vitamine (**Guilland, 2011**).

VI.4.1. Interactions entre les vitamines E et C

Le stress oxydatif induit des dommages irréversibles dans les molécules telles que les lipides, les protéines et l'ADN. La régénération du radical tocophéroxyde par la vitC est bien démontrée *in vitro*. Le mécanisme de cette synergie est basé sur la réduction des radicaux tocophéroxydes ($\alpha\text{-TO}\cdot$) par l'acide ascorbique pour régénérer l' α -tocophérol. La vitamine E serait régénérée à l'interface du cytosol (phase aqueuse/membrane cellulaire) et l'interaction ascorbate/radical tocophéroxyde serait facilitée par le positionnement du noyau chromanoxyde à proximité de la surface de la membrane (*figure 13*). Dans ce modèle, la queue phytyle du tocophérol est bien ancrée dans la double couche lipidique et le noyau chromanol « flotte » au contact de l'interface (phase aqueuse/phase lipidique), afin de rendre accessible la fonction hydroxyle oxydée en position 6 du noyau chromanol à l'ascorbate (**Niki et al., 1982**).

Cette réaction fait partie du système de protection anti-radicalaire des membranes biologiques (**Jacques et al., 1995**). En fait, la régénération de la vit E ne dépend pas que de l'ascorbate, le radical tocophéroxyde pourrait aussi arracher un électron à l'ubiquinol (coenzyme Q10) membranaire. De même, l'acide lipoïque, le glutathion et le β -carotène semblent interagir entre eux et avec la vit E, afin de maintenir la constance de l'état redox cellulaire. Un schéma hypothétique représenté par la (*figure 15*) résume ces interactions (**Bertinato et al., 2007**).

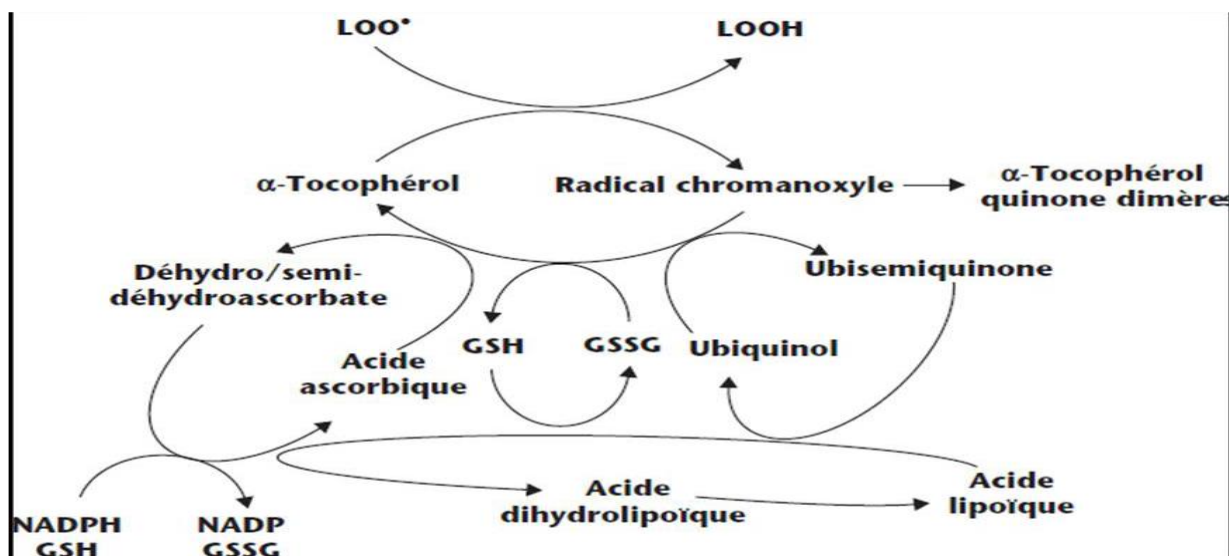


Figure 15 : Représentation de la régénération de la vitamine E à partir de sa forme radicalaire et synergies probables entre différents couples oxydo-réducteurs (Guilland, 2011).

VI.4.2. Interactions entre les vitamines E et A

Les mécanismes par lesquels la vitamine E épargne la vitamine A incluent une protection de la vitamine A de l'oxydation dans la lumière intestinale, une augmentation de l'absorption intestinale de la vitamine A et une élévation du stockage de cette vitamine.

Il existe une relation importante entre le niveau des réserves de vitamine A et la teneur du régime en vitamine E, cela a été établie par plusieurs auteurs (Sklan et Donoghue, 1982 ; Abawi et Sullivan, 1989).

Les résultats des études qui ont investigué les effets de l'administration de la vit A à 25 000 UI/j associée au β -carotène à 30 mg/j pendant six ans, a révélé une augmentation significative de la concentration sérique de l' α -Tocophérol. Des travaux antérieurs ont montré qu'un apport normal de vitamine E stimule la conversion du β -Carotène en vitamine A, alors que des doses élevées de vitamine E réduisent significativement la quantité de vitamine A formée et stockée dans le foie. Cet effet est observé même lorsque la β -carotène est administrée par voie intraveineuse avec l' α -tocophérol (Goodman *et al.*, 1994).

VI.4.3. Interactions entre les vitamines E et K

Bien que l'existence d'interactions entre les vitamines E et K soit connue depuis plus de 50 ans, les mécanismes impliqués ne sont pas encore élucidés.

La vit E pourrait avoir un effet anticoagulant en modulant le métabolisme de la vitamine K. L'étude de **Glynn *et al.*, (2007)** a montré que la consommation de suppléments de vitamine E diminue le risque de thrombose veineuse de 21 %. La vitamine K intervient à la phase post-transcriptionnelle de la synthèse de plusieurs protéines de la coagulation, dont le facteur IX, par une réaction de carboxylation qui transforme des précurseurs inactifs en protéines fonctionnelles. La vitamine E bloque cette réaction de carboxylation de la prothrombine, il est donc probable que la vitamine E a un effet antithrombotique grâce à son pouvoir d'inhibition de l'agrégation plaquettaire (**Tovar *et al.*,2006**).

VII. Lutte contre le stress oxydant

Ayant besoin d'une certaine quantité d'espèces réactives de l'oxygène, l'organisme ne cherche pas à les détruire, mais à contrôler leurs niveaux pour éviter le stress oxydant. Ceci explique la régulation très fine des génomes antioxydants et de ses mécanismes d'adaptation.

La prévention du stress oxydant à l'aide d'antioxydants a démontré sa faisabilité et son efficacité à des doses modérées pour prévenir l'incidence des cancers et la mortalité dans de grandes études épidémiologiques, comme l'étude du Linxian, l'étude de Clark, l'étude Qixia, ou l'étude SU.VI.MAX en France, appliquées à des sujets sains (**Dal *et al.*,2014**).

En outre, il semblerait important de tester avec vigueur l'effet thérapeutique de diverses molécules antioxydantes naturelles et de synthèses dans la prévention des maladies dégénératives, à condition d'être apportées très tôt avant l'apparition des mécanismes induits irréversibles et à des doses modérées puisque les radicaux libres sont indispensables à de nombreuses fonctions (**Dhalla *et al.*,2002**).

VII.1. Prévention nutritionnelle

VII .1.1. Micronutriments

a)- Vit C

L'anion ascorbate (forme présente dans les molécules physiologique) piège directement les ERO (majoritairement l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$) et le peroxy-nitrite ($ONOO^{\cdot}$). Il est aussi capable

de recycler l' α -tocophérol de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique selon la réaction ci-dessous :



La vit C est le principal antioxydant hydrosoluble présent dans le fluide intra et extracellulaire avec un potentiel réducteur puissant. Par interaction avec un radical lipidique R^* , la vitamine **E** (*T-OH*) se transforme en un radical tocophéryle (*T-O \cdot*). Ce dernier est régénéré en *T-OH* sous l'action de la vitamine **C** (*Asc-H-*) qui à son tour, prend une forme radicalaire (*Asc \cdot^-*). Le glutathion réduit (GSH) permet de régénérer la vitamine C en se transformant en un radical thyle (*GS \cdot*) qui par réaction avec lui-même, donne du glutathion oxydé (GSSG) (**Vertuani et al., 2004**).

Les apports nutritionnels conseillés pour la vitamine C, émanant de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), sont de 110 mg/jour pour les hommes et les femmes adultes, 120 mg/jour pour les femmes enceintes et les personnes âgées avec des apports complémentaires de 20 à 40 mg/jour pour les fumeurs (**Schlienger, 2014 ; ANSES, 2016**).

Les principales sources alimentaires de vitamine C sont à 70 % les légumes (persil, poivron rouge, etc.), les fruits frais (cassis, agrumes, etc.), et en quantité moindre environ 20 % les pommes de terre, le pain et les céréales (**Fain, 2013 ; Duron-Bourzeix, 2014**).

b)- Vit E

L' α -tocophérol est le principal antioxydant contenu dans les LDLs. Chaque particule LDL contient en moyenne de 6 à 12 molécules d' α -tocophérol. Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' α -Toc, qui est un inhibiteur de la propagation radicalaire, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical $RO_2\cdot$, et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection. L' α -Toc, en cédant son hydrogène, se transforme lui-même en produit radicalaire de faible réactivité. Elle peut réagir directement avec le radical initiateur, tel que le radical hydroxyle ($OH\cdot$), inhibant ainsi la

formation du radical $RO_2\cdot$. Elle peut aussi réguler l'activité des enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la glutathion peroxydase, la catalase hépatique, la glutathion transférase et la NADPH réductase. La vit E est présente dans les huiles végétales, principalement dans l'huile de germe de blé, d'arachide, d'olive, de tournesol et de soja (**Lopez et al., 2005**).

c)- Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont capables de prévenir et d'interrompre les procédés de peroxydation en neutralisant l'oxygène singulet et les radicaux libres. Une molécule de bêta-carotène est capable d'inactiver plusieurs centaines de molécules d'oxygène singulet (**Diplock, 1994 ; Urban, 1995**).

Les capacités antioxydantes des caroténoïdes diffèrent selon leur structure moléculaire, la pression d'oxygène et la présence concomitante d'autres nutriments antioxydants (comme la vitamine E) (**Krinsky, 1993**).

VI .2. 3. Les oligoéléments

a) Zinc

C'est un minéral qui intervient dans plus de 200 réactions enzymatiques, notamment la synthèse de l'ADN et de l'ARN, la régulation de l'expression des gènes et l'immunité.

Le zinc joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la Cu-Zn SOD (**Powell, 2000**). Les besoins en zinc sont modulés par la composition du régime alimentaire, qui fait varier son absorption intestinale. Ainsi, dans le cas d'une alimentation variée, des apports d'environ 7mg chez la femme et 9 mg chez l'homme suffiront à couvrir les besoins. Par contre, une alimentation très riche en végétaux entraînera des besoins très élevés, estimés à 13 mg chez la femme et 18 mg chez l'homme (**CNERNA-CNRS, 2002**).

b) Sélénium

C'est un élément primordial dans le maintien des défenses antioxydantes (**Burk, 2002**). Son effet protecteur est complété par d'autres fonctions essentielles, telles que son rôle de détoxification des métaux lourds (cadmium, mercure et plomb). Le sélénium permet de maintenir un pool intra-lymphocytaire de glutathion réduit, ce qui protège les membranes et permet aux cellules immuno-compétentes de maintenir leur réponse (**Hawkes et Kelley, 2001**).

Le sélénium est présent dans les aliments riches en protéines animales (viandes, œufs, poissons, lait et produits de la mer), dans les céréales et certains fruits secs et à coque (**Navarro-Alarcon et Cabrera Vique, 2008**).

VII .1.2. Micro-constituants antioxydants

Dans ce groupe, on distingue d'une part, les antioxydants phénoliques naturels tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, le resvératrol et les tannins (**Dai et Mumper,2010**). D'autre part, les antioxydants phénoliques de synthèse comme par exemple les dérivées d'alkyl-thio-sulfonate, testées en particulier pour leur capacité à empêcher le métabolisme oxydant. Aussi, les sulfures d'allyle, composés soufrés dont l'action s'exerce à travers le piégeage des ERO, par augmentation des activités de la SOD, la catalase, la glutathion peroxydase et le taux de glutathion dans la cellule. Ces propriétés pourraient expliquer le rôle important des composés soufrés de l'ail dans la prévention des dommages de l'ADN, des cancers et des maladies cardiovasculaires (**Borek,2001**).

II. MATERIELS ET METHODES

I. MATERIELS

I.1. Animaux et régimes alimentaires

Des rats de souche *Wistars* âgés de 21 jours (sevrage) et pesant 50 ± 3 g fournis par l'Institut Pasteur d'Alger sont maintenus pendant une semaine sous un régime synthétique équilibré (phase d'adaptation) (**Tableau V**). Les rats sont repartis individuellement dans des cages et maintenus dans des chambres ventilées avec un cycle lumière/obscurité (12h/12h), une température de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative ambiante de (70 à 80%). Les régimes ainsi que l'eau sont fournis « *ad libitum* ».

Après la phase d'adaptation d'une semaine, les rats sont subdivisés en 4 lots de 8 rats chacun recevant un seul type de régime durant toute la période expérimentale.

La composition des régimes alimentaires est donnée dans le (**Tableau IV**) ; la période expérimentale s'étale sur une période de 8 semaines après la phase d'adaptation.

Les régimes alimentaires sont préparés tous les 2 jours par fraction de 500 g d'aliments et conservé à $+4^{\circ}\text{C}$ dans des boîtes hermétiques.

Durant la phase d'adaptation, tous les rats reçoivent un régime équilibré composé de 20% de caséine et de 5% d'huile de tournesol pendant 7 jours. A l'exception du lot témoin recevant 5% de l'huile de tournesol fraîche, les autres lots expérimentaux sont soumis chacun à un régime approprié, à base d'huile de tournesol fortement oxydée par insufflation d'air à 98°C , comme l'indique le (**Tableau V**) durant les 8 semaines d'expérimentation.

Le premier lot (**SFO**) reçoit un régime équilibré avec 5g d'huile fraîche /100g d'aliments, le second lot (**OSO**) reçoit un régime équilibré avec 5g d'huile oxydée /100g d'aliment, le troisième lot (**OSEI**) reçoit un régime équilibré avec 5g d'huile oxydée /100g d'aliment supplémentée avec 600mg de vit E et le quatrième lot (**OSOE2**) reçoit un régime équilibré avec 5g d'huile oxydée /100g d'aliment supplémentée avec 1200 mg de vit E.

Tableau IV : Composition du régime synthétique équilibré (Guide and Use of Laboratory Animals). (2001).

<i>Constituants</i>	<i>Teneur (%)</i>
<i>Caséine du lait¹</i>	<i>20,00</i>
<i>DL méthionine²</i>	<i>0,16</i>
<i>Saccharose</i>	<i>20,00</i>
<i>Amidon</i>	<i>29,84</i>
<i>Huile de tournesol³</i>	<i>05,00</i>
<i>Sels minéraux⁴</i>	<i>04,00</i>
<i>Vitamines⁵</i>	<i>01,00</i>
<i>Agar agar⁶</i>	<i>20,00</i>
<i>Energie (Kcal)</i>	<i>325</i>

1 Institut Pasteur d'Alger (IPA)

2 Institut Pasteur d'Alger (IPA)

3 Entreprise Nationale des Corps Gras (ENCG) Belcourt-Alger.

4 Mélange minéral/100g d'aliment : KH_2PO_4 4mg ; $CaCO_3$ 34.60mg ; $CaHPO_4$ 26.55mg ; $NaCl$ 13.70mg ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 3.42mg ; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.042 mg ; $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.27mg ; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.02mg ; $ZnSO_4 \cdot H_2O$ 0.15mg ; KI 0.0016mg.

5 Mélange vitaminique/100g d'aliment : Vit A 19.800 IU ; D3 2500mg ; B1 20mg ; B2 15mg ; B3 70Mg ; B6 10mg ; B7 150mg ; B12 0.05mg ; C 800mg ; E (α -tocophérolacétate) 170mg ; K3 40mg ; pp 100mg ; Choline chloride 1.360 mg ; Acide folique 5mg ; Ac PAB 50mg Biotine 0.3mg

6 Institut Pasteur d'Alger (IPA)

Tableau V : Composition des régimes alimentaires

Ingrédients g/100g d'aliment	FSO	OSO	OSOE1	OSOE2
Caséine	20	20	20	20
Amidon	44,90	44,90	44,90	44,90
Saccharose	21,94	21,94	21,94	21,94
Agar-agar	2	2	2	2
DL-méthionine	0,16	0,16	0,16	0,16
Mélange minéral	4	4	4	4
Mélange vitaminique	2	2	2	2
Huile fraîche	5	/	/	/
Huile oxydée	/	5	5	5
Energie (Kcal)	392	392	392	392

FSO: Fresch Sunflower oil; **SO:** Oxidized Sunflower Oil; **OSOE1:** Oxidized Sunflower Oil + 600mg.kg⁻¹ d' α -Tocophérol; **OSOE2:** Oxidized Sunflower Oil + 1200 mg.kg⁻¹ d' α -Tocophérol.

Mélange minéral/100g d'aliment: KH₂PO₄4mg; CaCO₃ 34.60mg; CaHPO₄26.55mg; NaCl 13.70mg; MgSO₄7H₂O 3.42mg; CuSO₄ 5H₂O 0.042 mg; MnSO₄ H₂O 0.27mg; FeSO₄ 7H₂O 1.02mg; ZnSO₄H₂O 0.15mg; KI 0.0016mg.

Mélange vitaminique/100g d'aliment: Vit A19.800 IU; D3 2500mg; B1 20mg; B2 15mg; B3 70Mg; B6 10mg; B7 150mg; B12 0.05mg; C800mg; E (α -tocophérolacétate) 170mg; K3 40mg; pp 100mg; Choline chloride 1.360 mg; Acide folique 5mg; Ac PAB 50mg Biotine 0.3mg

1.2. Réactifs et appareillages

1.2.1. Réactifs

Les produits chimiques et les solvants utilisés sont de qualité pour analyses. Les enzymes sont dosées avec des substances de références, d'origine commerciale.

1.2.2. Chromatographie en phase gazeuse

1.2.2.1. Description de l'appareil

* Le chromatographe est de type CARLO HERBA muni d'un injecteur automatique « oncolumn » et un détecteur à ionisation de flamme (FID).

* Colonne capillaire en silice greffée type carbowax C.P.AX 52C.B, d'une longueur de 50m, munie d'une pré-colonne de 2m en silice désactivée.

1.2.2.2. Conditions opératoires

Gaz vecteur : hydrogène

Pression du gaz vecteur : 1bar

Température de la chambre d'injection : température ambiante

Température du détecteur 250°C

Température du four : 54°C à 220°C à raison de 3°C/mn

Traitement des données sur microordinateur STANG et par logiciel Nelson (intégrateur des signaux perçus par le détecteur de retransmission, sous forme de chromatogramme ou en quantité numérique).

1.2.3. Chromatographie liquide Haute Performance

La technique chromatographie Liquide Haute Performance a été adoptée par de nombreux chercheurs comme méthode de choix pour l'identification des antioxydants liposolubles tocots, en raison de la séparation relativement facile des isomères β et γ tocophérol

et tocotriénols, qui possèdent chacun deux groupements méthyles sur le cycle chromanol. En effet, la HPLC avec phase stationnaire à base de silice présente une grande sélectivité qui permet de différencier les nombreuses formes d'antioxydants tocophérols et tocotréinol (Gimeno *et al.*, 2000).

a) - Préparation de l'échantillon :

L'échantillon à analyser est dilué dans de l'hexane au 1/10 (V/V) 200 µl de cette solution sont transférées dans un tube contenant 800 µl de méthanol, puis on agite au vortex pendant 5mn et enfin on filtre à travers un filtre de 0,45µM de Ø.

b) - Conditions chromatographiques

- * Volume à injecter 50µl
- * Phase mobile : Méthanol /Eau (96/4) (V/V).
- * Colonne : C18
- * Température : 45°C
- * Débit : 2ml /mn
- * Longueur d'onde : 292 nm

e) Expression des résultats

L'interprétation des chromatogrammes se fait par comparaison par rapport au chromatogramme de l'étalon pur de la vit E réalisé dans les mêmes conditions, grâce au logiciel millenium.

1.2.4. Chromatographie d'adsorption

Le dosage des triglycérides altérés a été effectué par chromatographie d'adsorption, selon la méthode de Gere (1984) et Grimard *et al.*, (1984). Les mélanges éther de pétrole – éther éthylique (87 : 13 V/V), éther méthylique et méthanol (87 : 13 V/V) sont utilisés pour l'élution.

II. METHODES

II.1. Dégradation de l'huile

Elle est réalisée par la méthode de dégradation oxydative avec insufflation d'air à 98°C pour stimuler le processus naturel d'auto-oxydation (Drozdowski et Szukala, 1987 ; AFNOR, 1984) modifiée par Blanc *et al.*, (1992).

Un volume de 500 ml d'huile de tournesol est versé dans un bioréacteur de 1l et maintenu à $95^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ sur une plaque chauffante avec agitation (*figure 16*).

L'insufflation d'air est assurée par un accessoire du bioréacteur baignant dans l'huile et relié à une pompe à air réglée à un débit de 80l /h, la température est contrôlée régulièrement. La dégradation est effectuée loin des rayons solaires. Après la dégradation, les huiles oxydés et fraîche sont réparties dans des flacons de 100 ml, dans lesquels on ajoute de l'azote et on conserve +4°C.

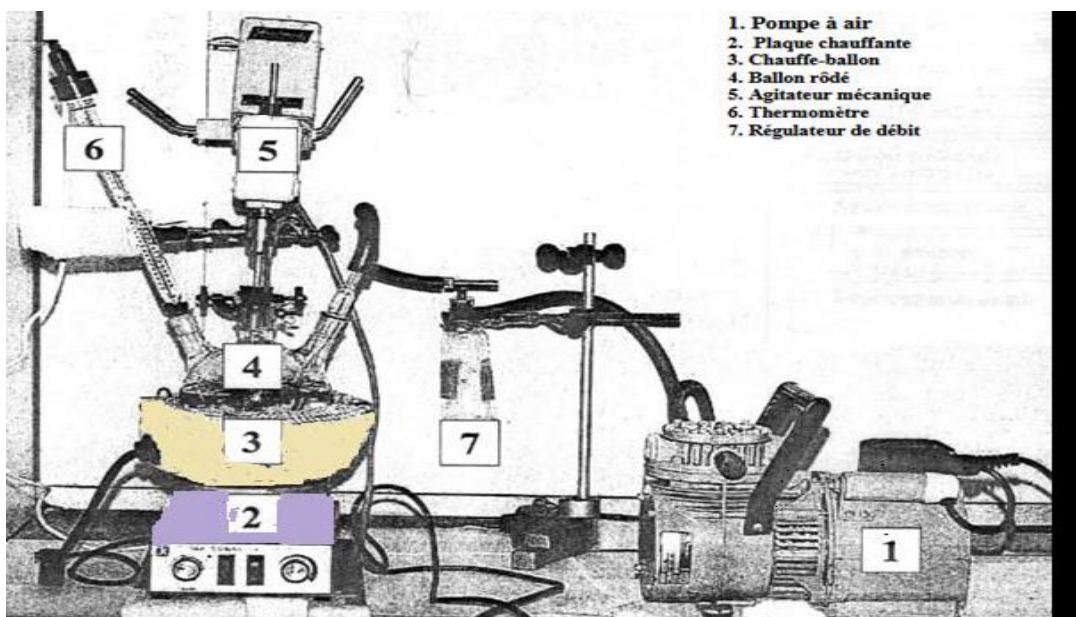


Figure 16 : Montage de l'appareil de la thermo-oxydation

II.2. ETUDE DE L'HUILE OXYDEE

II.2.1. Evaluation de l'altération globale

L'estimation globale du niveau d'altération de l'huile oxydée a été étudiée par la mesure des indices suivants :

a) Indice de peroxyde (AFNOR T 60-220)

Il indique la quantité de peroxydes contenue dans 1g de corps gras et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode.

b) Indice d'iode (AFNOR T60 -203)

Il représente la quantité d'iode fixée par 100g de corps gras.

c) Indice d'acide (AFNOR T60 -204)

Il s'agit de la teneur en acides gras libres exprimée en mg de KOH, nécessaire pour neutraliser l'acidité libre de 1g de corps gras.

d) Absorbance à 268 nm (AFNOR T60 -223)

Elle renseigne sur l'estimation quantitative et qualitative des AG conjugués ou des produits d'oxydation conjugués présents dans l'huile.

II.2.2. Dosage des produits polaires

**** Dosage des TG polaires***

Il a été effectué par chromatographie d'adsorption par la méthode de **Gere (1984)**.

****Dosage des esters polaires***

Il a été réalisé par chromatographie phase gaz (**Grandgirard et julliard, 1987**).

II.3. Etude du tissu rénal

II.3.1. Préparation de l'homogénat

100 mg du tissu rénal des rats étudiés sont broyés et homogénéisé avec 4 ml de tampon TBS (Tris 50mM, Na Cl 150 mM PH (7,4) à + 4°C dans un Potter Elvenjene en verre avec un piston en téflon, la suspension cellulaire est centrifugée à 9000 tr/mn pendant 15mn à +4°C.

Le surnageant est récupéré, une partie est utilisée pour le dosage des protéines et l'autre partie est aliquotée dans des tubes à eppendorfs puis conserver à -80°C en attendant le dosage des paramètres du stress oxydant.

II.3.2. Dosage des protéines

Le taux de protéine est évalué par la méthode de **Lowry *et al.*, (1951)**. Cette technique est basée sur le fait que l'acide phosphotungstique et molybdique du réactif de folin sont réduits en présence des complexes ions Cu^{+2} et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines, formés en milieu alcalin. L'intensité de la coloration bleue formée est proportionnelle au taux de protéines dans le tissu rénal (**Agneray et Metais, (1990 ; Godon et Loisel, 1991)**).

Une gamme étalon d'une solution d'albumine à 1mg /ml est préparée et l'absorbance est mesurée à 750 nm après développement de la couleur pendant 30 mn à l'abri de la lumière.

II.3.3. Détermination de la peroxydation lipidique (LPO) par le taux du malonyl-dialdéhyde (MDA) au niveau tissulaire

Le MDA est l'un des produits terminaux formés au moment de la peroxydation lipidique lors de l'attaque des acides gras polyinsaturés (PUFA) par des espèces réactives de l'oxygène. Le dosage du MDA au niveau rénal a été réalisé par une méthode spectrophotométrique selon **Buege et Aust., (1972)**, qui utilise l'acide thiobarbiturique (TBA).

Principe :

Le principe est basé sur la condensation d'une molécule de MDA en milieu acide et à chaud avec deux molécules de TBA pour former un complexe coloré en rose, dosé à une longueur d'onde $\lambda = 530 \text{ nm}$ (**figure 17**). Cette technique présente d'excellentes qualités sur le plan de la sensibilité (**Kebièche *et al.*, 2009**).

Mode opératoire

- * Prélever 125 µl de l'homogénat (surnageant) ;
- * Ajouter 50 µl de la solution tampon TBS ;
- * Ajouter 125 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%) ;
- * Vortexer et Centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min à + 4°C ;
- * Prélever 200 µl du surnageant ;
- * Ajouter 40 µl du HCl (0.6 M) ;
- * Ajouter 160 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120mM) ;
- * Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min.

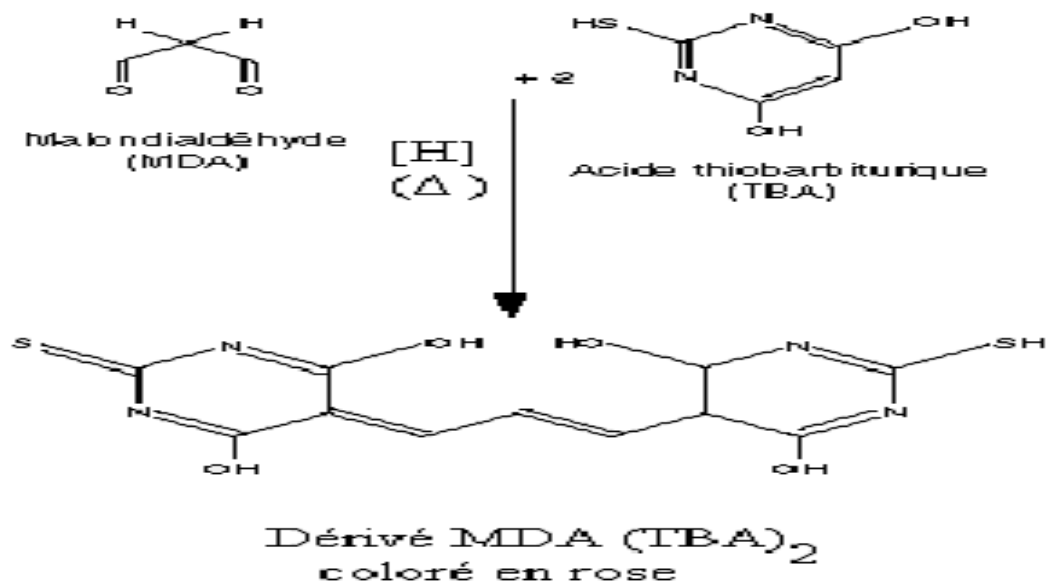


Figure 17 : Principe du dosage du malonyl-dialdéhyde (Kebièche et al., 2009).

Expression des résultats

La concentration du MDA (*nmol/mg de protéines*) est donnée par la formule suivante :

$$C = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot X \cdot L \cdot Fd}$$

C = Concentration du MDA en nmol/mg de protéines

DO = Densité optique lue à 530 nm

\mathcal{E} = Coefficient d'extinction molaire de MDA = $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

L = Longueur du trajet optique = 0,779cm

X = Concentration du surnageant en protéines (mg/ml)

Fd = Facteur de dilution = 0,2083

II.3.4. Dosage de la concentration en α -Tocophérol

La teneur en α -Toc dans le tissu rénal a été évaluée par la méthode de **Desai (1984)**. Un mélange de 0,5ml de l'homogénat du tissu rénal avec 0,5 ml d'éthanol et 0,25ml d'acide ascorbique à 25% sont incubés pendant 5mn à 70°C. On ajoute ensuite 0,3ml d'une solution saturée en hydroxyde de potassium et on incube à 70°C pendant 30mn. Les tubes sont rapidement refroidis dans un bain de glace ensuite 4ml d'hexane sont ajoutés. Après agitation au vortex pendant 1 mn, les tubes sont centrifugés à 1500 tr /mn pendant 5 à 10mn. La fraction contenant l'hexane est récupérée puis sa DO est mesuré à 330 nm. Le taux d' α -Toc est déduit à partir d'une courbe d'étalonnage.

II.3.5. Dosage des activités enzymatiques anti-oxydantes

II.3.5.1. Dosage de la catalase (Cat)

Principe

La méthode utilisée pour le dosage de l'activité enzymatique de la CAT est celle préconisée par **Abei (1984)**. La CAT catalyse la destruction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, selon la réaction ci-dessous :



L'activité de la catalase est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du H_2O_2 à une température d'incubation de 37°C.

L'homogénat du rein (1gr pour 7ml) est préparé dans un tampon (Tris-HCl à 50 mmol/l et 0.1 mmol/l d'EDTA, pH 7.4), 100 μ l de cet échantillon sont mis dans 1.5ml de tampon

phosphate (PBS) puis on incube à 37°C pour activer l'enzyme, après on rajoute 50µl de substrat (H₂O₂ à 10mM) et on lit l'absorbance à 240 nm pendant 3mn.

Expression des résultats

Régler le zéro de l'appareil par la solution PBS.

L'activité de la CAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité de la CAT (nmol H}_2\text{O}_2\text{ réduit/mn/mg de protéines)} = \frac{\Delta DO \cdot d}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot Fd}$$

ΔDO = Variation de la densité optique par mn, c'est-à-dire pour :

* AI (Absorbance initiale) : 15 s ; AF (Absorbance finale) : 3min ;

ϵ = Coefficient d'extinction du H₂O₂ = 0,043 nmol cm⁻¹ml⁻¹

d = Dilution de l'échantillon au début

L = Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique = 1 cm

X = Quantité de protéine en mg/ml

Fd = Facteur de dilution de H₂O₂ dans le tampon (0,02).

II.3.5.2. Dosage de l'activité de la Superoxyde dismutase (SOD)

Le dosage de la superoxyde dismutase SOD Cu-Zn (EC 1.15.1.1) est réalisé selon la méthode de **Marklund et Marklund (1974)**. Le principe du dosage est basé sur une compétition entre la réaction d'oxydation du pyrogallol par l'anion superoxyde (O₂⁻) et la dismutation de O₂⁻ par la SOD.

Les échantillons du rein sont mis dans un tampon (Tris 5mM et DTPA 1mM) puis centrifugés à 4000 tr/mn pendant 5 mn à -20°C. Un volume de 80µl du surnageant est récupéré pour le dosage de la SOD totale. A ce dernier, 40µl de pyrogallol sont ajoutés, on homogénéise et on attend 45 secondes pour lancer la cinétique à 420 nm pendant 1mn.

Pour le dosage de la Mn SOD, 40µl de KCN (35.2 mg/10ml d'eau distillée) sont ajoutés à 200µl du surnageant afin d'inhiber la SOD Cu-Zn ; Prendre 100µl du mélange et 50µl de

pyrogallol bien homogénéiser, attendre 45 secondes puis lancer la cinétique à 420 nm pendant 1mn.

Une unité d'activité enzymatique est définie comme la quantité capable d'inhiber 50% de l'oxydation du pyrogallol, on calcule les activités des SOD totales, Mn et Cu/Zn, comme suit :

$$SOD\ totale\ (U/ml) = (\% \text{ d'inhibition} \times 1000) / \text{Vol de prise d'essai} \times 50).$$

$$SOD\ Mn\ (U/ml) = (\% \text{ d' inhibition} \times 1000) / (100 \times 50) \times 1,2.$$

$$SOD\ Cu/Zn\ (cytoplasme) = SOD\ totale - SOD\ Mn\ (mitochondrie)$$

II.3.4.3. Dosage de la Glutathionne Peroxydase (GPx)

Principe

L'activité de la GPx (EC 1. 11. 1.1) est déterminée par la formation du glutathion oxydé (GSSG) à partir du glutathion réduit (GSH) (**Paglia et Valentine, 1976**). Le synthème nécessite la présence d'un oxydant (H₂O₂) et la glutathion réductase (GR) qui réduit le GSSG en oxydant le NADPH en NADP selon la réaction ci-dessous :



L'activité est exprimée en nmol de NADPH consommé par mn et par gr de protéine (qui correspond à la quantité d'hydro-peroxyde réduit), le substrat utilisé est l'eau oxygénée (H₂O₂ à 6.6 mmol) mais il est nécessaire d'ajuster le milieu réactionnel à une concentration de 20 mmol avec l'azide de sodium pour inhiber l'activité de la Cat.

L'homogénat du rein (1g/10ml) est réalisé dans un tampon (Tris-HCl de 50mml, 0.1ml EDTA, pH 7.6) à l'aide d'un broyeur homogénéiseur de Potter ; 100µl d'échantillon sont mis en suspension dans une solution composée de (13mg de NADPH, 34 mg de GSH 100mg de GR) puis incubé à 37°C pendant 3 mn pour activer l'enzyme, ensuite on ajoute 50 µl de substrat (H₂O₂ à 6.6mmol), après agitation on enregistre l'absorption à 340 nm pendant 2 mn

Expression des résultats

L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) est exprimée en mmole de GSH oxydé /mg de protéines selon la formule suivante :

$$GPx \text{ (nmole GSH /mg de Pn)} = X \text{ mole de GSH réduit } \times Y \text{ mg de protéines}$$

$$X = \frac{DO\text{ Ech} - DO\text{ Etalon}}{DO\text{ Etalon}}$$

Avec Y : Concentration de substrat (GSH)

II.3.4.4. Dosage de la glutathionne réductase (GR)

Principe

L'activité enzymatique de la glutathion réductase (GR) a été mesurée par la méthode de **Beutle (1984)**. Cette technique consiste à suivre par spectrophotométrie la disparition du NADPH à une longueur d'onde de 340 nm.

100 µl d'échantillon obtenu après broyage du tissu rénal dans un tampon phosphate à 0.12 mol, Ph 7.6 sont mis en suspension avec 2.6 ml de tampon phosphate à 0.12 mol, Ph 7.6 et on incube à 37°C, on ajoute 100 µl d'EDTA à 15 mmol et 100 µl d'une solution GSSG à 65.3 mmol, après 5mn on ajoute 50 µl d'une solution de NADPH à 9.6 mmol. La disparition du NADPH est suivie par la lecture de l'absorbance à 399 nm pendant 3mn.

Expression des résultats

L'activité de la GR exprimée en nmol de NADPH oxydé /mn/mg de protéine est donnée par la formule suivante :

$$GR \text{ (nmol NADPH/mg Pn)} = (X \text{ mole de NADPH oxydé}) \times Y \text{ mg de protéines}$$

$$X \text{ nmol de NADPH oxydé} = \frac{DO\text{ Ech} - DO\text{ Etalon}}{DO\text{ Etalon}}$$

Avec Y : Concentration de substrat (NADPH oxydé)

II.3.4.5. Dosage de la glucose 6 phospho-déshydrogénase (G6PDH)

Principe

L'activité du glucose 6 phospho-déshydrogénase (G6PDH) (EC1.1.149) a été mesurée en suivant l'apparition du nicotinamide adénine phosphate réduit (NADPH/H⁺) à 339 nm, selon la technique spectrophotométrique décrite par **Bergmeyer (1963)** et basée sur la réaction suivante :



L'homogénat tissulaire du rein est réalisé par un tampon Tris-HCl/EDTA. Le principe consiste à mettre 100µl de cet homogénat en suspension avec 20 µl d'une solution composée de (580 µl de H₂O bi-distillée, 100 µl d'une solution NADP⁺, 100 µl de tampon Tris-HCl, 100 µl d'une solution de Mg Cl₂ et 100 µl de glucose 6-phosphate) à laquelle on ajoute 0.5mg de maleinimide qui inhibe la 6-phosphogluconate déshydrogénase (qui oxyde le NADP⁺ en NADPH/H⁺), ensuite lire l'absorbance à 339 nm pendant 3mn.

Expression des résultats

L'activité de la G6PDH exprimée en nmol de NADP⁺ réduit/mn/mg de protéine est donnée par la formule suivante :

$$G6PDH \text{ (nmol NADP}^+/\text{mg Pn)} = (X \text{ mole de NADP}^+ \text{ réduit}) \times 3Y \text{ mg de protéines}$$

$X \text{ nmol de NADP}^+ \text{ réduit} = \frac{DO \text{ Ech} - DO \text{ Etalon}}{DO \text{ Etalon}}$
--

Avec Y : Concentration de substrat (NADP⁺)

II. 3.5. Technique histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anapathologie service CPMC (**CHU- Mustapha Pacha- Alger**), suivant la technique classique de **Houlot (1984)**.

Les reins de chaque rat sont retirés de la solution de Bouin alcoolique (26 ml formol, 7ml d'acide acétique, 45 ml d'acide picrique de 95%) et sont coupés à l'aide d'un couteau tranchant afin de réaliser des prélèvements pour étude histologique avec une surface de 1 à 2

cm et une épaisseur proche de 1,5 mm. Les prélèvements réalisés sont mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

a/-Déshydratation

Les échantillons sont déshydratés pendant 12 heures au minimum et cette opération nécessite le passage des tissus dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90% et 100%). La déshydratation peut être accélérée par agitation rapide grâce à des automates spéciaux.

b/- Inclusion

Les tissus rénaux sont plongés dans des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur). Ces tissus étant maintenus et imbibés de paraffine subissent un enrobage qui consiste à inclure ces derniers dans un bloc de paraffine qui en se solidifiant va permettre sa coupe.

Cette opération fait appel à des appareils dits « à inclusion » renfermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour solidifier rapidement le bloc de paraffine contenant les tissus.

c/- Coupe et coloration

Les blocs d'inclusion sont collés sur un porte-échantillon, la surface à coller est ramollie par une lame métallique chauffée modérément à la flamme, puis posée sur le porte-objet.

Les coupes sont réalisées par un microtome (épaisseur de 3 à 5 microns), puis étalées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

La coloration réalisée par la technique Hématoxyline- Eosine (**H & E**) qui nécessite de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100ml d'éosine à 3% 125 ml d'alcool éthylique à 95 %, 375 ml eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique) selon les étapes suivantes. :

- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau de robinet puis rincer à l'eau distillée.
- Immerger dans un bain d'hématoxyline de Harris (15mn) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).

- Différencier les coupes dans l'alcool acide (1 à 2 plongées), déposer ensuite les lames dans un bain d'eau de robinet et vérifier la différenciation au microscope.
- Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale.
- Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2mn) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme).
- Déshydrater éclaircir et monter les lames à Eukitt.

Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau de robinet.

d)- Observation et principe de lecture

Adapté à un microscope photonique de type (Olympus BX50) avec camera (Olympus E- 410) Zeiss, les photos sont analysées et discutées pour déduire des conclusions concernant cette étude.

L'altération histopathologique au niveau du tissu rénal a été évaluée comme suit :

Apparence normal (-), moyenne (+), important (++) et sévère (+++).

e) - Calcul du grossissement final

Le grossissement est calculé en prenant compte du grossissement de l'objectif et de l'indice du microscope selon la formule :

$$Gf = Go \times Im \times Fa$$

Gf = Grossissement final ; **Go** = Grossissement de l'objectif ; **Im** = Indice du microscope ;

Fa = Facteur d'agrandissement de la photo par rapport à la taille du cadran de la visualisation de l'appareil numérique.

III. Analyse statistique

La normalité de la distribution des données et l'homogénéité de la variance ont été testées en utilisant respectivement les tests **kolmogorovsmirnov** et **Levene**. Les principaux

paramètres des différents groupes ont été comparés entre eux et par rapport au groupe témoin en employant le test de Student.

Par ailleurs, lorsque l'hypothèse de normalité ou l'homogénéité des variances ne sont pas respectées, le test de Mann-Whitney-U a été réalisé. Les résultats sont exprimés comme la moyenne plus ou moins l'écart type et sont considérés significatifs à 0,05.

L'analyse statistique a été établie en utilisant Statistica 7.0, Statsoft Inc. (**Tulsa, USA**).

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. ETUDE DE L'HUILE DE TOURNESOL THERMO-OXYDEE

III.1.1. Choix de la méthode de dosage

La méthode retenue pour obtenir la dégradation de l'huile est dérivée des tests accélérés d'oxydabilité (AFNOR, 1984 ; Drozdowski et Szukalska, 1987).

L'huile de tournesol est maintenue à $98 \pm 2\text{C}^\circ$ avec insufflation d'air au débit de 40l/h. Le choix de cette technique est basé sur les paramètres suivants :

- La courte durée du processus d'oxydation (46 heures), ce temps est un paramètre important car notre étude nécessite un traitement d'un volume suffisant d'huile pour nourrir les rats durant toute la phase expérimentale.
- Le déroulement de l'auto-oxydation en absence de catalyseurs chimiques.

III.1.2/- Altération de l'huile de tournesol

Les modifications des caractéristiques physico-chimiques de l'huile de tournesol sont illustrées au niveau du (***Tableau VI***).

Tableau VI : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile de tournesol fraîche et oxydée

<i>Caractéristiques</i>	<i>Huile fraîche</i>	<i>Huile oxydée</i>
<i>Aspect</i>	<i>Liquide, jaune</i>	<i>Plus épaisse, reflet vert clair, la mousse et la flaveur altérées</i>
<i>Indice de peroxyde (mmol/kg)</i>	<i>01</i>	<i>258</i>
<i>Hydro peroxydes (mmol/kg) à une DO de 232nm (Diène conjugués)</i>	<i>10</i>	<i>232</i>
<i>Produits secondaires à une DO de 268nm (dicétones éthyléniques)</i>	<i>0,60</i>	<i>2,80</i>
<i>Indice d'iode</i>	<i>130</i>	<i>82,00</i>
<i>Indice d'acide (mg de KOH/g)</i>	<i>0,10</i>	<i>04,20</i>
<i>Triglycérides non modifiés (%)</i>	<i>100</i>	<i>28,30</i>
<i>Alpha tocophérol (µg/ml)</i>	<i>2,00</i>	<i>00,00</i>

III.1.2.1. Formation de mousses et viscosité

Nos résultats ont montré une mousse persistante s'accumulant à la surface de l'huile après 15 heures d'oxydation. Toutefois, cette mousse est différente des bulles issues du dégagement des produits volatils tels que la vapeur d'eau.

D'après **Perrin et al., (1981)**, cette mousse traduit la présence de TG altérés qui modifient de façon significative divers caractères physiques des huiles oxydées, notamment, l'augmentation de leur viscosité. Ainsi, des polymères peuvent se former à partir des radicaux libres ou TG selon les réactions *d'Alder-diels* (réaction d'un hydrocarbure insaturé sur un diène conjugué). La formation et l'accumulation des produits polymérisés augmentent ainsi la viscosité avec modification apparente de la texture de l'huile de tournesol thermo- oxydée (**Sunsa et al.,2013**).

Le traitement thermo- oxydatif utilisé dans notre étude a conféré une texture épaisse. Selon **Vilas (1994)**, la consistance de l'huile devient plus importante au cours de l'oxydation, ceci est dû à la présence de fonctions secondaires d'oxydation telles que les (aldéhydes, cétones et alcools) sur la chaîne grasse et aux composés de hauts poids moléculaires élaborés lors du chauffage.

III.1.2.2. Goût et odeur

La stabilité ou la détérioration oxydative de l'huile dépendent de leur composition initiale, leur concentration en antioxydant ou pro-oxydant, du type de traitement subi et des conditions de stockage. De plus, l'air et l'eau contenus dans l'huile même sous forme de traces enclenchent une série de réactions interdépendantes. La lipolyse et l'oxydation des acides gras sont à l'origine de la détérioration de l'huile (**Leong et al.,2015**).

Dans notre étude, à la fin de l'oxydation une forte odeur (rancissement) et un goût désagréable traduisent l'altération de l'huile de tournesol oxydée ont été noté. D'après **Leong et al., (2015)**, l'altération des huiles lors des fritures est due à la réaction d'oxygène avec les AGI qui libèrent des alcools, des aldéhydes et des cétones isomères *trans*, des composés cycliques et époxydes, ce qui confère une odeur de rance et une flaveur désagréable. En outre, la formation des produits secondaires comme les aldéhydes, les hydro-péroxydes et les époxydes peuvent s'accumuler et devenir toxiques (**Staprans et al.,1996 ; Ferioli,2007**).

III.1.2.3. Coloration

Au fur et à mesure que l'oxydation se prolonge, la coloration de notre huile change et vire du jaune au vert clair. Plusieurs auteurs ont rapporté que la variation de la coloration de

l'huile lors d'un traitement thermique est due à la présence de produits secondaires d'oxydation tels que les composés polaires susceptibles de modifier sa teinte (Singh., 2005 ; Ku *et al.*, 2014).

III.1.2.4. Acidité

D'après Adrian *et al.*, (1999), l'acidité est définie comme étant la mesure des acides gras libres qui indique l'altération des TG.

Nos résultats ont montré un indice d'acide de 4,2 mg de KOH /g pour l'huile de tournesol thermo-oxydée contre 0,1 mg de KOH/g pour l'huile fraîche (lot témoin), valeur identique à celle retrouvée par Blanc *et al.*, (1989).

Selon Iqbal et Bhanger (2007), cette acidification serait due à la réaction d'hydrolyse des TG favorisée par l'eau contenue dans l'huile sous forme de traces et cette action catalytique est accentuée par le chauffage. Ces deux facteurs hydrolysent les TG en produisant des monoglycérides, des diglycérides, des acides gras libres et du glycérol.

Par ailleurs, Vidrih *et al.*, (2010) suggèrent que les AGL s'accumulent dans l'huile augmentant ainsi son acidité. De plus, l'accroissement de l'acidité peut être associée à une perte importante d' α -Tocophérol lors de l'oxydation.

III.1.2.5. Taux d' α -Tocophérol

Nos résultats indiquent une diminution du taux d' α -Toc jusqu'à sa disparition totale du processus de l'oxydation en cours. En effet, la température affecte l'activité antioxydante, ainsi, Adam *et al.*, (2007) ont rapporté que le chauffage de l'huile de palme et de soja réduit le taux d' α -Toc. De même, Hamid *et al.*, (2013) ont confirmé qu'un traitement de l'huile végétale à la chaleur diminue l'activité antioxydante liée à la diminution significative de la concentration en tocotriène et en α -Tocophérol.

III.1.2.6. Indice d'iode

Cet indice permet de mesurer le degré d'insaturation globale de l'huile. En effet, le traitement thermo-oxydatif entraîne une diminution de l'insaturation totale de l'huile qui est évaluée par la mesure de l'indice d'iode.

Nos résultats montrent un indice d'iode de 82 mgd'I₂/100g pour l'huile de tournesol thermo-oxydée. Cette valeur est nettement inférieure à celle obtenue par Blanc *et al.*, (1989)

qui est de 103 mg d'I₂/100g d'huile. Cette différence serait liée à la durée d'oxydation plus prolongée d'environ 46 heures.

Par contre, nos résultats concordent avec ceux de **Adrian *et al.*, (1997)** qui ont noté un abaissement de cet indice reflétant une diminution de l'indice de l'insaturation de l'huile.

III.1.2.7. Indice de peroxyde (IP)

L'indice de peroxyde d'une huile indique sa teneur en méq d'oxygène actif dans 1kg d'huile. Cette molécule d'oxygène pénètre en tant que groupe peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) dans la molécule de lipide. Il révèle la présence d'époxydes et d'hypoxy-peroxydes appelés produits primaires de la dégradation et dans cette étude, il est mesuré à des intervalles de temps d'environ 4heures tout au long de l'oxydation de l'huile de tournesol. La formation et l'accumulation des produits primaires d'oxydation augmentent avec l'élévation du degré d'insaturation des huiles (**Martin-Polvillo *et al.*,2004**).

L'évolution de l'indice de peroxyde pendant la dégradation de l'huile de tournesol durant le processus de thermo-oxydation est illustrée par la (**figure 18**).

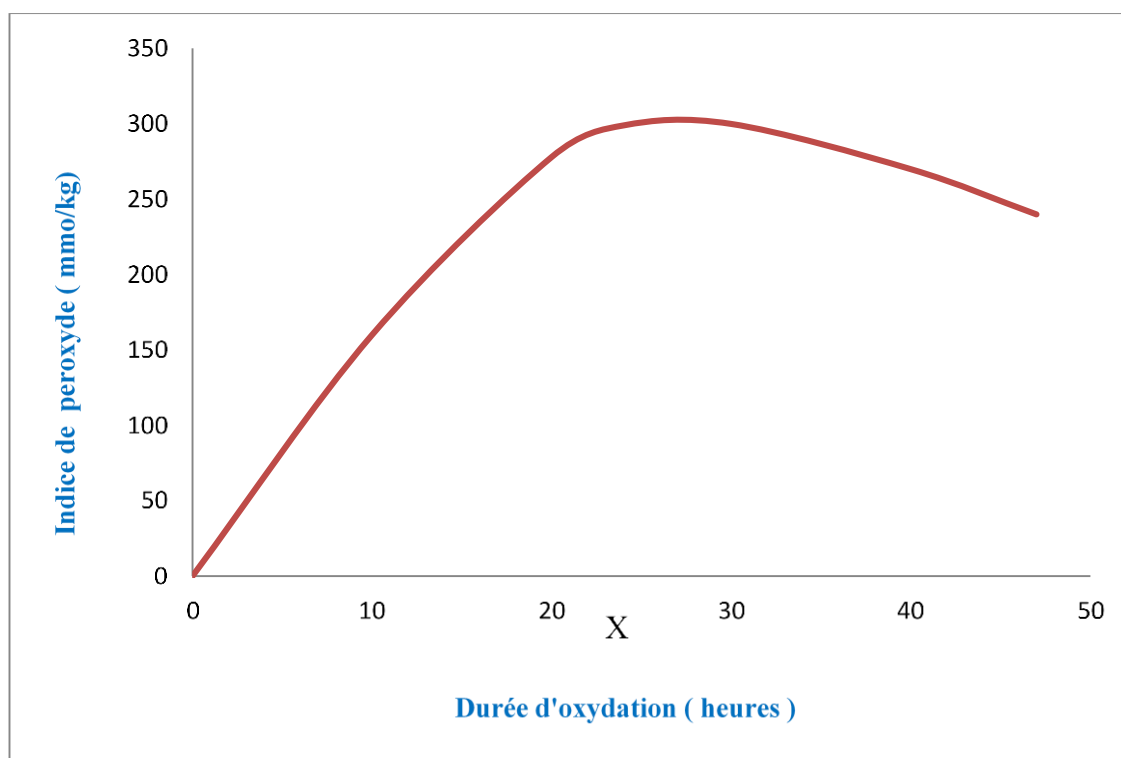


Figure 18 : Evolution de l'indice de peroxyde pendant la dégradation de l'huile de tournesol.

Notre graphe (*figure 18*) révèle une augmentation progressive de l'indice de peroxyde en fonction de la durée d'application du chauffage jusqu'à atteindre un maximum de **258** mmol/kg d'O₂/kg d'huile après 30h d'oxydation. Au-delà de 30 heures d'oxydation, nos résultats suggèrent une diminution de l'indice de peroxyde traduisant donc une décroissance de la courbe.

La valeur maximale d'indice de peroxyde observée dans notre étude est *3fois* plus élevée que celle obtenue par **Paquot et Cuvier, (1976)** après un chauffage de l'huile de tournesol à 110°C pendant 48 heures. A l'inverse, **Blanc et al., (1992)** ont rapporté un taux maximum de peroxydes estimé à 290 méq/kg après un chauffage d'huile de tournesol à 98°C pendant 24heures.

Par ailleurs, comparativement à l'huile de tournesol fraîche utilisée dans ce présent travail avec un IP de **1** mmol d'O₂/kg d'huile, le traitement d'oxydation appliqué a induit une augmentation de l'indice de peroxyde jusqu'à une valeur de **258** mmol d'O₂/kg d'huile. Ce taux élevé indique une altération de l'huile par le chauffage. **Uzzani (1992)** a attribué cette variation

aux effets combinés de la température et de l'insufflation d'oxygène lors du chauffage induisant ainsi, la formation de peroxydes. De même, **Crapiste et al., (1999)** ont montré que la formation de peroxydes augmente de façon notable avec le chauffage et la disponibilité d'oxygène. Ces auteurs suggèrent, que l'augmentation de la température d'oxydation entraîne une décomposition des hydro-peroxydes en dimères secondaires tels que les aldéhydes qui disparaissent plus vite qu'ils ne se forment d'où l'apparition d'un plateau comme dans notre cas (*figure 18*). Selon **Crapiste et al., (1999)**, la diminution de la valeur de l'IP (après avoir atteint son maximum) est due à la catalyse des réactions de décomposition qui deviennent prédominantes. Les hydro-peroxydes sont des produits intermédiaires labiles qui se décomposent en divers produits secondaires d'oxydation. **Dobarganes et Perezcomino (1985)** ajoutent que lors d'un processus d'auto-oxydation, les phénomènes de la formation des hydro-peroxydes et de la destruction sont en fait étroitement liés l'un à l'autre et se déroulent souvent en même temps.

III.1.3. Etude du profil en acides gras

L'étude du profil en AG de l'huile de tournesol à l'état frais et après traitement thermo-oxydatif permet de déterminer et d'estimer la perte en Ac. linoléique, principal acide gras de l'huile de tournesol. L'analyse chromatographique lipidique obtenue pour l'huile fraîche et thermo-oxydée est illustrée dans le (*Tableau VII*).

Tableau VII : Composition en acides gras des huiles fraîche et oxydée exprimée en pourcentage d'acide gras totaux.

<i>Acides gras</i>	<i>Huile fraîche</i>	<i>Huile oxydée</i>
<i>Esters polaires</i>	<i>000,00</i>	<i>43,30</i>
<i>Acides gras normaux (%)</i>	<i>100,00</i>	<i>56,70</i>
<i>C14 : 0</i>	<i>00,05</i>	<i>Nd</i>
<i>C16 : 0</i>	<i>05,62</i>	<i>05,62</i>
<i>C18 : 0</i>	<i>03,57</i>	<i>04,32</i>
<i>C18 : 1 (n-9)</i>	<i>27,48</i>	<i>2,52</i>
<i>C18 : 2 (n-6)</i>	<i>61,56</i>	<i>19,85</i>
<i>C18 : 3 (n-3)</i>	<i>00,19</i>	<i>00,25</i>
<i>C20 : 0</i>	<i>00,23</i>	<i>00,11</i>
<i>AG non identifiés</i>	<i>01,30</i>	<i>01,03</i>
<i>AGS</i>	<i>09,48</i>	<i>10,05</i>
<i>AGMI</i>	<i>27,48</i>	<i>25,52</i>
<i>AGPI</i>	<i>61,76</i>	<i>20,09</i>

Nd : Non déterminé

D'après le (*Tableau VII*), on constate que **56,70%** des acides gras ne sont pas altérés représentés par **25,52%** d'acide oléique et **19,85%** d'acide linoléique.

Selon **Perin et al., (1985)**, l'acide linoléique est le seul acide gras qui constitue l'ester polaire. La sensibilité des doubles liaisons, notamment des AGPI à l'action combinée de la chaleur et de l'oxygène serait à l'origine de l'augmentation de la saturation de l'huile chauffée. En effet, l'oxydabilité des AGPI est plus élevée que celle des AGMI et saturés (Ac. linoléique

>Ac. Linoléique> Ac. oléique) due essentiellement à leur faible énergie d'activation pour la fonction radicalaire (**Jiyeun et al.,2007**).

D'autre part, l'influence de la composition en acides gras sur la stabilité d'une huile a été mise en évidence par plusieurs études (**Martin-Polvillo et al.,2004 ; Lee et al., 2010**). L'huile de tournesol serait plus oxydable suite à son rapport élevé en (AGPI/AGMI) et à la forte réactivité des AGPI comparativement aux acides gras mono-insaturés (**Kamel-Eldin, 2003 ; et Dobargane et Marquez Ruiz 2003**).

Nos résultats illustrés dans le (**Tableau VII**) indiquent une réduction du taux d'Ac. linoléique. D'après **Kowalski (2007)**, un traitement thermique pendant un temps prolongé exerce un effet délétère sur la composition quantitative en acides gras. Cet auteur a constaté une réduction de la concentration en AG des huiles d'olive et de tournesol chauffées respectivement à 90°C et 120°C pendant 72 heures. La diminution enregistrée pour l'huile d'olive et de tournesol ont été de **11%** et **15%** respectivement et après 120 heures de chauffage cette baisse est d'environ **18%** et **20%**. La faible perte en AG totaux de l'huile d'olive par rapport à l'huile de tournesol, semble être attribuée d'une part, à sa faible teneur en Ac. linoléique qui est un AGPI facilement oxydable et d'autre part, à sa forte teneur en Ac. Oléique qui la rend moins rapidement oxydative (**Konopka et al.,2003**).

De même, **Dobargane et Perez-camino (1985)** ont rapporté après un chauffage d'huile de tournesol à 200°C pendant 100 heures, une altération d'acides gras identique à nos résultats ; montrant pour l'Ac. Oléique et linoléique des pourcentages de **36** et **44%** respectivement. **Blanc et al., (1992)** ont pour leur part, trouvé après 30 heures de chauffage à 98°C avec insufflation d'air, une réduction remarquable d'Ac. oléique et linoléique avec des taux de 32 et 42% respectivement.

D'après nos résultats portés dans le (**Tableau VIII**), il ressort une diminution considérable du C18 :2 ω 6 (**61,56 %**) pour l'huile fraîche contre (**19,85%**) pour l'huile oxydée. Ceci est dû à l'insertion des molécules d'oxygène incluses dans l'air insufflé sur les doubles liaisons de l'Ac. linoléique. De plus, l'agitateur du réacteur utilisé dans notre étude a favorisé le contact entre la formation du groupement OH⁻ facilitant la fixation de nouveaux fragments de molécules, phénomène appelé la polymérisation (**Guillaumin et al.,1977**). Selon ce dernier, les AGPI sont les principaux supports des réactions d'oxydation et de polymérisation dans une huile maintenue à une température élevée.

De plus, **Marmesat *et al.*, (2009)** ont rapporté qu'un traitement thermique de l'huile de tournesol à 40°C et à l'obscurité, entraîne une perte de 0,8g/100g d'Ac. oléique et 10,1g/100g d'Ac. linoléique. De même, **Crapiste *et al.*, (1999)** ont trouvé une perte continue en AGPI particulièrement en Ac. linoléique. Cette perte est plus prononcée à température élevée et elle se traduit par une augmentation du rapport Ac. oléique /Ac. linoléique (O/L), ce qui confirme la sensibilité particulière de l'Ac. linoléique dans les réactions d'oxydation alors que l'Ac. oléique semble plus résistant.

Le traitement thermo-oxydatif appliqué dans notre étude, a induit une augmentation du rapport (O/L= **0,44**) pour l'huile fraîche tandis que celui de l'huile oxydée est de **1,82**. La force des liaisons carbone-hydrogène dans les molécules d'AG justifie les différences de l'intensité d'oxydation des acides stéarique, oléique, linoléique et linoléique durant l'oxydation thermique (**Marquiez-Ruiz et Dobarganes,1996**).

Par ailleurs, une réduction importante des niveaux d'Ac. oléique et linoléique a été enregistré pendant la thermo oxydation des huiles (**Romero *et al.*,1998**) et durant la friture (**Choe et Min,2007**).

En outre, les changements dans la composition en AG des huiles lors d'un traitement thermique, en particulier la diminution des taux en Ac. linoléique et du rapport (Ac. linoléique/ Ac. palmitique) sont considérés comme des indicateurs précis du niveau de détérioration.

En effet, **Thompson et Rae, (1983)** et **Fauziah *et al.*, (2000)** ont constaté une perte progressive en Ac. linoléique (C18 : 2 ω6) dans l'huile de tournesol avec un rapport (Ac. linoléique/Ac. palmitique) diminué.

Dans notre étude, la thermo-oxydation de l'huile de tournesol utilisée a entraîné une réduction du rapport (Ac. Linoléique/Ac. palmitique), les valeurs enregistrées pour l'huile fraîche et thermo-oxydée sont respectivement de **10,95** et **3,53**.

Dans une étude comparative, **Kowalski (2007)** a démontré une diminution en AG de l'ordre de 15% après un chauffage de 72 heures de l'huile d'olive et de 20% après 120 heures de chauffage de l'huile de tournesol par rapport aux valeurs initiales. Cette perte en AG totaux dans l'huile d'olive jugée légère est due à sa faible teneur en Ac. linoléique. Le contenu en cet Ac. gras essentiel s'épuise rapidement suite à sa sensibilité à l'oxydation alors que l'Ac. Oléique qui est abondant dans cette huile est moins facilement oxydée (**Konopka *et al.*,2003**).

III.1.4. Etude des produits secondaires de l'oxydation

Les TG sont les majeurs constituants de l'huile. L'oxydation de l'huile détruit les AG des TG et donne naissance à des composés toxiques et des polymères oxydés. Le (**Tableau VIII**) illustre les teneurs en composés polaires et polymérisés de l'huile oxydée.

Tableau VIII : Teneurs en composés polaires et polymérisés de l'huile oxydés

Caractéristiques globales	
Triglycérides (%)	
Triglycérides non modifiés	28,30
Glycérides polaires	71,70
Esters méthyliques (%)	
Esters normaux	56,70
Esters polaires	43,30
Rapport des composés issus de l'oxydation (%)	
Esters polaires/glycérides polaires	60,90

Il est à souligner que l'oxydation lipidique est contrôlée par l'évaluation des diènes conjugués et des hydro-péroxydes. L'évolution de ces derniers durant le traitement, révèle l'effet de la température sur l'oxydation des lipides et le taux des marqueurs augmente linéairement avec la température. Cette évolution est cohérente, car l'oxydation des AGPI conduit à la formation de la fonction diénoïque conjuguée conservée tout au long de la chaîne lipidique (**Marmesat et al.,2009**).

Par ailleurs, une corrélation significative a été trouvée entre les diènes conjugués et les hydro-péroxydes lors d'un traitement d'huile de tournesol (**Marmesat et al.,2009 ; Roman et al., 2013**). En outre, les TG s'oxydent par traitement thermique en composés polaires de différents poids moléculaires et structuraux (**Zeb et Murkovic, 2010 ;2011**).

Arroy et al., (1992) ont rapporté que les composés polaires formés lors d'un traitement thermique de l'huile de tournesol sont significativement liés aux polymères triglycérides, diènes triglycérides et triglycérides oxydés. Ainsi, la formation de composés polaires est un indicateur de la qualité d'huile, de son niveau de dégradation et du potentiel antioxydant de l'huile (**Zeb et Murkovic, 2013**).

Dans notre travail, l'huile de tournesol oxydée durant 46 heures présente une mousse stable en surface, qui contient **71,7%** de glycérides polaires et **43,3%** d'esters polaires (**Tableau VIII**). Ces résultats confirment la dégradation importante de l'huile. A partir de ces données pondérales, **Perin et al., (1985)** ont proposé de calculer différents rapports susceptibles de fournir des indications intéressantes, notamment sur le degré de polymérisation ou polarité des esters.

En effet, le rapport (esters polaires / glycérides polaires) permet de connaître le nombre d'Ac. Gras altérés dans les chaînes polaires. Dans cette présente étude, ce rapport est de **60,39%** donc il y a des glycérides **1** à **2** chaînes polaires, car ce rapport prend des valeurs de **33-66** ou **100** lorsqu'une, deux, ou trois chaînes d'AG sont polaires par molécule de glycérides polaires, les pontages sont intermoléculaires au sein d'un même triglycéride. Ces résultats reflètent que l'huile oxydée est profondément altérée (**Dobarganes et Perez-camino, 1985**). Dans ce sens, de nombreux travaux ont été réalisés sur des huiles oxydées afin d'évaluer leurs états de dégradation :

En **1973**, **Guillaumin** a oxydé une huile durant 20 jours par chauffage à 220°C à travers des cycles répétés quotidiennement, équivalent à un séjour de 10 à 20 heures à plus de 200°C induisant ainsi, un pourcentage de 10% d'esters polaires.

De même, **Blanc et al., (1992)** ayant oxydé une huile de tournesol pendant 30 heures à 100°C avec insufflation d'air, ont enregistré un taux de 41,40% d'esters polaires, 84,40% de glycérides polaires et 33% d'esters polymérisés. Ces résultats confirment une dégradation étendue due à l'insufflation d'air.

Le décret français n° **86-857 du 18 juillet 1986**, stipule que les graisses et les huiles dont la teneur en composés polaires est supérieure à 25% sont impropres à la consommation humaine.

En effet, l'oxydation des huiles à de haute température, détruit les AG en produisant des polymères oxydés. De plus, l'oxydation thermique entraîne une forte décomposition des produits primaires d'oxydation avec la formation de dimères ou composés oxydés en plus des produits hyperoxydes (Jiyeun *et al.*, 2007).

Par ailleurs, Melton *et al.*, (1994) ont noté un taux de composés polaires de 3,26 pour l'huile fraîche contre 29 après oxydation. Ces résultats sont similaires à ceux de Andrali *et al.*, (2010) qui ont rapporté que les composés polaires de l'huile de tournesol chauffée à 180°C pendant 24 heures fournit les meilleures mesures d'extension oxydative de dégradation. Leurs résultats ont révélé que le taux des composés polaires augmente presque linéairement avec le temps de chauffage.

III.2. EFFETS DE L'OXYDATION ET DE LA SUPPEMENTATION EN VIT E SUR CERTAINS PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES

III.2.1. Croissance pondérale

La croissance pondérale des rats soumis à l'huile de tournesol oxydée, avec ou sans supplémentation en α -Toc est représentée par la (figure 19).

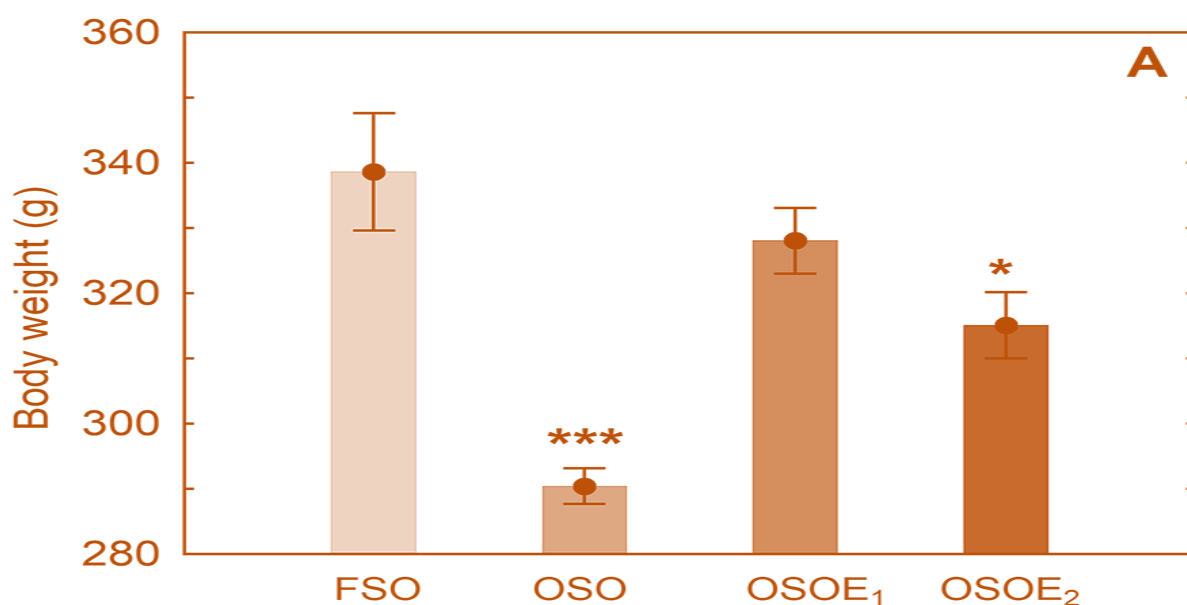


Figure 19 : Effet d'une supplémentation en α -Toc (600 et 1200 mg.kg⁻¹) d'un régime contenant 5% d'huile oxydée sur le poids des rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (*p<0.05, ** p<0.01, *** et p<0.001 entre témoin et groupe traités)

On constate que le poids des rats du lot *OSO* est significativement plus bas par rapport au lot témoin. Nos résultats vont dans le même sens que ceux de **Osim et al., (1996)** qui ont obtenu une réduction du poids corporel des rats soumis à l'huile de palme oxydée à 150 °C pendant 5 heures. De même, **Sheehy et al., (1994)** ont trouvé une diminution significative du poids corporel des poussins soumis à l'huile de tournesol oxydée pendant 11 heures à 120°C. Le même résultat est obtenu par **Hayam et al., (1994)** chez des rats nourris pendant 7 semaines à l'huile de soja oxydée. **Burenjargal et Totani (2008)** ont rapporté une réduction du poids des rats soumis à l'huile de tournesol oxydée pendant 10 heures à 180°C par rapport à ceux nourris à l'huile fraîche. De même, **Falade et al., (2015)** ont montré chez des rats recevant de l'huile de palme oxydée pendant 4h à 180°C et pour une période de 4 semaines, une baisse significative du poids corporel. Dans le même sens, **Boler et al., (2015)** ont obtenu après 56 jours, une diminution du poids corporel des tumulus après administration de l'huile de maïs oxydée à 95°C avec un indice de peroxyde de 150 mEq/kg de régime.

La baisse significative du poids corporel des rats soumis à l'huile oxydée peut être expliquée par les diarrhées et la diminution de la prise alimentaire, voir perte d'appétit suite à l'apparition de goût et d'odeur caractéristiques de l'huile oxydée. De plus, l'oxydation des huiles donne naissance aux diènes oxygénés toxiques avec un apport lipidique faible vu la dégradation de l'Ac. linoléique.

D'après **Miller et Long (1990)** ; **Marquez-Ruiz et al., (2008)** ainsi que **Shurson et al., (2015)**, les produits primaires et secondaires de la peroxydation réagissent avec les acides aminés et les lipides dans le tractus gastro-intestinal, ce qui réduit la digestibilité des protéines chez les rats. En effet, **Koven et al., (2001)** ont rapporté que la baisse de croissance des poissons nourris par un régime oxydé est le résultat d'une augmentation du stress oxydatif causé à la fois, par la baisse de la valeur nutritive du régime suite à la perte des AGPI ou à la production des peroxydes lipidiques (**Fontagné-Dicharry et al 2014**).

Dans ce contexte, **Kirk (1984)** et **Nielsen et al., (1985)** ont démontré que l'oxydation des huiles conduit à des réactions entre les acides aminés et les produits primaires et secondaires des lipides, ce qui entraîne une déficience nutritionnelle en vit E, en acides gras essentiels et en acides aminés réduisant ainsi, la digestion et l'absorption protéique.

En revanche, les travaux menés par **Zdunzyk et al., (2000)** ; **Eder et al., (2002)** et **Keller et al., (2004)** ont rapporté des résultats inverses aux nôtres. Ils suggèrent de plus, que

l'huile oxydée n'a aucun effet significatif sur le poids corporel et la prise alimentaire compte tenu de l'odeur, du goût et de la digestibilité des protéines et des lipides non affectés.

Par ailleurs, **Blanc et al., (1992)** ont signalé un effet léthal lors de l'incorporation de l'huile de tournesol à 12% dans un régime alimentaire. De même, **Blas et al., (2010)** et **Casado et al., (2011)** ont enregistré un taux de mortalité d'environ 42% et 31.8% chez des lapins soumis respectivement aux huiles de soja et de tournesol oxydée pendant 31h à 140°C.

Inversement, notre étude a montré une tolérance partielle des rats vis-à-vis des dérivés oxydés, néanmoins aucune mortalité n'a été enregistrée.

D'autre part, la supplémentation du régime avec 600mg d' α -Toc/kg d'aliment (lot **OSOEI**) élève le poids corporel, bien que cette augmentation ne soit pas significative. Ceci est expliqué par le fait que, l' α -Toc neutralise les dommages du stress oxydatif induit par les radicaux libres. En effet, l' α -Toc contribue à la stabilité membranaire en la protégeant contre les effets néfastes des produits de la peroxydation lipidique (**Iranloye et Ouldare, 2011 ; Abbas et Sakr, 2013**).

Nos résultats sont corroborés par ceux de **Sheehy et al., (1993)** sur le poulet nourri avec de l'huile de tournesol oxydée pendant 11heures à 120°C après 32jours. A l'inverse, **Hsieh et Li (2005)** n'ont constaté aucune différence significative dans les poids des souris témoins et celles soumises à un stress oxydant en présence de 375mg d' α -Toc /kg de poids corporel après 5mois de régime expérimental.

De même, **Guimaraes et al., (2014)** ont trouvé après 8 semaines de régime, une légère augmentation du poids corporel des rats de souche **SURSP** hypertendus et supplémentés avec 120 UI d' α -Toc/ poids corporel comparativement aux témoins sains, sans toutefois que cette différence ne soit significative.

Néanmoins, des résultats discordants ont été trouvés, notamment ceux de **Lie et al., (1995)**, qui ont observé après 6 mois d'expérimentation une légère diminution bien qu'elle ne soit pas significative dans les poids corporels des rats mâles *Long Evans* soumis à 15% d'huile de soja oxydée et supplémentée avec 500 mg d' α -Toc par rapport à ceux nourris à 15% d'huile de soja fraîche.

Nos résultats sont confirmés par ceux de **Balakrishan et al., (2013)**, qui ont réalisé une étude sur des rats *Wistar*, dont l'objectif est l'évaluation de l'effet oxydant du chromonium supplémenté ou non avec de l' α -Toc à 125 mg/kg du poids corporel pendant 8 semaines. Leurs résultats ont montré un retour à la normale du poids corporel des rats soumis au chromonium supplémenté avec de l' α -Toc comparé à celui des témoins.

Dans la présente étude, la supplémentation de l'huile de tournesol oxydée avec 1200mg/kg d'aliments lot (**OSOE2**) n'avait aucun effet positif sur la croissance. Ainsi, nous avons noté une diminution non significative par rapport aux lots témoin et (**OSOE1**).

L'étude de **Boggio et al., (1985)** a rapporté que le traitement des poissons avec l'huile de porc à différentes doses d' α -Toc (50, 500 et 5000 mg d' α -Toc /kg d'aliment), n'avait aucun effet significatif sur leur croissance. Des résultats similaires ont été trouvés par **Kiron et al., (2004)** chez les truites *Oncorhynchus mykiss* soumises à différentes huiles telles que (le tournesol et le lin) supplémentées chacune par différentes doses d' α -Toc 100 et 1000 mg/kg d'aliments.

Ainsi, nos résultats concordent avec ceux de **Bayraktar et al., (2011)** sur le poulet mâle de souche *Ross 308*, qui ont trouvé qu'une supplémentation d'une huile de tournesol oxydée avec 200 mg d' α -Toc /kg d'aliment de poids corporel durant 6 semaines, n'améliore pas le taux de croissance par rapport au témoin à base d'huile de tournesol fraîche sans α -Toc.

L'effet d'un pesticide méthamidophos combiné à un antioxydant α -Toc à 200 mg/kg de poids corporel chez les rats mâles *Wistar* pendant 4 semaines, n'avait aucun effet significatif sur le poids corporel comparé au lot témoin. Également, **Gao et al., (2012)** n'ont trouvé aucune différence significative dans le poids corporel des rats soumis durant 21 jours à l'huile de poisson fraîche ou oxydée supplémentée avec de la vit E.

De la même façon, **Linn et al., (2014)** ont démontré chez le poisson que la supplémentation en différentes doses de la vit E (100, 200 et 400 mg/kg d'aliments) soumis à l'huile de foie de morue n'influe pas significativement sur le poids corporel.

Dans cette présente étude, aucune mortalité n'a été enregistrée pour tous les lots et aucune lésion cutanée ou de la queue n'a été observée pour les rats recevant les régimes à base d'huile de tournesol oxydée et supplémentée en α -Toc. Cependant, une diminution de la prise alimentaire et des diarrhées a été constaté pour les lots oxydés et celui supplémenté avec

1200mg d' α -Toc. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Liu et Huang (1999)** qui ont noté un abaissement significatif de la prise alimentaire chez les rats mâles *Long-Evans Wealing* nourris durant 9 semaines par de l'huile de soja oxydée par rapport à l'huile fraîche.

Anjum et al., (2002) ont également rapporté une diminution de la prise alimentaire chez le poulet soumis à l'huile de soja oxydée après 42 jours. Dans le même sens, en 2007, **Yuan et al.,** ont enregistré une réduction significative de (12%) de la prise alimentaire chez le porc soumis à 5% d'huile hautement peroxydée (786 mEq O₂/kg) pendant 2 semaines. Aussi, **Kimura et al., (1984)** ont obtenu une réduction de la prise alimentaire et du poids corporel avec des perturbations digestives chez les rats exposés à des doses de 10% de peroxydes dont l'indice était supérieur à 380. D'après **Cabel et Waldroup (1888)**, la réduction de la prise alimentaire est due à l'odeur de rance des peroxydes lipidiques expliquant nos résultats.

III.2.2. Poids rénal

Le poids relatif des organes indique généralement une toxicité qui s'installe et c'est un indicateur important d'hypertrophie ou d'atrophie (**Amresh et al.,2008**). L'élévation de ce paramètre indique une inflammation tandis qu'une diminution peut être associée à un rétrécissement cellulaire.

Les poids des tissus rénaux représenté par la (**figure 20**), montre une réduction non significative chez les rats soumis à l'huile oxydée et ceux supplémentés avec différentes doses d' α -Tocophérol.

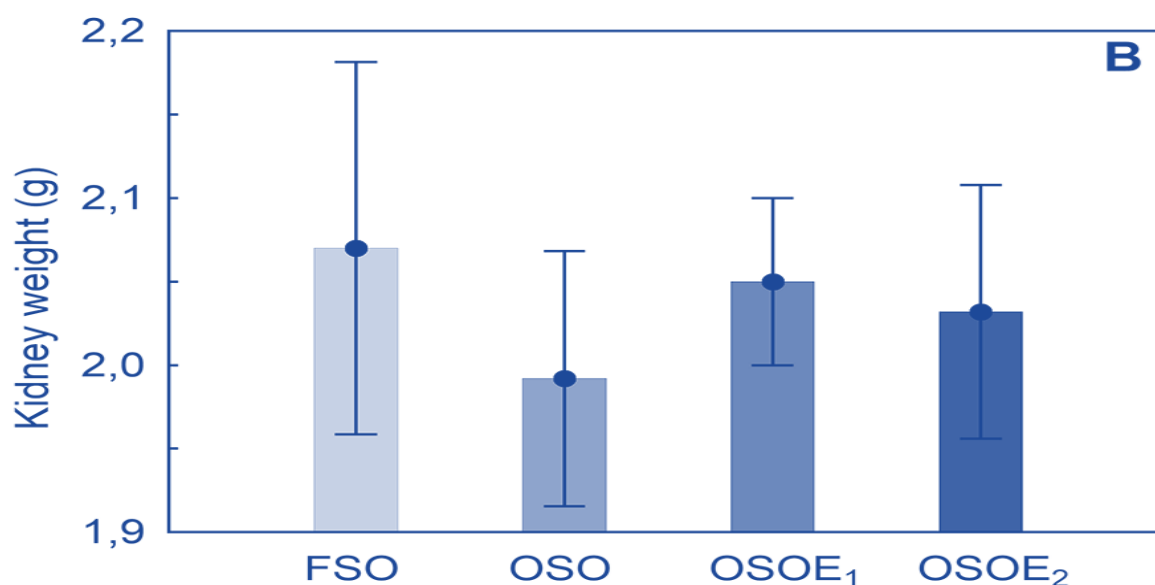


Figure 20 : Effet d'une supplémentation en α -Toc (600 et 1200mg.kg⁻¹) d'un régime contenant 5% d'huile oxydée sur le poids rénal des rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (*p<0.05, ** p<0.01, *** et p<0.001 entre témoin et groupe traités)

En effet, la même diminution non significative dans le poids des reins a été constatée par **Totani et al., (2006)** chez des rats *Wistar* nourris pendant 8 semaines avec de l'huile de soja thermo-oxydée comparativement à l'huile fraîche. **Boniface et al., (2014)** ont également trouvé que le traitement des rats *Wistar* durant 4 semaines à l'huile de palme oxydée n'a pas d'effet significatif sur le poids du tissu rénal.

En 2015, **Elbially et al.,** ont étudié l'effet d'un mélange d'huile de tournesol et de soja thermo-oxydées sur le poids rénal des rats *Sprague Dawley* durant 12 semaines ; leurs résultats n'indiquaient aucun effet significatif. Néanmoins, certains travaux notamment ceux de **Billek, (2000) ; Totani et Ojiri, (2007) ; Oladiji et al., (2009)**, ont rapporté que certaines fractions et composés polaires totaux de l'huile thermo-oxydée peuvent augmenter le poids du tissu rénal. **Rwney (2011)** a démontré que l'huile de soja thermo-oxydée avec un indice de peroxyde de 14 mEq/kg augmente significativement les LPO dans plusieurs organes tels que le foie, le rein, le cerveau et les testicules.

Par ailleurs, nos résultats concordent avec ceux de **Yang et Dessai, (1977)** qui ont obtenu une diminution du poids du tissu cardiaque chez des rats nourris durant 8 mois par différentes doses de vit E (2500, 10 000 et 25 000 UI α -Toc/kg d'aliments). Ces auteurs ont associé cette réduction à la perte de poids corporel. Le même résultat a été trouvé par **Rouaki et al., (2013)** chez des rats *Wistar* en croissance traités par de l'huile de tournesol oxydée et

supplémentée avec 600 et 1200 mg /kg d'aliments pendant 12 semaines. Parallèlement, l'étude de **Iranloye et Ouldare (2011)** a révélé que l'administration de 100 mg d' α -Toc /kg d'aliment chez des rats soumis à un stress oxydatif durant 21 jours, n'avait aucun effet significatif sur le poids rénal par rapport au témoin.

III.2.3- Peroxydes lipidiques et le système antioxydant enzymatique et non enzymatique

L'évaluation des peroxydes lipidiques exprimées en nmoles de MDA formés/mn des lots à base d'huile oxydée et supplémentée en α -Toc est représenté par la (**figure 21**).

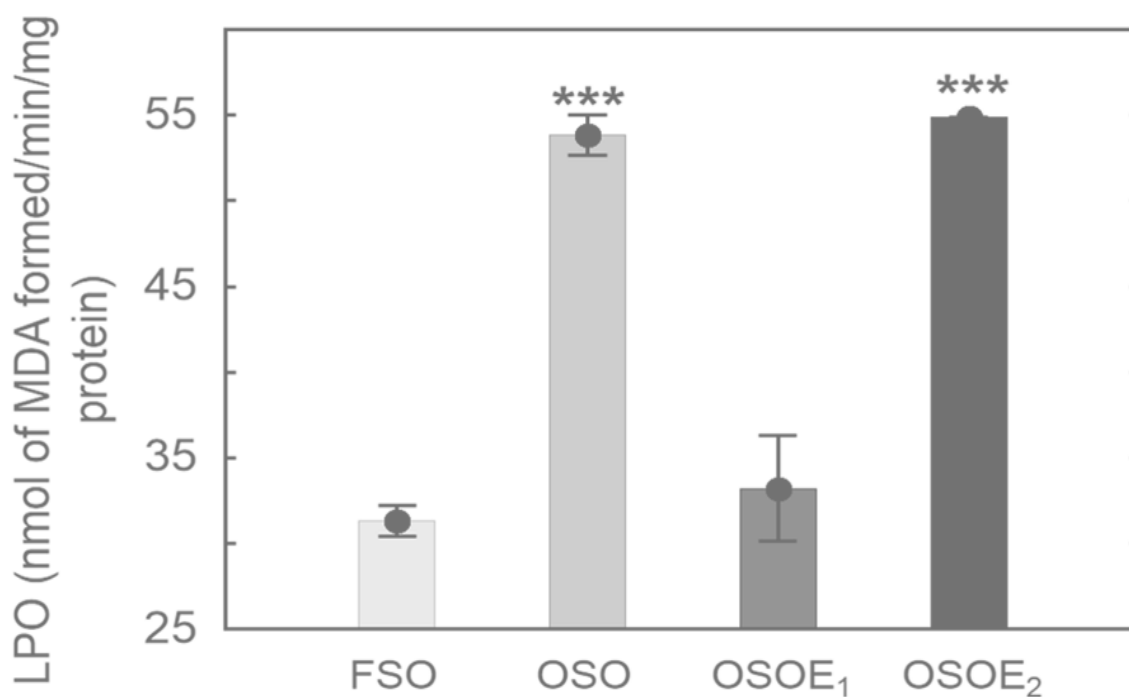


Figure 21 : Effet d'une supplémentation en α -Toc (600 et 1200mg.kg⁻¹) d'un régime contenant 5% d'huile oxydée sur le taux de LPO des rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (*p<0.05, ** p<0.01, *** et p<0.001 entre témoin et groupe traités).

Comme indiqué par la (**figure 21**), le taux de MDA est significativement plus élevé pour le lot soumis à 5% de l'huile de tournesol oxydée que pour le lot témoin (huile fraîche).

Plusieurs travaux menés sur l'effet des huiles thermo-oxydées sur les paramètres structuraux et fonctionnels chez l'animal, montrent une modification du taux des MDA, des

activités antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques et de l'altération de l'équilibre de la balance antioxydant/pro-oxydant.

Ainsi, l'étude de **Anjum et al., (2002)** a démontré chez le poulet, une augmentation significative des MDA après 42 jours d'ingestion de 3% de l'huile de soja thermo-oxydée dont l'indice de peroxyde est de 49,01mEq/kg. De même, **Hayam et al., (1995)** ont trouvé chez des rats *Sprague Dawley* nourris pendant 7 semaines à l'huile de soja oxydée par insufflation d'air et à une température de 80°C durant 5jours, une augmentation significative des MDA dans les fractions HDL et VLDL, avec une réduction significative des activités enzymatiques de la GPx, la GR et la G6PDH au niveau hépatique.

En 1999, **Nwanguma et al.,** ont obtenu une augmentation significative du taux de MDA rénal chez des rats *Wistar* après 21jours d'incorporation d'huile de maïs oxydée à 180°C pendant 18heures comparativement à l'huile fraîche. Ils expliquent que, l'élévation des peroxydes lipidiques peut être responsable de l'initiation de la toxicité et des dommages des tissus. Cependant, selon **Halliwell et Gutteridge (1989)**, cette augmentation est une conséquence ou une cause des dommages tissulaires ; si c'est une conséquence, la hausse des lipo-peroxydes devrait se produire à la fin de la toxicité et des dommages tissulaires ; ceux-ci auraient lieu au point de la lyse et la mort cellulaire. Contrairement, s'ils sont la cause des dommages tissulaires, l'élévation des peroxydes lipidiques devrait se manifester au début des séquences de toxicité.

Schiavone et al., (2009) ont étudié la corrélation entre l'intégrité des membranes érythrocytaires chez le poulet de chair et la peroxydation lipidique. Ils ont observé après 35jours, une élévation significative du taux des TBARS chez le poulet soumis à 6% de l'huile de tournesol oxydée pendant 22h à 185°C par rapport au témoin à base d'huile fraîche.

Des résultats inverses ont été trouvés par **Bayraktar et al., (2011)** chez l'oiseau après 6 semaines de régime à base d'huile de tournesol oxydée et intensivement aérée lors du processus de chauffage à 80°C jusqu'à atteindre un indice de peroxyde de 100 mEq/kg. Leurs résultats n'ont montré aucune différence significative dans les valeurs des MDA plasmatique comparativement à l'huile fraîche.

Par ailleurs, **Falade et al., (2015)** ont constaté une augmentation significative des MDA sérique et hépatique, chez des rats albinos soumis pendant 4 semaines à l'huile de palme ayant

subi un nombre de friture de 10, 15 et 20 à 185°C par rapport à l'huile fraîche. En outre, les valeurs de MDA hépatique sont significativement plus élevées que celles du plasma. Ces auteurs suggèrent que l'augmentation des MDA hépatique est due à la formation des radicaux libres suite à l'oxydation thermique de l'huile de palme. **Sushma et al., (2013)** suggèrent que le foie est plus sujet à la peroxydation compte tenu de son rôle dans la détoxification et son exposition aux autres espèces réactives qui sont capables de compromettre l'intégrité membranaire et entraîner ainsi, un stress oxydant par une baisse de l'activité des enzymes antioxydantes hépatiques. Contrairement à ces auteurs précédents, **Izaki et al., (1984)** n'ont indiqué aucun changement dans le taux des TBARS plasmatique et rénale chez les rats nourris à l'huile de colza oxydée, lié probablement à la différence dans la composition en acides gras des huiles.

Nos résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par **Boler et al., (2015)** dont l'objectif portait sur l'étude de l'effet de l'huile de maïs oxydée par insufflation d'air à 95°C avec un indice de peroxyde de 150 mEq/kg sur le taux des TBARS et de la GPx hépatique. Ces auteurs ont obtenu une élévation significative des TBARS suite à l'oxydation des AGPI de l'huile, alors que le taux de GPx diminue significativement dans le foie suite à l'augmentation des TBARS et des produits carbonylés.

En 2016, l'étude réalisée par **Wang et al.**, a enregistré une hausse significative des MDA hépatique chez le poisson après 10 semaines de traitement à l'huile de poisson oxydée par insufflation d'air à 50 °C et avec un indice de peroxyde de 104,21mEq/kg.

Venkata et Subramanyam (2016) ont traité des rats par un régime alimentaire contenant de l'huile oxydée à 300°C pendant 30mn. Après 28 jours de régime, ils ont obtenu une augmentation significative des MDA hépatique et des activités enzymatiques antioxydantes notamment la GPx et la SOD, alors que le taux de la CAT est significativement bas par rapport à l'huile fraîche.

En effet, le statut du métabolisme oxydatif est souvent caractérisé par la mesure des TBARS et de la concentration des antioxydants au niveau sérique et tissulaire. Ainsi, un niveau élevé de TBARS avec un faible taux d' α -Toc ont été trouvé chez le poulet nourri à l'huile végétale avec un indice de peroxyde de 17,6mEq/kg (**Engberg et al., 1996**). Les mêmes résultats au niveau hépatique et sérique ont été observés chez le porc (**Fernandez Duenas, 2009**).

Les travaux de **Sulze *et al.*, (2004)** sur les rats et ceux de **Liu *et al.*, (2014)** chez le porc ont rapporté que les régimes thermo-oxydés altèrent les lipides membranaires, ce qui augmente le taux des TBARS suite aux changements dans les gènes de régulation. Cette altération est induite par l'activation du PPAR α (Peroxisome Proliferator Activated Receptor α) à travers la régulation de certains gènes cibles, tels que l'Acyl CoA oxydase, la catalase et la carnitine palmitoyl transférase-1. Le facteur de transcription PPAR α contrôle l'expression du métabolisme oxydatif des acides gras sur plusieurs aspects, incluant l'absorption de ces derniers à travers la membrane, leur activation, trafic intracellulaire et oxydation, le stockage des TG et la lipolyse (**Cabrero *et al.*,2001**). Divers mécanismes concernant le rôle de régulation des PPAR α dans les lipides membranaires ont été étudiés alors que beaucoup de rôles restent encore inconnus. Les dernières études chez le porc nourri à l'huile thermo-oxydée, ont révélé une élévation significative de l'activité des PPAR α hépatique indiquant ainsi l'altération du métabolisme des AG (**Liu *et al.*,2014**).

Inversement à nos résultats, l'étude de **Kok *et al.*, (1988)** chez les rats soumis à 15% d'huile oxydée pendant 72heures à 180°C, n'a révélé aucun changement significatif dans le taux des MDA hépatique après 4 semaines de régime. Un résultat similaire a été obtenu par **Orada *et al.*, (1988)** chez des souris après 3 mois de régime à base de 0,6% d'huile oxydée avec un indice de peroxyde de 3 mEq/kg de poids corporel. Néanmoins, la quantité de MDA a doublé dans le foie et triplé dans le sérum, après 24heures d'incubation gastrique d'une concentration de 270 mEq de peroxyde/kg d'aliment. L'ensemble de ces auteurs suggèrent que l'effet délétère des AG oxydés notamment, la production excessive des TBARS au niveau tissulaire, dépend de la quantité ingérée, de la voie d'administration, de la nature et la structure chimique de ces acides gras oxydés.

Parallèlement à l'augmentation significative du taux de MDA rénale dans notre étude, on a constaté une baisse significative de la concentration en α -Toc (**figure 22**), avec une réduction hautement significative des activités enzymatiques de la Cat, SOD, GPx, G6PDH et GR chez le lot oxydé (**OSO**) par rapport au témoin (**FSO**) (**Figures 23, 24, 25,26 et 27**).

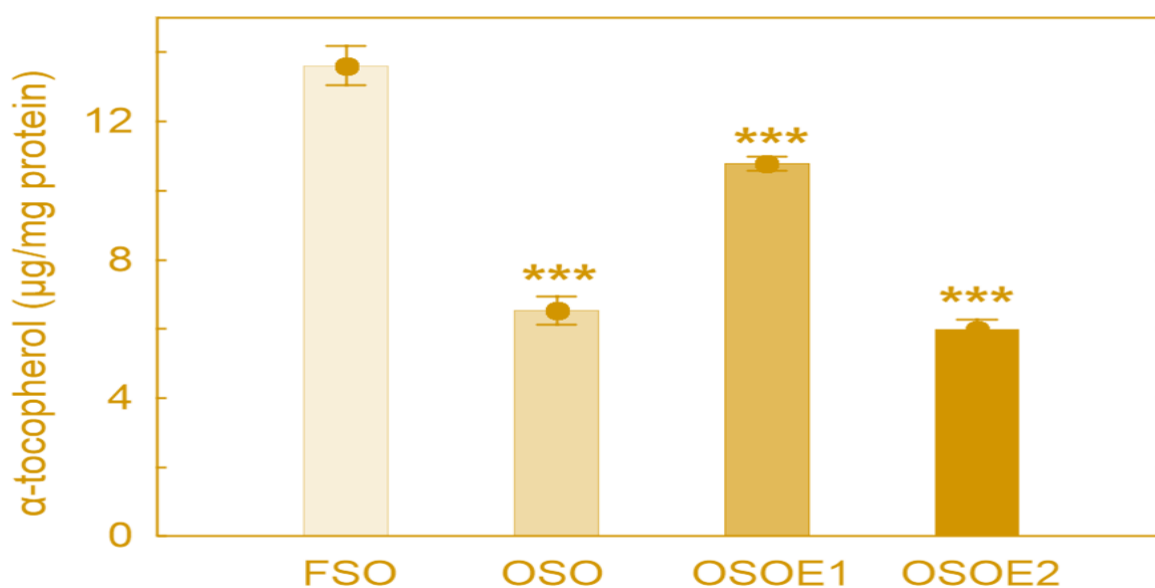


Figure 22 : Effet d'une supplémentation en α -Toc (600 et 1200mg.kg⁻¹) d'un régime contenant 5% d'huile oxydée sur le taux d' α -Toc des rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (*p<0.05, ** p<0.01, *** et p<0.001 entre témoin et groupe traités).

Sheehy et al., (1994) ont trouvé une diminution significative de l' α -Toc au niveau du foie, du cerveau, du cœur, du poumon, de la rate, du pancréas et le plasma chez le poulet nourri à l'huile de tournesol thermo-oxydée après 32 jours de régime. Ces auteurs expliquent cette baisse d' α -Toc dans le tractus digestif par sa destruction par les radicaux libres présents dans l'huile, y compris ceux produits par la dégradation des hydro-péroxydes et catalysée par les ions Fe⁺² et Cu⁺². Ainsi, l'hydrolyse de l' α -Toc dans l'intestin est altérée par les produits de peroxydation des lipides et de ce faite, la quantité d' α -Toc disponible pour l'absorption serait réduite.

Par ailleurs, les preuves disponibles indiquent que les hydro-péroxydes lipidiques sont mal absorbés, alors que les radicaux pyroxyles réagissent moins avec d'autres AGI dans le tractus digestif qu'avec ceux transférés dans la lymphe ou le plasma (**Izaki et al.,1984**). De plus, ces mêmes auteurs soulignent une destruction de l' α -Toc par les produits de dégradation dans la lumière intestinale ou la membrane hépatique. D'autre part, les composés céto-insaturés formés dans l'huile oxydée tels que le 12 céto-oléate peuvent être absorbés et la peroxydation lipidique *in vivo* se produit.

Selon certains auteurs, l'oxydation de l'huile par la chaleur diminue la quantité d' α -Toc dans le régime, ceci réduit la prise alimentaire de cet antioxydant (**Lin et al.,1989**).

L'étude de **Liu et Hung, (1995)** chez le rat, confirme que l'ingestion de 15% d'huile de soja oxydée diminue significativement la concentration d' α -Toc du plasma, du foie, du rein, du muscle, du poumon et du cerveau par rapport à ceux soumis à l'huile fraîche. Ces auteurs ont mentionné une élévation de l'excrétion fécale de la vit E suite à la diminution de son absorption. Ceci explique en partie l'augmentation significative des TBARS. En outre, la réduction du taux d' α -Toc tissulaire peut également provenir d'un catabolisme accru de l' α -Toc suite à l'exposition aux produits de peroxydation lipidique.

En 1996, **Liu et Huang** ont étudié chez les rats *Long Evans*, l'effet de 15% d'huile de soja thermo-oxydée pendant 6 heures à 205°C sur la concentration en α -Toc au niveau des différents organes. Après 9 semaines de régime, leurs résultats ont montré une baisse significative de la concentration en α -Toc par rapport à l'huile fraîche, cette réduction est liée à son catabolisme et ou son turnover. En effet, la courte durée de demi-vie de l' α -Toc dans certains organes tels que le rein et le foie diminue remarquablement sa concentration. Selon ces auteurs, la baisse hautement significative et rapide du taux d' α -Toc observée dans le lot oxydé pourrait être attribuée à son fort turnover suite à l'action de l'huile oxydée sur la recirculation entéro-hépatique et la réabsorption de l' α -Toc dans l'intestin bien que beaucoup de mécanismes restent encore méconnus dans cette recirculation (**Liu et Huang, 1996**).

De même, **Mourente et al., (2002)** sur le poisson soumis à l'huile d'anchois oxydée pendant 24heures à 50°C par insufflation d'air, a montré après 8 semaines, une réduction significative du taux d' α -Toc hépatique. Par contre, une réduction non significative des activités des enzymes antioxydantes telles que la Cat, la SOD et la GR est observée.

Baraktar et al., (2011) ont noté de leur part, une élévation de l'activité de la GPx et des MDA des érythrocytes du poulet nourri à l'huile de tournesol thermo-oxydée à 80°C avec un indice de peroxyde de 100 mEq /kg. Selon ces auteurs, cette augmentation du MDA est attribuée à la forte peroxydation lipidique et l'élévation de l'activité de la GPx est expliquée par une synthèse enzymatique en réponse adaptative à une production accrue de peroxyde d'hydrogène et à un stress oxydatif plus important.

Davies (2000) et **Surai (2003)** soulignent que les différents organes peuvent s'adapter aux stress oxydatifs en augmentant leur production d'antioxydants, réparer les enzymes et restaurer la balance (oxydant /prooxydant). Une déduction similaire a été rapporté par

Juskiewicz et al., (2000) chez des rats nourris à l'huile oxydée entraînant une augmentation des activités enzymatiques antioxydantes.

Nos résultats concordent avec ceux de **Keller et al., (2004)**, qui ont montré une diminution significative des activités des différentes enzymes (Cat, SOD et GPx) au niveau des érythrocytes du porc et du rat.

Venkata et Subramanyam (2016) dans leur étude sur l'effet d'une huile végétale thermo-oxydée pendant 30mn à 300°C sur l'activité de certaines enzymes antioxydantes des rats *Wistar*, ont rapporté une baisse significative de la Cat confortant nos résultats avec contrairement à nous, une augmentation significative de la GPx et de la SOD.

Nos résultats sont corroborés par ceux de **Gujjala et al., (2016)** qui ont trouvé une baisse significative de l'activité enzymatique antioxydante rénale, notamment la Cat, SOD, GPx et la GR chez des rats *wistars* soumis au stress oxydant durant 4 semaines. Ces auteurs associent ce résultat au stress oxydant qui induit une élévation significative de la peroxydation lipidique ; ils suggèrent que l'activité de la GPx peut constituer une réponse protectrice initiale nécessaire pour la régulation de la concentration en H₂O₂ aussi bien sous les conditions physiologiques qu'après installation d'un stress. D'après **Datta et al., (2000)**, la thermo-oxydation stimule la production des ROS qui peuvent réduire l'activité enzymatique de la Cat et de la GPx.

Parallèlement à ces études, il a été démontré que le stress oxydatif peut être induit par des composés autres que l'huile oxydée. Ainsi, **Akhtar et al., (1994)** ; **Kale et al., (1999)** ; **Üner et al., (2001)** et **Attessahin et al., (2005)** ont rapporté l'effet oxydant d'un pesticide, la cyperméthrin comme un médiateur du stress oxydatif et d'altération du système antioxydant chez l'animal. En effet, **Michelangeli et al., (1990)** et **Ray (1991)** ont démontré que le site d'action de ce composé est la membrane et ce, en induisant une augmentation de l'activité des ions Na⁺ dans les cellules nerveuses et la dépolarisation de la membrane avec un blocage de la conduction nerveuse. En effet, l'administration de cyperméthrin à 50mg/kg de poids corporel durant 5jours, entraîne une réduction significative de la Cat et de la SOD au niveau rénal.

De même, en 2009, **Banudevi et al.**, ont rapporté l'effet d'un agent polluant environnemental lipophile, (le polychlorinate-biphnyl-PFB-), sur les tissus rénaux, hépatique et pulmonaire chez des rats *Wistar*. Celui-ci est un médiateur de ROS, qui induit des dommages tissulaires importants. Après 30jours d'administration de 2mg de PFB /kg de poids corporel par

voie intra-péritonéale, il a été observé une diminution significative de la SOD, la CAT, la GPx, la GR et la vit E, à côté d'une augmentation significative du taux de LPO et de peroxyde d'hydrogène dans le foie, le rein et le poumon. Cette élévation du taux de LPO est due à l'augmentation concomitante de la production des radicaux libres, suite à l'interaction du PCB avec les peroxydes d'hydrogène. Ces derniers donnent naissance aux radicaux hydroxyles qui sont la forme la plus active des ROS dans le système biologique. L'un des mécanismes proposés pour l'induction de la peroxydation lipidique par le PCB est l'implication de l'enzyme Cyt P450 à cause de la libération des espèces oxygénées actives. Ils associent en même temps, la diminution significative de la Cat rénale au manque de NADPH cofacteur de régulation de sa forme active, suite à l'exposition au PCB. D'autre part, la baisse de l'activité de la SOD serait liée à l'accumulation des anions superoxydes qui provoquent des dommages oxydatifs. Quant à la réduction significative de la GPx, elle serait associée à la réduction de son donneur d'électron, le glutathion et l'augmentation excessive des peroxydes.

Dans la présente étude, la baisse significative de la SOD, la Cat, la GPx est liée à la réduction de leur synthèse ou une dégradation de ces enzymes étant donné la présence excessive des ROS.

La glutathion réductase (GR) est une enzyme essentielle dans le maintien de la concentration intracellulaire du glutathion réduit, en présence de son donneur d'électron le NADPH (**Junk et Henke, 1996**). Sachant que le taux de NADPH dépend de l'activité de la glucose 6 P-déshydrogénase (G6PDH) dont l'activité est significativement basse dans notre étude, ceci entraîne une réduction du niveau de NADPH qui à son tour réduit l'activité de la glutathion réductase (GR).

Par ailleurs, la diminution significative du taux d' α -Toc dans notre étude est probablement liée à l'élévation de la peroxydation des lipides et à la baisse significative de la glutathion réductase qui renouvelle le glutathion réduit qui à son tour régénère l' α -Toc.

Sarumatki et Saravanan (2010) ont provoqué un stress oxydatif chez des rats *Wistar*, en les plaçant dans des tubes en plastique de 20 cm sur 7cm pendant deux h/jour durant 21 jours. Bien que la présence de plusieurs trous de 3mm de \varnothing à l'extrémité du tube leur permette la respiration, ces rats demeurent incapables de bouger. Les résultats de cette étude ont indiqué, une diminution significative de la CAT, la SOD, la GPx et le taux d' α -Toc au niveau rénal par rapport aux témoins. Ces auteurs ajoutent que l'immobilisation des rats pendant 2h a été la

cause d'une augmentation de la peroxydation des lipides (LPO), d'une altération oxydative de l'ADN, d'une réduction des activités antioxydantes telles que, la Cat, la SOD et la GPx en plus de la baisse de la puissance du système de défense antioxydant secondaire notamment l' α -Toc.

En 2012, **Ozden et al.**, ont réalisé une étude montrant l'effet d'un agent polluant environnementale, le methiocarb (4-méthylthio-3,5-xylmethyl-carbamate) sur le foie et le rein chez des rats *Wistars*. Ce composé est retrouvé en quantité résiduelle dans l'eau, le sol, les fruits et les légumes (**Sraji et Esteki,2008**). Le mécanisme de toxicité du méthiocarb, consiste en une inhibition de l'enzyme acétylcholine-estérase qui cause l'accumulation de l'acétylcholine et par conséquent l'activation du système cholinergique. Les dernières études ont démontré que le méthiocarbam induit un stress oxydatif après 5jours d'exposition par voie orale à une dose de 10mg /kg de poids corporel. Ces auteurs ont démontré une augmentation significative du taux de MDA et une baisse significative du taux de glutathion, de la SOD et de la Cat au niveau du rein. Ils attribuent l'augmentation des MDA à l'élévation des lipo-péroxydes qui réduisent l'effet des cytochromes P450 et le système flavine monooxygénase (FMOS). D'autre part, la diminution des activités de la SOD et la Cat semble être due à la production intense des espèces oxygénées réactives (**Eraslan et al.,2009**).

Les travaux de **Venkatanarayana et al., (2012)** réalisés sur des rats *Wistar* mâles de type albinos, afin d'évaluer le potentiel d'une néphrotoxicité et l'effet oxydant du carbone tetrachloride (CCL₄), ont révélé que l'administration de 1ml de CCL₄ /kg de poids corporel, a entraîné une diminution significative de la Cat, la SOD, la GPx et de la GR au niveau du tissu rénal. Ils associent ces résultats au CCL₄ qui induit un stress oxydatif par une accumulation des superoxydes et des peroxydes d'hydrogènes dans le rein.

Parallèlement, l'effet du stress oxydatif induit par le cisplatine, (cis diamine du dichloroplatinum II) sur des rats *Wistar* a été étudié par **Ognjanovic et al., (2012)**. Cet agent chimio-thérapeutique est utilisé dans le traitement de plusieurs types de cancers (**Baek et al.,2003**), et présente en plus, une neurotoxicité et une néphrotoxicité suite à la peroxydation des membranes cellulaires, le dysfonctionnement mitochondrial et la lésion de l'ADN (**Sadowitz et al.,2002**). Leurs résultats ont révélé une diminution significative de la SOD, la Cat, la GPX et de la GR avec une élévation du taux de MDA rénale après 3jours d'injection péritonéale de 7mg de cisplatine/kg du poids corporel. La hausse des MDA est expliquée par l'effet oxydant du cisplatine qui génère une forte production de radicaux libres, tels que les

anions superoxydes (O_2^-) et les radicaux hydroxyles (OH^*) qui stimulent la peroxydation lipidique au niveau des tubules rénaux. Quant à la diminution significative de la SOD, elle est attribuée aux ROS qui inactivent totalement cette enzyme suite à la perte des ions de cuivre et de zinc qui sont nécessaires à son activité. Des études antérieures ont souligné ce déficit en cuivre et en zinc avec une activité insuffisante de la SOD afin de piéger les anions superoxydes produits durant le processus métabolique normal. En outre, les activités de la Cat, la GPx et la GR sont significativement basses, ce qui régresse la capacité des reins à piéger les peroxydes d'hydrogène (H_2O_2) et les peroxydes lipidiques (**Naziroglu et al., 2004 ; Atasyar et al., 2009**).

Selon **Ognjanovic et al., (2012)**, la néphrotoxicité du cisplatine s'accompagne d'une inhibition de la synthèse protéique, d'une baisse de la production du glutathion réduit (GSH) et d'un déficit en protéine-SH, ce qui entraîne une peroxydation lipidique et un endommagement mitochondrial. En effet, la GSH et les protéines-SH constituent le majeur système de défense antioxydant cellulaire qui contrôle la peroxydation lipidique.

Concernant la GPx, il s'agit d'une sélénio-enzyme connue pour son rôle dans le métabolisme de l'oxygène, la division cellulaire et le processus de détoxification. De plus, l'activité de la GPx dépend fortement de la concentration en glutathion réduit (son donneur d'hydrogène) et comme la régénération de celui-ci est faible suite à la diminution significative de la glutathion réductase, une baisse de son activité est observée (**Chen et Berry, 2003**).

En **2015**, **Mossa et al.**, ont étudié chez des rats mâles albinos, l'effet du stress oxydatif induit par le fipronil (FPN-N PYRAZOLE) sur le tissu rénal. Ce composé ajouté dans de l'eau à une dose de 10mg /l pendant 45jours, conduit à une élévation significative des LPO. Néanmoins, une baisse significative de l'activité antioxydante de la SOD, la Cat, la GR et la GSH est constatée. L'augmentation du taux des LPO est expliquée par l'altération du système antioxydant et la surproduction des espèces réactives d'oxygène, spécialement les radicaux hydroxyles.

Selon **Vidau et al., (2011)**, cet insecticide génère des espèces oxygénées réactives et inhibe la synthèse des protéines et de l'ADN. De même, **Tukhtaev et al., (2013)** ont mentionné que, l'exposition prolongée à de faibles doses de fipronil, entraîne un stress oxydatif important chez le rat.

D'autre part, la baisse significative des activités de la SOD, la Cat et la GPx peut être attribuée soit, à la production excessive des anions superoxydes qui sont rapidement converties en H₂O₂ par la SOD, ou en H₂O par la Cat et la GPx, soit à la lésion cellulaire et la mort des cellules saines.

L'étude **d'El-Gendy (2011)** concernant l'effet de l'aluminium sur différents organes des rats albinos, a montré un effet oxydatif.

Des résultats inverses ont été démontrés par **Adedara et al., (2014)** chez des rats *Wistar* recevant 1% de 2,5 hexanediène pendant 21 jours. Ce métabolite toxique de l'hexane a été longuement utilisé en industrie pharmaceutique et cosmétique. Plusieurs études ont souligné que le 2,5 hexanedione est détecté dans le foie, le rein, le cerveau et le sang et cause des altérations fonctionnelles au niveau de ces organes.

Adedara et al., (2014) ont mentionné une élévation significative du taux de MDA, H₂O₂ et de la GPx au niveau du tissu rénal des rats recevant 1% de 2,5 hexanediène par rapport au témoin. Ils associent la diminution significative du GSH à l'ultra-utilisation du GPx par les cellules afin de piéger les ROS, alors que la nette élévation des activités de la SOD, la Cat, la GPx, la GST et la peroxydation lipidique importante sont traduites par l'augmentation significative des MDA. Ceci suggère la participation des radicaux libres dans l'oxydation cellulaire suite à la toxicité des ions Al⁺³. En effet, l'aluminium (Al⁺³) entraîne des réarrangements lipidiques et par conséquent, les lipides membranaires peuvent être attaqués ce qui facilite la propagation de la peroxydation lipidique affectant ainsi, l'intégrité membranaire notamment, diminuer sa fluidité, détruire les récepteurs et les canaux ioniques et enfin induire la mort cellulaire (**Stevanovic et al., 2011**).

Les résultats de notre étude concordent avec ceux des auteurs déjà cités ci-dessus et ceux obtenus chez les rats par **Liu et Huang, (1995)**, le poulet par (**Takahsi et Akba, 1999 ; Tavarez et al., 2011**) et le porc par (**Boler et al., 2012 ; Liu et al., 2014**).

En effet, on a confirmé à travers cette étude, l'effet délétère et toxique de l'huile de tournesol oxydée, reflété par l'élévation significative du taux de MDA au niveau du tissu rénal suivie d'une diminution significative du système antioxydant représenté par la SOD, la Cat, la GPx, la GR et la G6PDH.

Les effets délétères des LPO sur les protéines se traduisent par leur dénaturation, caractérisée par une baisse de solubilité. Les radicaux alkoxy ou alkylperoxy arrachent les H[°] aux protéines préférentiellement au niveau du OH des tyrosines, du groupement SH des cystéines et méthionine, du NH des histidines, des tryptophanes et arginine et des NH₃⁺ des lysines. De plus, la lipo-péroxydation inactive certaines enzymes cellulaires, notamment les thio-enzymes qui sont très sensibles à l'inactivation radicalaire par la formation d'un radical thyl (RS[°]) suivi d'un pont disulfure (R-S-S-R) (**Pre, 1991**).

Les radicaux et les aldéhydes issus de la lipo-péroxydation endommagent toutes les membranes cellulaires, les organites sub-cellulaires, les protéines (enzymes) et les génomes. Ainsi, leur action sur les lysosomes a des effets nocifs et dangereux qui entraînent la libération d'enzymes catalysant l'hydrolyse des protéines, acides nucléiques et des polysaccharides cellulaires. Parallèlement, **De groot et al., (1985)** ont rapporté le mécanisme à travers lequel les ROS diminuent l'activité de la SOD et de la GPx et qui consiste en un clivage des liaisons Cu-SOD et Zn-SOD par les ROS, suivi d'une libération du Cu médiateur de la réaction de fenton.

L'altération des lipides membranaires indique une modification dans la régulation des gènes, lors de l'exposition à l'huile oxydée chez le porc **Liu et al., (2007)** et le rat **Sulzle et al., (2008)**, ce qui altère la membrane *in vivo* par inactivation du Peroxysome Proliferation Activated Receptor α (PPAR α) à travers certains gènes, cibles. Ceci induit une réduction des activités des Acétyl-CoA oxydase, Catalase et la carnitine-palmito-transférase-1. Selon **Cabrero et al., (2001)**, la transcription du facteur PPAR α contrôle l'expression oxydative des acides gras membranaires, y compris l'absorption des acides gras à travers la membrane, leur activation intracellulaire et oxydation.

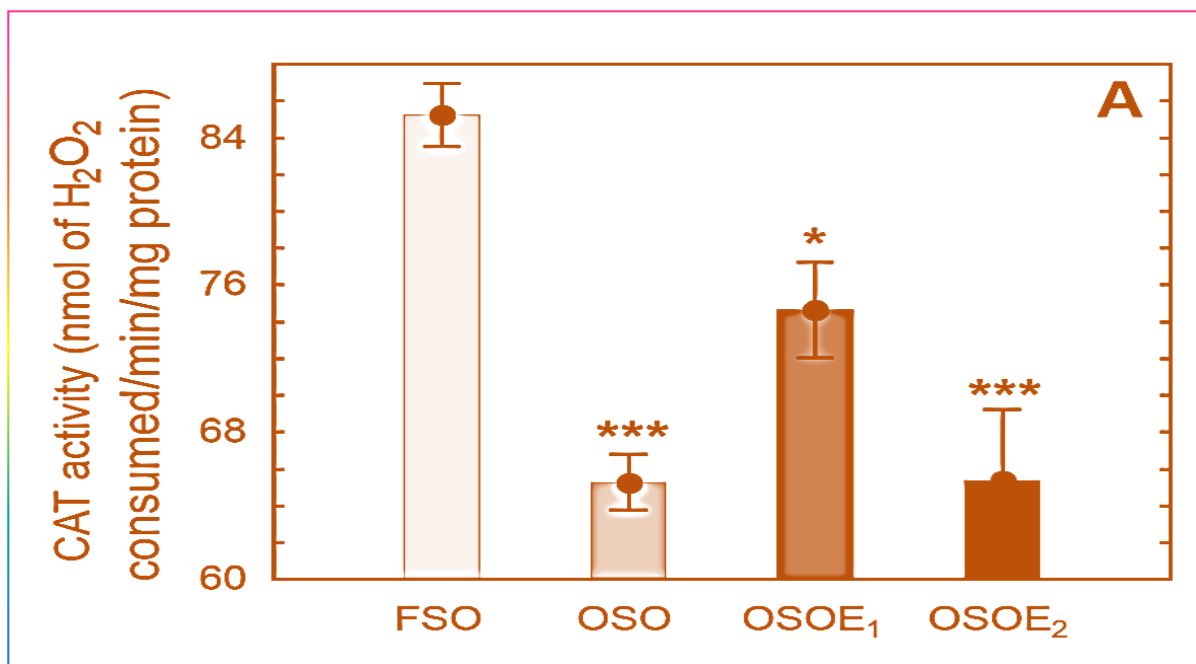


Figure 23 : Effet d'une supplémentation en α -Toc (600 et 1200mg.kg⁻¹) d'un régime contenant 5% d'huile oxydée sur l'activité de la CAT des rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (*p<0.05, ** p<0.01, *** et p<0.001 entre témoin et groupe traités)



Figure 24 : Effet d'une supplémentation en α -Toc (600 et 1200mg.kg⁻¹) d'un régime contenant 5% d'huile oxydée sur l'activité de la SOD des rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (*p<0.05, ** p<0.01, *** et p<0.001 entre témoin et groupe traités)

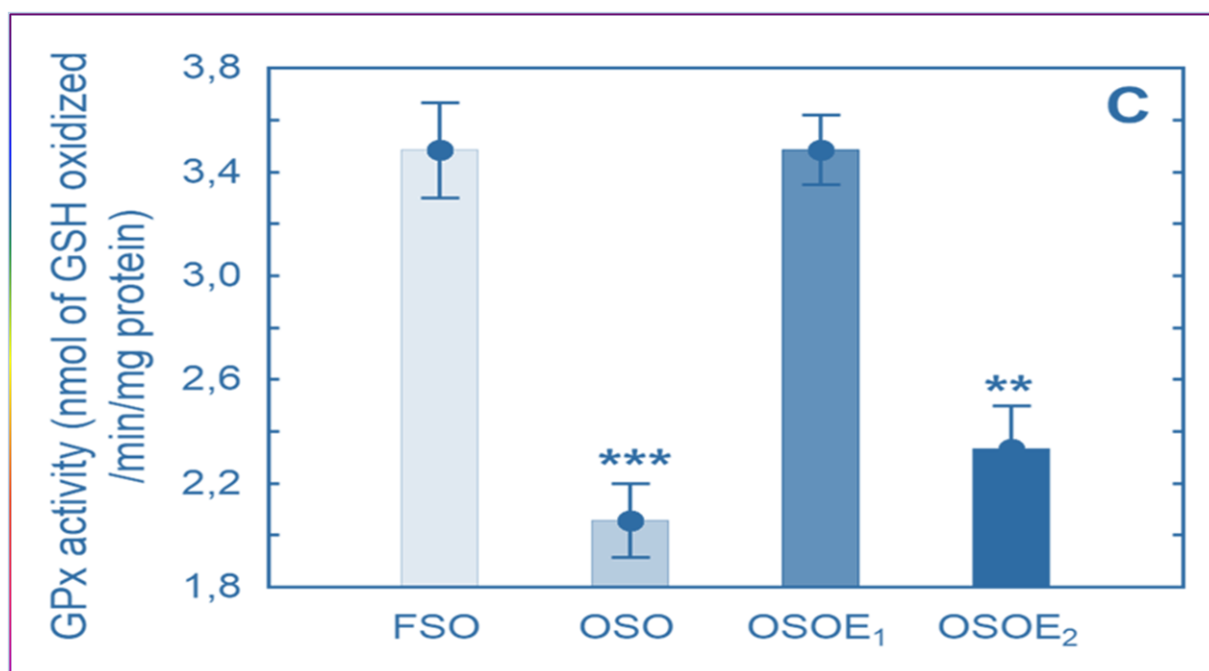


Figure 25 : Effet d'une supplémentation en α -Toc (600 et 1200mg.kg⁻¹) d'un régime contenant 5% d'huile oxydée sur l'activité de la GPx des rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE

(*p<0.05, ** p<0.01, *** et p<0.001 entre témoin et groupe traités)

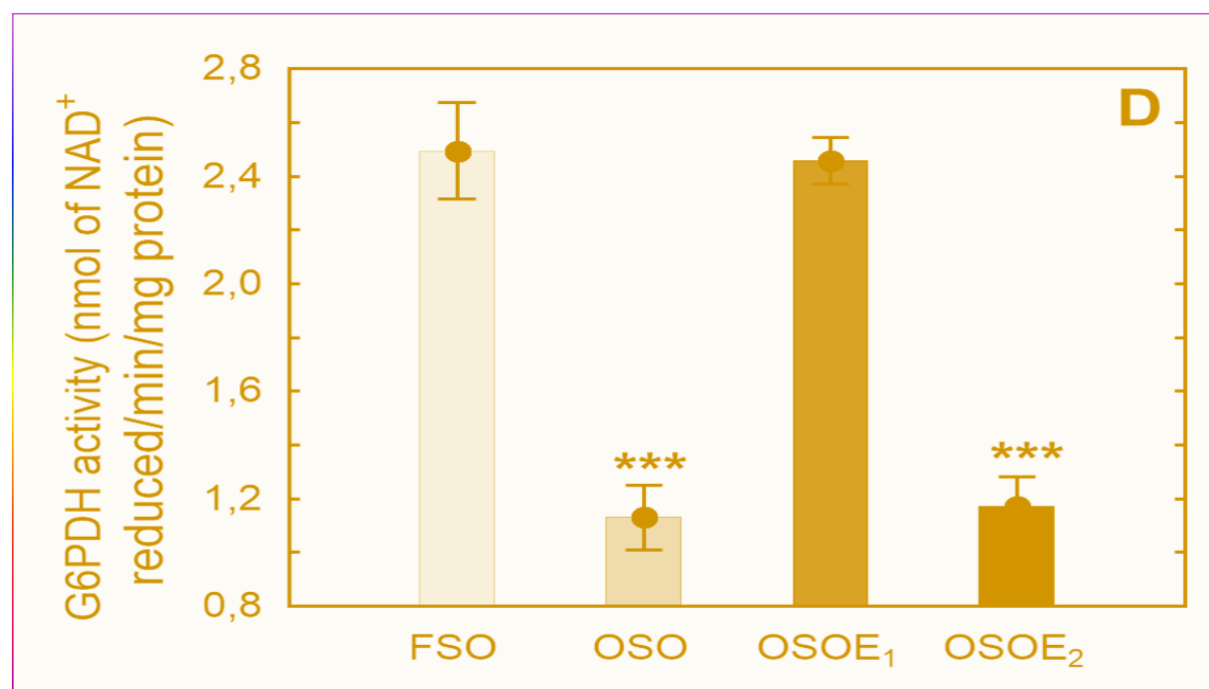


Figure 26 : Effet d'une supplémentation en α -Toc (600 et 1200 mg.kg⁻¹) d'un régime contenant 5% d'huile oxydée sur l'activité de la G6 PDH des rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE

(*p<0.05, ** p<0.01, *** et p<0.001 entre témoin et groupe traités)

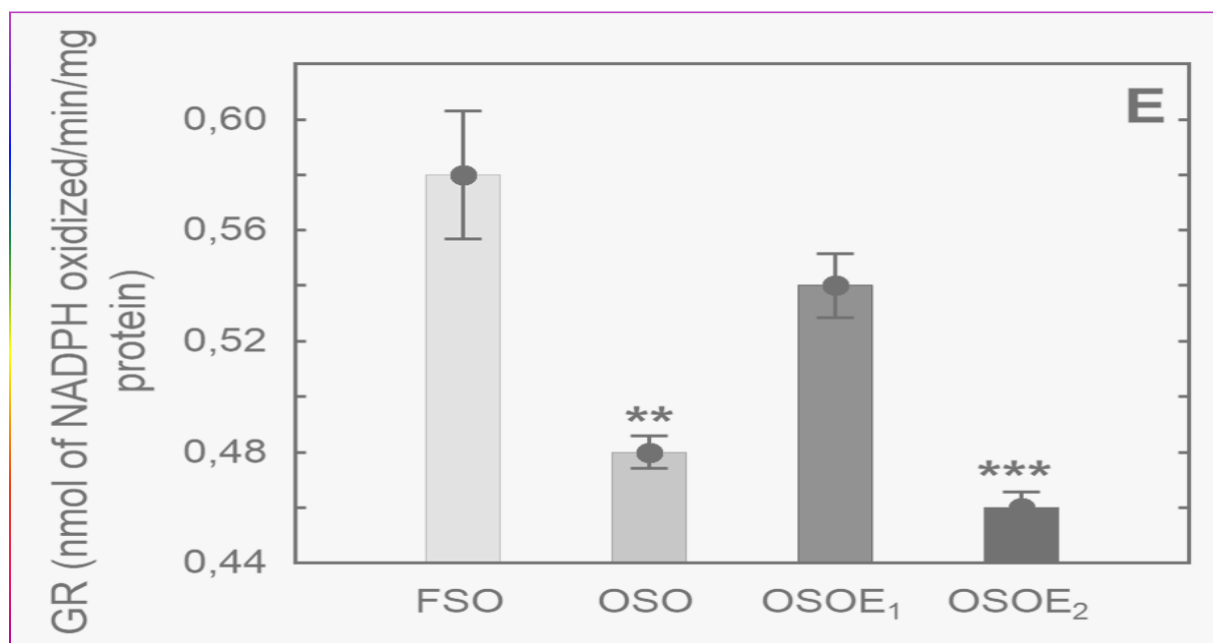


Figure n° 27 : Effet d'une supplémentation en α -Toc (600 et 1200 mg.kg⁻¹) d'un régime contenant 5% d'huile oxydée sur l'activité de la GR des rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (*p<0.05, ** p<0.01, *** et p <0.001 entre témoin et groupe traités)

III.3. Effet d'une supplémentation à 600 mg d' α Toc/kg d'aliment sur :

III.3.1. Les lipo-peroxydes et le taux d' α -Toc rénal

L'utilisation de 5% d'huile de tournesol thermo-oxydée chez des rats en croissance, a montré un effet oxydant caractérisé par une augmentation significative des MDA et une diminution significative du système antioxydant enzymatique et non enzymatique, notamment la Cat, la SOD, la GPx, la GR et l' α -Toc respectivement.

Pour évaluer l'effet de l' α -Toc sur le stress oxydatif, on a supplémenté dans un premier temps, l'huile de tournesol thermo-oxydée avec 600 mg d' α -Toc/kg d'aliment. Les résultats obtenus sont illustrés dans les (**figures 21** et **22**).

L'analyse de ces résultats montre pour le lot (**OSOE1**) une diminution hautement significative du taux de MDA accompagnée d'une augmentation significative d' α -Toc par rapport au lot oxydé (**OSO**). Toutefois, aucune différence significative de ces valeurs par rapport au lot témoin n'est observée.

Les résultats de la présente étude concordent avec ceux de **Sheehy et al., (1993)** obtenus chez le poulet après 32 jours d'administration d'un régime à base de 4g d'huile thermo-oxydée à 120°C pendant 11 heures et supplémenté en α -Toc. Ces auteurs concluent qu'une supplémentation de l'huile de tournesol thermo-oxydée en α -Toc, réduit la sensibilité des tissus vis-à-vis des ROS.

En **1996**, **Liu et al.**, ont trouvé une réduction significative des TBARS hépatique chez des rats *Long Evans* après 9 semaines d'ingestion d'huile de soja oxydée à 205°C pendant 6 heures et confirment que l' α -Toc est un bon piègeur des radicaux libres. De même, les travaux de **Mourente et al., (2002)** sur des poissons nourris à l'huile de poisson thermo-oxydée avec ou sans α -Toc après 8 semaines de régime, ont révélé une augmentation significative du taux d' α -Toc hépatique avec une baisse significative en TBARS dans le lot supplémenté avec 200 mg d' α -Toc /kg d'aliment par rapport au lot non supplémenté. **Iqbal et al., (2005)** ont pour leur part, enregistré chez le poulet nourri pendant 5 semaines par un régime à faible dose de vit E, une élévation significative des LPO. Par contre, une augmentation de la dose de vit E dans le régime a induit un piégeage des LPO traduisant leur réduction considérable.

Selon **Liu et al., (2014)**, les résultats obtenus chez le porc ont montré, que l'huile thermo-oxydée stimule l'activité des PPAR, ce qui altère les acides gras membranaires et induit une peroxydation lipidique.

Par ailleurs, il existe une relation proportionnelle entre la concentration en α -Toc dans le régime et celle des organes tissulaires avec une corrélation négative entre le taux d' α -Toc et la concentration en TBARS. Dans ce sens, **Linn et al., (2014)** ont étudié l'effet antioxydant de trois doses d' α -Toc (100, 200 et 400 mg) /kg d'aliment chez la brème de mère rouge *Pagrus major*. Après 4 semaines, ces auteurs ont enregistré une augmentation significative du taux d' α -Toc dans les tissus musculaire et hépatique des lots supplémentés par rapport à ceux qui ne le sont pas. Il a été démontré que, le taux des TBARS est inversement proportionnel à la dose d' α -Toc supplémentée. En effet, les concentrations en TBARS sont significativement faibles dans les lots supplémentés. Des résultats similaires ont été trouvés chez le veau par (**Engeseth et al., 1993**) et chez le poulet par (**Zouari et al., 2010**).

En outre, de nombreuses études ont traité l'effet d'une supplémentation en vit E sur les biomarqueurs du stress, mais en employant d'autres inducteurs que l'huile thermo-oxydée notamment :

L'étude de **Wang et al., (2016)** sur l'effet d'une supplémentation à 600mg d' α -Toc/kg d'aliment sur certains facteurs du stress oxydatif chez le poisson du type *Combine jaune larmichthy scrocea* nourri à l'huile de poisson thermo-oxydée en présence d'air, avec un indice de peroxyde de 79mEq /kg. Après 10 semaines de régime, ces auteurs ont révélé, une diminution significative du taux des MDA au niveau du tissu hépatique chez le lot supplémenté en vit E comparativement au lot non supplémenté. La réduction ainsi notée a été associée au rôle piègeur de l' α Toc vis-à-vis des radicaux libres et de l'oxygène singulet. Ces auteurs ont conclu, qu'une supplémentation en α -Toc au-delà de 100mg /kg d'aliment exerce un effet antioxydant sur les différents tissus.

Ayaz et al., (2005) ont étudié l'effet d'injection par voie péritonéale de 50UI de vit E/kg/PC et 2,5 mg de doxorubicum/kg de PC chez des rats albinos pendant 15jours. En effet, la toxicité de doxorubicum est caractérisée par la peroxydation des lipides membranaires (**Yin et al.,1988**), des dommages mitochondriaux (**Hershko et al.,1993**) et des dommages oxydatifs des macromolécules par les ions Fe^{+2} (**Thomas et Aust, 1986**). L'ensemble de ces travaux ont révélé une réduction significative des MDA au niveau du tissu cardiaque.

Dans le même sens, des rats Wistar traités durant 4 semaines avec 2 mg de PCB 5Aroclor-1254/kg de poids corporel en présence de 50 mg d' α -Toc /kg du poids corporel, ont démontré une baisse remarquable de LPO avec une élévation significative du taux d' α -Toc. D'après cette étude, l'effet médié par le PCB est éliminé par l'administration d' α -Toc qui permet effectivement de piéger les radicaux libres dans la cellule où des métabolites réactifs sont produits confirmant ainsi le rôle antioxydant d' α -Toc (**Banudevi et al.,2006**).

Ajith et al., (2007) ont injecté 10 mg de cisplatine/kg de poids corporel à des souris mâles gavés avec 500mg d' α -Toc/kg d'aliment. Après 72heures, ils ont observé une réduction significative du taux de MDA comparativement au lot recevant uniquement le cisplatine comme inducteur d'oxydation. Cette diminution est associée à l'effet protecteur de la supplémentation en α -Toc qui piège directement les radicaux libres électrophiles.

En 2009, **Alothman et al.,** ont examiné l'effet oxydant du malathion en présence d'un antioxydant (vit E) chez les rats *Wistars*. Ils ont enregistré après 45jours, une diminution significative du taux de MDA rénale chez le lot soumis au malathion et supplémenté avec de l' α -Toc par rapport au lot non supplémenté. Ils ont ainsi, démontré l'effet protecteur de l' α -Toc

contre les peroxydes d'hydrogènes, l'anion superoxyde et les radicaux hydroxyles générés durant la métabolisation du malathion par la Cyt P450 oxydase.

En effet, le rôle antioxydant et neuroprotectif de l' α -Toc a été déjà mentionné par **Gottlieb *et al.*, (2006)** au niveau du striatum (qui est une partie déficiente en α -Toc et très sensible aux stress). Dans ce contexte, **Sousa *et al.*, (2011)** ont injecté par voie intra-péritonéale 400mg de pilocaprine/kg de poids corporel supplémenté avec 200 mg d' α -Toc à des rats *wistars*. Après 24h, ils remarquent que le taux de LPO et du nitrate ont hautement chuté chez les rats supplémentés en α -Toc comparativement à ceux recevant uniquement du pilocaprine. Ils concluent alors, que les espèces réactives oxygénées sont parmi les causes de l'activité épileptique et exercent un effet délétère sur le cerveau. Ces ERO sont neutralisées et piégées par la supplémentation en α -Toc ce qui diminue les LPO et les nitrates.

Par ailleurs, l'effet de chromium combiné à un antioxydant (α -Toc) sur le foie et le rein des rats mâles *Wistar* a fait l'objet d'une étude par **Balakrishnan *et al.*, (2013)**. Leurs résultats après 14 jours ont révélé une chute significative des TBARS dans les deux organes comparativement au lot traité par le chromium seul. Ils suggèrent donc, le rôle de l' α -Toc en tant qu'antioxydant qui protège les tissus des dommages causés par les ROS.

L'analyse des données de notre étude, indique une diminution significative des MDA parallèlement à une augmentation significative de l' α -Toc confortées par les résultats des différents travaux cités précédemment.

D'autre part, l' α -Toc joue un rôle crucial dans la neutralisation des hydro-peroxydes de l'huile oxydée. Selon **Bowry et stocker (1993)**, la vit E doit son effet biologique à sa fonction comme antioxydant liposoluble, prenant en charge la majorité des radicaux libres. L' α -Toc est biologiquement et chimiquement la forme la plus active de la vitamine E. Lors du mécanisme de protection contre la peroxydation lipidique, l' α -Toc est oxydée en chromane -6-oxyle alpha-T \cdot qui est une forme radicalaire régénérable,

III.3.2. Activités enzymatiques antioxydantes

L'effet d'une supplémentation avec 600mg d' α -Toc /kg d'aliment sur les différentes activités enzymatiques est illustré dans les (**figures 23, 24, 25,26 et 27**).

Nous constatons une augmentation significative de toutes les activités enzymatiques (SOD, Cat, GPx, GR et G6PDH) par rapport au lot oxydé (*OSO*). Néanmoins, aucune différence significative n'est observée entre le lot supplémenté en α -Toc et le témoin, sauf pour la catalase dont la valeur est significativement diminuée par rapport au témoin.

En 2005, **Atessahin** a étudié l'effet protecteur de la vit E lors d'un stress oxydatif ; il a observé après 5 jours que la supplémentation en α -Toc augmente significativement les activités de la SOD et de la Cat comparativement aux lots oxydés non supplémentés. Il conclue alors, que la vit E possède un effet anti-péroxydatif à travers ses propriétés de piégeage des espèces réactives oxygénées en renforçant le système enzymatique antioxydant.

Une étude identique réalisée par **Ayaz et al., (2005)** sur des tissus cardiaques des rats *Wistar*, a montré après 2 semaines d'injection de 25mg d'oxorubicum /kg de poids corporel supplémenté avec 50UI de vit E /kg de PC, une élévation significative des activités enzymatiques antioxydantes tels que la SOD, la Cat, la GPx et la G6PDH du lot supplémenté par rapport au lot oxydé. Ces derniers suggèrent que la vit E, restore les taux des enzymes au voisinage des valeurs normales (témoin), reflétant ainsi, le potentiel antioxydant bénéfique de la Vit E.

Ajitih et al., (2009) ont rapporté que des rats albinos ayant subi un stress oxydatif et supplémenté avec 500 mg de Vit E /kg d'aliment, ont révélé une augmentation significative des activités de la Cat et de la GPx du tissu rénal. Ils déduisent que la Vit E empêche la peroxydation lipidique en piégeant les radicaux libres et en stimulant l'activité de la barrière principale de défense composée de la Cat et de la GPx, afin de bloquer la propagation de l'oxydation des AGPI.

L'étude de **Othman et al., (2011)** portant sur le traitement des rats *Wistars* recevant 27mg du malathion par gavage et supplémenté avec 100mg d' α -Toc/kg d'aliment durant 6 semaines, a montré une phase antioxydante, caractérisée par une élévation significative des y des pentoses phosphates et de la phosphorylation oxydative, ceci va augmenter la concentration du NADPH qui stimule l'activité de la GR à son tour et régénère le glutathion réduit (GSH) activateur de la GPx. En outre, la quantité de NADPH étant élevée, la catalase reprend sa forme active et en même temps, l'activité de la SOD est régénérée ce qui protège la catalase des anions superoxydes (**Banudevi et al.,2016**).

III.4. Effet d'une supplémentation à 1200 mg d' α -Toc/ kg d'aliment sur :

III.4.1. Le taux d' α -Toc et les biomarqueurs du stress :

L'effet d'une supplémentation à 1200 mg d' α -Toc/kg d'aliment sur la concentration en α -Toc rénale et sur les biomarqueurs du stress, notamment le taux des LPO, α -Toc et les activités enzymatiques antioxydantes sont illustrés respectivement dans les (*figures 21,22, 23, 24, 25,26 et 27*).

L'analyse des résultats obtenus, indique une augmentation hautement significative du taux des LPO avec une réduction significative de la concentration en α -Toc et toutes les activités enzymatiques, la SOD, la GPx, la Cat, la GR et la G6PDH par rapport au témoin et au lot supplémenté avec 600mg d' α -Toc (*OSOEI*). Ces résultats confirment qu'une dose de 1200mg d' α -Toc a un effet pro-oxydant.

Mis à part l'étude de **Rouaki et al., (2014)** sur l'effet de fortes doses d' α -Toc sur le tissu cardiaque des rats *Wistar*, peu de travaux *in vivo* sont réalisés dans ce sens ; c'est sous cette optique et dans le but de compléter l'étude de **Rouaki et al., (2014)** qu'on s'est intéressé à évaluer l'effet de cette haute dose en α -Toc sur le tissu rénal chez les rats *Wistar* en croissance.

Les travaux de **Kiron et al., (2004)** sur des truites arc en ciel de l'espèce *Oncorhynchus mykiss* soumises à 10% d'huile de tournesol et 1000 mg d' α -Toc/ kg d'aliment pendant 9 semaines, ont montré une élévation significative des hydro-péroxydes. Ces auteurs stipulent que la dose élevée d' α -Toc induit la conversion de l'anion superoxyde en hydro-péroxyde et en oxygène. Ils déduisent de ce fait, qu'une supplémentation en forte dose d' α -Toc a un effet plutôt pro-oxydant qu'antioxydant.

Nos résultats sont corroborés par ceux de **Eder et al., (2002)**, qui ont étudié l'effet d'une supplémentation de trois doses d' α -Toc (100 ; 1000 et 10,000 mg/kg d'aliment) combinées à l'huile de saumon et de saindoux avec des indices de peroxydes de 9,6 et 2,5 mEq O₂/kg respectivement, chez des rats *Sprague Dawley* durant 8 semaines. Leurs valeurs ont montré une baisse significative des activités de la SOD, la GPx, la GR et la G6PDH au niveau des globules rouges des rats soumis à de fortes doses d' α -Toc (1000 et 1000 mg/kg d'aliment). Ces résultats sont attribués à la réduction de l'expression des enzymes antioxydantes par la dose élevée d' α -Toc. Les mêmes résultats ont été obtenus par **Atalay et al., (2000)** au niveau du muscle et du foie des rats soumis à l'huile de poisson supplémentée avec de l' α -Toc.

L'effet de fortes doses d' α -Toc sur le potentiel antioxydant a été mis en évidence par certains auteurs notamment :

Les études de **Tocher *et al.*, (2002)** sur le poisson avec des doses de (0 ;10 et 1000 mg) d' α -Toc/kg d'aliment pour 2 semaines et de **Fu *et al.*, (2007)** sur l'Ormeau *Halitus discus hannai* nourri à des doses de (50 et 5000mg d' α -Toc/kg d'aliment pendant 240 jours, ont montré pour la 1^{ère} une diminution significative des TBARS avec une élévation significative de la GPx et de la GR. Toutefois, la seconde étude a révélé une augmentation significative des TBARS, de la Cat et la GPx à des doses élevées en α -Toc. Cette différence dans ces résultats est probablement due à la dose d' α -Toc employée et la durée du régime. Ces auteurs ont signalé un effet pro-oxydant de la vit E qu'un effet antioxydant.

De même, en 2004, **Kim *et al.***, ont rapporté l'effet pro-oxydant d'une forte dose d' α -Toc (1000 mg/kg d'aliment) au niveau des érythrocytes des truites arc en ciel *Oncorhynchus mykiss* suite à l'élévation significative des LPO.

Les résultats obtenus dans notre étude vont dans le même sens que ceux de **Hajiani *et al.*, (2008)** qui ont soumis des rats de souche *Sprague Dawley* à trois doses différentes d' α -Toc (100 ; 300 et 600mg/kg d'aliment) sur une période variant de 2 à 6 semaines. Leur étude a démontré un effet antioxydant à de faibles doses d' α -Toc pour une courte durée. Par contre, une augmentation significative des LPO avec des activités enzymatiques antioxydantes significativement basses ont été constaté après une longue durée. Ces auteurs attribuent ces résultats à plusieurs hypothèses :

1/- La vit E agit sur la régulation des gènes des enzymes antioxydantes.

2/- La vit E étant liposoluble se trouve au niveau membranaire par contre, la vit C est hydrosoluble. L'interaction entre les deux molécules est prouvée *in vitro* ; elle se fait à travers le groupement OH de α -Toc à l'interface (membrane/eau) et réagit avec les molécules hydrosolubles telles que la vit C. Ainsi, la vit E exerce un effet dose dépendant en agissant sur l'expression des enzymes antioxydantes ou leurs activités.

En effet, les travaux de **Huang *et al.*, (1999)** ont démontré que l'incubation des cellules musculaires aortiques et des plaquettes avec une dose de 50Mmol/l d' α -Toc durant 2 jours entraîne une élévation de l'ARNm de la SOD, d'où l'augmentation de son activité. Cependant, à de fortes concentrations de 100 et 200 μ mol/l, la vit E induit une diminution du niveau

d'ARNm d'où la réduction de l'activité de la SOD, elle aboutit ainsi, à un effet antioxydant uniquement à basse concentration et à court terme.

3/- La vit E déclenche une cascade de signalisation à travers l'inhibition de la Pn Kinase C, ce qui réduit la défense antioxydante.

Par ailleurs, **Pearson et al., (2006)** ont traité 72 individus âgés de 18 à 60 ans par 500mg d' α -Toc l'équivalent de 7451 UI/jour durant 6 semaines. Ces auteurs ont démontré l'effet pro-oxydant de la vit E à 7451UI suite à l'augmentation des hydro-peroxydes, ce qui confirme les résultats de **Miller et al., (2005)**, qui ont observé une hausse significative du taux de mortalité chez des adultes recevant quotidiennement une forte dose de vit E pendant plus d'une année.

D'autres travaux notamment, ceux de **Rutkowski et Grzegorzcyk., (2012)**, ont trouvé qu'une prise quotidienne d' α -Toc à des doses variant de 240 à 280 mg et à long terme, a un effet pro-oxydant.

Rota et al., (1998) ; **Temple (2004)** ; **Gallicchio et al., (2008)** ont révélé qu'une dose élevée d' α -Toc a un effet dangereux sur l'organisme suite à l'inhibition de la 5-lipoxygénase des plaquettes et de leucocytes.

En effet, la théorie d' α -Toc médiateur de peroxydation *in vitro*, a été étudiée par **Browry et Stocker, (1993)** sur les LDL isolées du plasma humain, en présence d' α -Toc et un indicateur de peroxydation le 2,2' azobis-(2- amidino-propano-hydrochloride) et de 2,2' azobis-(2-4, diméthyl-isovalonitrile). Ils ont observé que la peroxydation par l'azohydro-soluble est plus rapide en présence d' α -Toc dans des conditions modérées. Ils concluent que l' α -Toc libère des radicaux tocophéroxylys qui rentrent en réaction avec les groupements OH actifs des LDL, ce qui induit un effet pro-oxydant.

Parallèlement, **Buettner, (1993)** suggère que pour considérer l' α -Toc comme un antioxydant efficace, elle doit céder un électron afin de rompre la chaîne d'oxydation. Il ajoute que chaque tocophérol oxydé doit être recyclé et que l'acide ascorbique régénère à son tour le tocophérol à travers la production du radical d'ascorbate.

De même, **Upston et al., (1999)** appuient l'hypothèse selon laquelle, les radicaux tocophéroxylys doivent être réduits par la vit C afin de bloquer la chaîne de peroxydation et de prévenir ainsi, l'oxydation des LDL.

En outre, l'effet pro-oxydant de la vit E a été étudié clairement par **Kontush et al., (1996)** sur les LDL plasmatiques *in vivo* et LDL isolées *in vitro* chez des individus sains et atteints d'ataxie. Ces auteurs ont trouvé dans des conditions de stress oxydatif important amorcée par une concentration élevée en Cu^{+2} et en 2,2' azobis (2- amidino-propane) dihydrochloride (AAPH), qu'une supplémentation en α -Toc diminue l'oxydation des LDL plasmatiques et isolées. Cet effet était indépendant de la présence d'ascorbate dans les échantillons. Cependant, dans les conditions de stress modéré, à savoir une faible concentration en Cu^{+2} et AAPH, la supplémentation en α -Toc réduit l'oxydation des LDL plasmatiques mais uniquement en présence de quantité physiologique de vit C. Toutefois, un effet pro-oxydant de l' α -Toc a été observé au niveau des LDL isolées et des LDL plasmatiques fortement diluées en condition de stress oxydatif modéré. Ces résultats confirment que le niveau du stress oxydatif et la concentration en antioxydant comme la vit C sont capables de régénérer l' α -Toc lors de l'oxydation des LDL. Ces derniers, sont des facteurs majeurs déterminant l'activité de l' α -Toc vers l'oxydation tant dans le plasma humain que dans les LDL isolées.

III.5. ETUDE HISTOLOGIQUE DES CELLULES RENALES

Pour une meilleure interprétation des résultats se rapportant à l'évaluation de l'effet oxydant de l'huile de tournesol thermo-oxydée, ainsi que l'action antioxydante et pro-oxydante de l' α -Toc sur les changements et modifications structurales du tissu rénal chez le rat *Wistar* en croissance, il nous a semblé intéressant de les résumer dans le (**Tableau VIII**).

Tableau VIII : Degré des changements histopathologiques des sections rénales des différents groupes

<i>Groupe</i> Histopathologie	<i>FSO</i>	<i>OSO</i>	<i>OSOE1</i>	<i>OSOE2</i>
<i>Atrophie glomérulaire</i>	-	+++	-	-
<i>Congestion des vaisseaux sanguins</i>	-	++	-	+++
<i>Infiltration des cellules inflammatoires</i>	-	++	-	+++
<i>Œdème</i>	-	++	-	+++
<i>Changement dégénératif du glomérule</i>	-	+++	-	+++
<i>Altération de la structure des tubules</i>	-	++	+	+++

+++ Effet Sévère ; ++ effet important ; + effet modéré ; – Sans effet

FSO, l'huile fraîche ; *OSO*, l'huile oxydée ; *OSOE1*, huile de tournesol oxydée supplémentée avec de l' α -Tocopherol (600 mg·kg⁻¹) ; *OSOE2*, l'huile de tournesol oxydée supplémentée avec de l' α -Tocopherol (1200 mg·kg⁻¹).

III.5.1. EFFET DE L'HUILE THERMO-OXYDEE

La peroxydation lipidique est un paramètre important pour l'évolution des dommages oxydatifs, car les phospholipides membranaires sont la cible la plus importante et ils sont impliqués dans la toxicité et plusieurs situations pathologiques (**Krajcovicova et al.,2012**).

Les résultats de l'observation microscopique des coupes histologiques, montrent que les rats nourris avec 5% d'huile de tournesol fraîche (**FSO**) (**figure 28A**), présentent une architecture normale des cellules rénales avec les différentes composantes : glomérules (**G**), tubes distales (**DT**) et tubes proximales (**TP**).

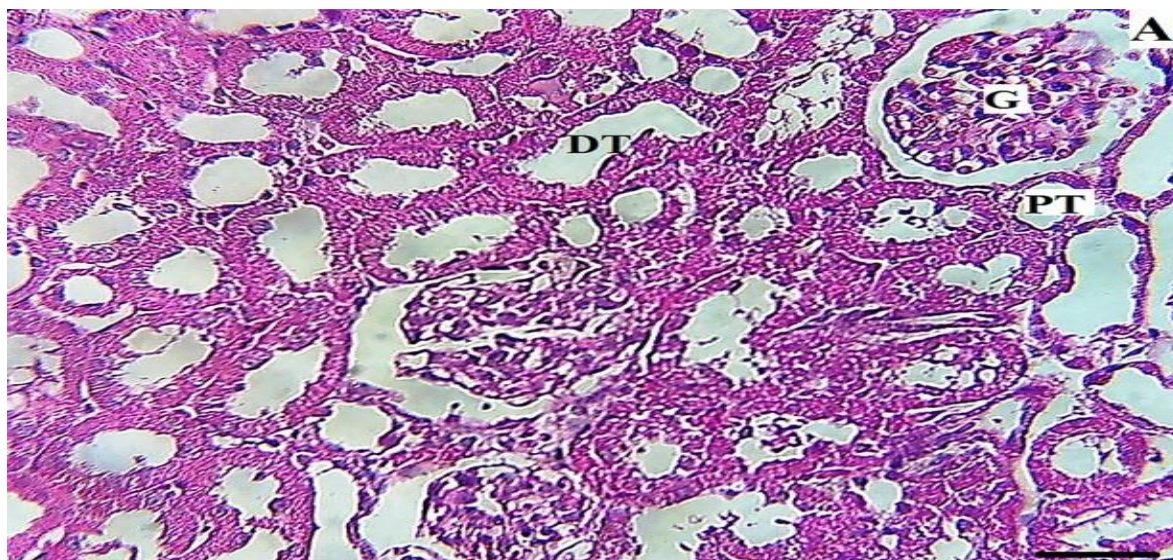


Figure (28A): Micrographie du rein des rats du lot témoin (**FSO**) montrant une structure histologique normale: (**G**): Glomérule ; (**DT**) : Tubules distale ; (**PT**) : Tubules portales (**40X, H & E**)

Inversement, les rats du groupe (**OSO**) (**figure 29B**) révèlent une désorganisation de l'architecture normale, due au stress oxydatif qui est reflété par la congestion des vaisseaux sanguins, avec une infiltration des cellules inflammatoires, des œdèmes et une atrophie glomérulaire (**Tableau IX**), suggérant que l'huile de tournesol oxydée entraîne des dommages étendus sur le rein. Ces lésions histologiques sont corrélées aux modifications des différents paramètres biochimiques liés aux fonctions rénales observées dans cette étude.

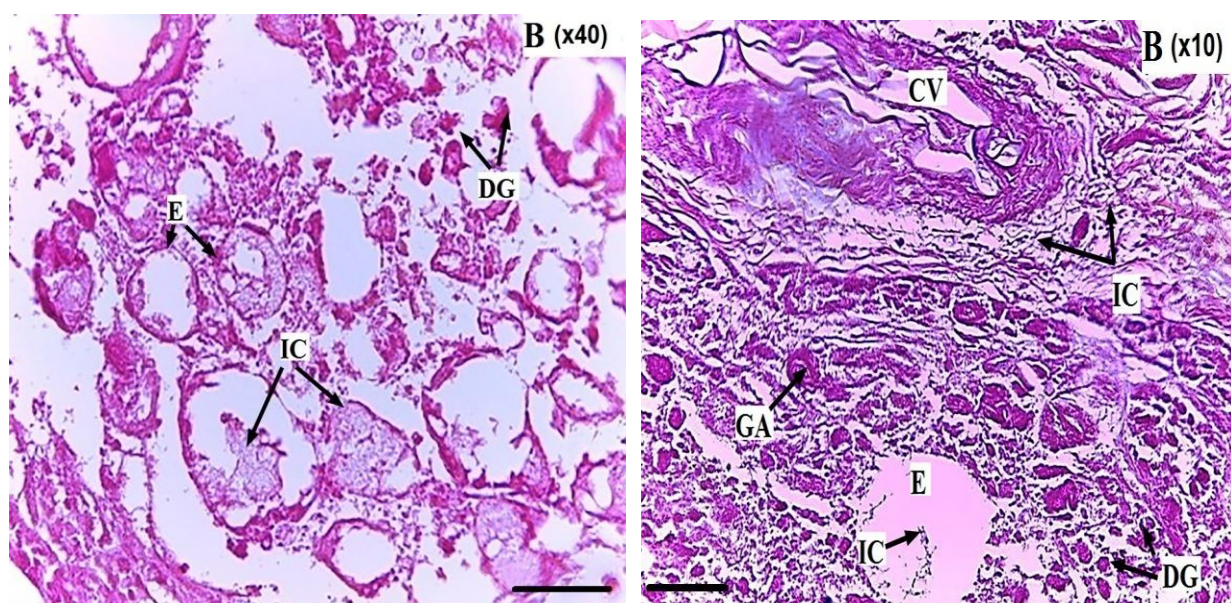


Figure (29B) : Micrographie du rein des rats du lot oxydé (*OSO*) montrant une architecture détériorée (*X10 et 40X H & E*) Atrophie glomérulaire :(*GA*) ; congestion des vaisseaux sanguins :(*CV*) ; Œdème :(*E*) ; dégénérescence du glomérule :(*DG*) et cellules inflammatoires :(*IC*)

En effet, **Osim et al., (1994)** ont démontré que les peroxydes contenus dans l'huile oxydée provoquent la congestion, l'hémorragie et l'atrophie tubulaire des reins. Cet effet, peut être lié aux radicaux libres et les aldéhydes issus de la lipo-péroxydation qui entraînent la perte de l'intégrité des membranes cellulaires et subcellulaires avec une diminution de leur fluidité. De plus, leur action sur les membranes des lysosomes est lourde de conséquences conduisant à leur rupture. Celle-ci s'accompagne d'une libération d'enzymes hydrolysant les protéines, les acides nucléiques et les polysaccharides cellulaires tels que la dépolymérisation de l'acide hyaluronique entraînant ainsi, la mort cellulaire (**Eldemerdash, 2004 ; Ozden et al., (2012)**).

Ces résultats vont dans le même sens que l'étude de **Jimoh et Odutuga, (2004)** qui ont traité des rats de souche *Rattatus norvegicus* avec de l'huile d'arachide oxydée pendant 12 semaines. Ils ont trouvé une désorganisation de l'architecture normale, une altération des tubules et une décomposition glomérulaire. En outre, **Boniface et al., (2016)** ont rapporté, qu'une ingestion de l'huile de palme thermo-oxydée chez des rats *Wistar*, provoque une dégénérescence du corpuscule rénale, une dénaturation diffuse des cellules tubulaires et une accumulation des débris éosinophiles.

Shastri et al., (2011) ont pour leur part, démontré chez des rats *Wistar* que la consommation de l'huile de palme oxydée, induit des cellules tubulaires dans la région médullaire, des vacuoles cytoplasmiques et nucléaires. Ils ont également constaté que les tubules contiennent du matériel éosinophile. Ils ont attribué ces résultats aux aldéhydes et aux hydro-péroxydes formés lors de l'oxydation de l'huile.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Guimaras et al., (2014)**, qui ont constaté chez des rats mâles soumis au stress oxydatif, la présence de vaisseaux rénaux et glomérules hyaluronisés.

D'autre part, l'étude de **Balakrishan et al., (2013)** sur des rats *Wistar* soumis au stress oxydatif par le chromonium, a révélé une altération de l'architecture rénale, une dégénérescence tubulaire épithéliale, une dilatation tubulaire, une congestion des vaisseaux sanguins et une dilatation de la vésicule de Bowman.

Mosa et al., (2015) ont également observé de sévères altérations histopathologiques rénales notamment, des nécroses, une infiltration de cellules inflammatoires, une atrophie glomérulaire, des hémorragies focales chez des rats *Wistar* exposés à un stress oxydatif à travers l'administration de 10mg/l de fipronil attribuant cet effet aux ERO générées par le fipronil.

III.5.2. Effet d'une supplémentation à 600 mg d' α -Toc/kg d'aliments

Les coupes histologiques obtenues pour les reins soumis à 5% d'huile oxydée et supplémentée avec 600mg d' α -Toc/kg d'aliments (*OSOE1*) (*figure 20C*), montrent une amélioration remarquable de l'aspect histologique avec une régénération marquée de certains glomérules, réduisant les œdèmes et l'altération de la structure des tubules, suggérant l'effet protecteur significatif de l' α -Toc à 600mg/kg d'aliment sur tous les aspects, comme une inversion d'altération histopathologique évidente (*Tableau IX*).

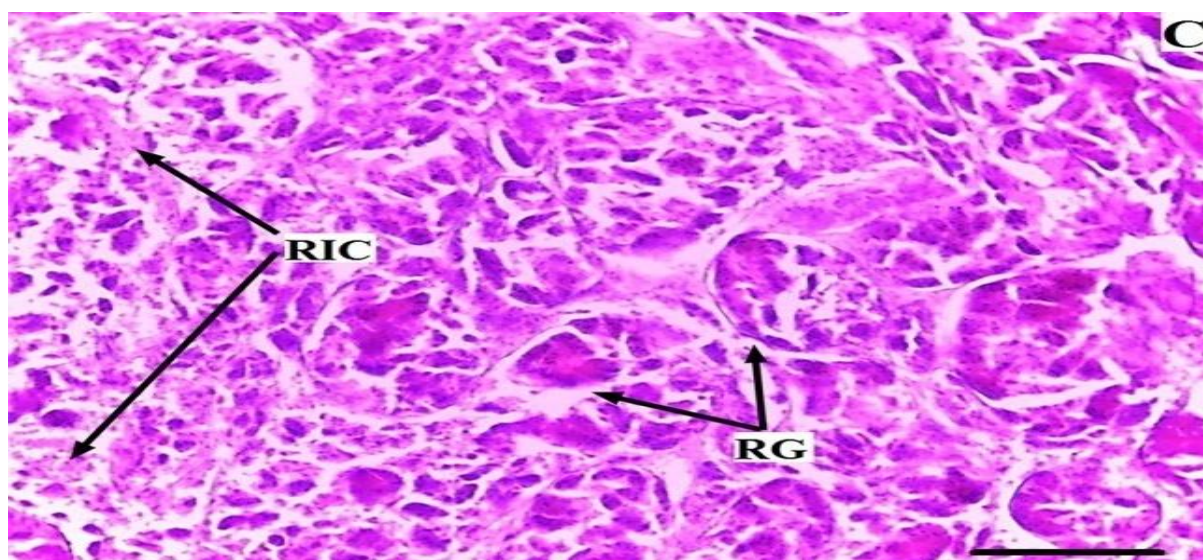


Figure (30C) : Micrographie du rein des rats du lot (*OSOEI*) montre une amélioration de l'architecture cellulaire (*40X H & E*) avec une régénération considérable des glomérules (*RG*) et une réduction des infiltrations des cellules inflammatoires (*RIC*)

Ces résultats concordent avec ceux de *Rouaki et al., (2014)* qui ont rapporté des propriétés non toxiques de l'huile oxydée combinée à une dose modérée d' α -Toc à 600mg/kg d'aliment. Des études antérieures ont révélé que la vit E possède une forte capacité antioxydante pour normaliser l'effet néfaste du stress oxydatif induit par les radicaux libres (*Desai, 1984 ; Hajiani et al., 2008*).

Par ailleurs, une supplémentation en α -Toc diminue les lésions rénales en raison de ses propriétés antioxydantes. Certaines études ont démontré que la supplémentation en vit E inhibe l'oxydation des lipoprotéines, l'infiltration intraglomérulaire (*Eder et al., 2002*) et peut également être utile pour contrôler l'effet hépatotoxique des produits chimiques (*Atessahin, 2005*) et présente un effet néphroprotecteur avec une atténuation des altérations structurale et fonctionnelle rénale (*Shultz et al., 1995*).

En effet, selon *Sriduevi et al., (2007)*, la fonction principale de l' α -Toc est de prévenir les dommages et la peroxydation des phospholipides membranaires à travers l'activité antioxydante. Ainsi, l'effet antioxydant de la vit E consiste à protéger contre les pathologies chroniques, notamment, l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires et le cancer (*Nwaugino et al., 1998*).

L'étude de **Balakrishnan et al., (2013)** sur des rats *Wistar* soumis au chromonium comme source oxydante et supplémentée avec 125mg d' α -Toc/kg de poids corporel durant 2 semaines, a révélé un effet protecteur significatif sur tous les aspects au niveau rénal. Cette capacité pourrait être liée au fait que les radicaux peroxydes lipidiques réagissent plus rapidement (4fois plus) avec l' α -Toc qu'avec la membrane. Des résultats identiques ont été obtenus par **Susa et al., (1996)** chez les rats.

En 2014, **Guimaraes et al.**, ont confirmé qu'une supplémentation en α -Toc chez des rats *shrsp*, a un effet protecteur important et remarquable contre les dommages oxydatifs rénaux suite à une réduction significative du nombre de vaisseaux et glomérules hyaluronisés.

D'autres auteurs ont indiqué l'effet bénéfique d'une supplémentation en l' α -Toc contre les dommages du tissu rénal chez différents modèles d'animaux (**Rhodem et al.,2001 ; Tian et al., 2005 ; Kutlubay et Oguz.,2007**).

L'étude antérieure de **Otani et al., (1999)** a démontré que la supplémentation en α -Toc supprime la prolifération des cellules mésangiales et la sclérose glomérulaire chez le rat. Ces auteurs suggèrent que la prolifération des cellules mésangiales supprimées *via* l'inhibition de la transduction intracellulaire de la protéine kinase C, n'est pas la conséquence de la diminution de l'expression protéique (**Tasinato et al.,1995**). En outre, **Ricciarelli et al., (1998)** ont constaté que l' α -Toc inactive spécifiquement la protéine kinase C par changement de l'état de phosphorylation.

D'après **Tappia et al., (2001)**, cet ensemble de résultats pourrait être dû aux scavengers des radicaux libres qui améliorent le système antioxydant. En réalité, le stress oxydatif déprime le transport du calcium et entraîne un développement de sa surcharge intracellulaire. En effet, cette étude soutient l'hypothèse selon laquelle, l' α -Toc agit comme un antioxydant et peut éveiller un intérêt pour une utilisation future en contribuant au traitement de plusieurs maladies vasculaires et néphrologiques (**Guimaraes et al.,2014**).

III.5.2. Effet d'une supplémentation à 1200mg d' α -Toc/kg d'aliment

La supplémentation à 1200mg/kg d'aliment groupe (**OSOE2**) (**figure 31D**), a révélé en revanche, plus de changements dans l'architecture et la morphologie cellulaire du rein comparativement au lot nourris à l'huile de tournesol oxydée (**OSO**). On remarque en effet, une forte présence de congestion de vaisseaux sanguins avec une infiltration des cellules

inflammatoires sévère, plus d'œdèmes et de changements dégénératifs dans les glomérules (*Tableau IX*).

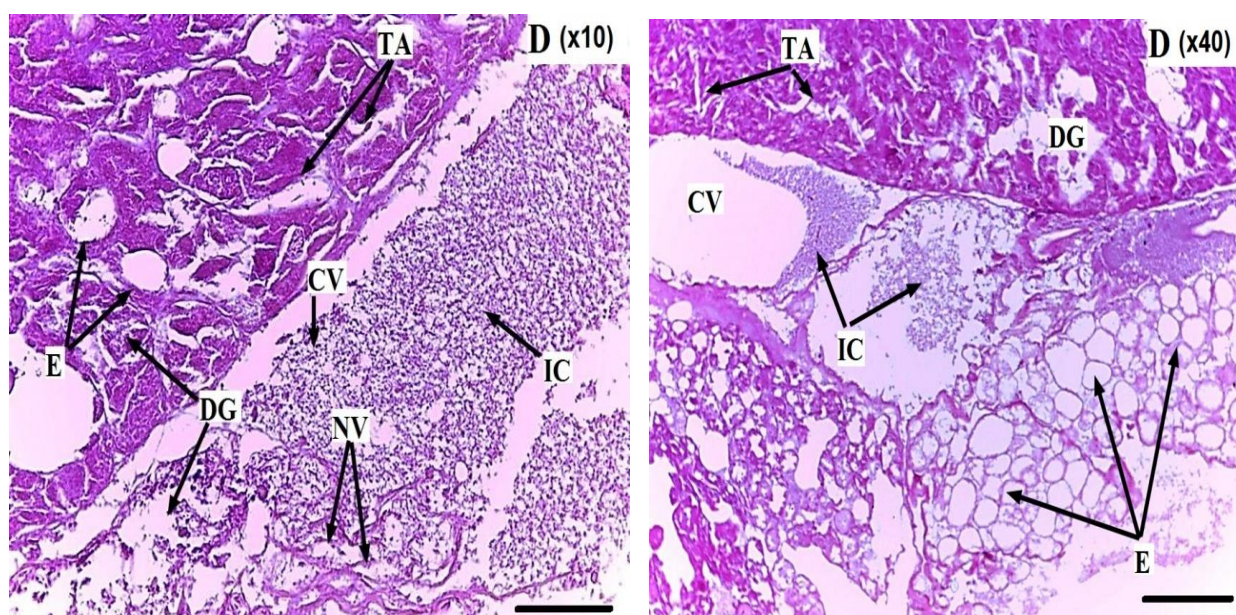


Figure (3ID) : Micrographie du rein des rats du lot oxydé (*OSOE2*) montrant une architecture plus détériorée (*X10 et 40X H & E*) (*DG*) : Dégénérescence glomérulaire plus sévère; (*NV*) : Formation de nouveau vaisseaux ;(*CV*) : congestion de nouveau vaisseaux ;(*E*) : œdème ;(*TA*) : Altération des tubules et (*IC*) : sévère infiltration de cellules inflammatoires.

Ces résultats expliquent d'une part, l'augmentation significative des MDA et la réduction parallèle des activités enzymatiques antioxydantes suggérant un effet pro-oxydant de l' α -Toc.

Des études *in vitro* sur une suspension micellaire (**Thomas et al.,1996**) et des LDL isolées (**Bowry et al.,1995**), ont rapporté qu'une dose élevée d' α -Toc a un effet pro-oxydant. La cause de cette activité pro-oxydante réside dans la réaction du radical α -Tocophéroxyl avec d'autres radicaux pyroxyles ou avec des AGPI des LDL (**Huang et al.,1999**). Cette réaction conduit à une accumulation d'hydro-peroxydes avec une structure diène conjuguée (**Mukai, 1993**).

Par ailleurs, les travaux de **Jialal et al., (1995)** ; **Suzukawa et al., (1995)** ont démontré qu'une supplémentation modérée en α -Toc diminue la susceptibilité d'oxydation des LDL, effet observé aussi bien chez les hommes que chez les femmes ménopausées.

De plus, l'étude de (**Meagher et al.,2004**) a démontré qu'une dose maximale journalière de 2000 UI augmente le taux des marqueurs du stress notamment, le 4- hydroxy-nonéanal et

l'isoprostane chez des individus sains après 8 semaines de supplémentation, ce qui confirme l'effet non antioxydant de la vit E.

L'étude de **Pearson *et al.*, (2006)** menée sur 72 participants âgés de 18 à 60 ans et recevant deux capsules de Vit E à raison de 372 UI d' α -Toc/capsule/jour pendant 6 semaines, a montré un effet pro-oxydant de la vit E à forte dose (745 UI). Ces résultats concordent avec les travaux antérieurs de **Ames *et al.*, (1995)** et **Miller *et al.*, (2005)** qui ont enregistré une augmentation significative de la mortalité suite à l'ingestion de doses élevées d' α -Toc.

En outre, **Kulas et Ackman (2001)** ainsi que **Zuta *et al.*, (2007)** ont souligné que des doses élevées d' α -Toc peuvent avoir un effet pro-oxydant contrairement aux doses faibles.

Ces résultats suggèrent un apport recommandé de 1000mg/jour d' α -Toc correspondant à 1100 UI /jour de vit E naturelle (**Institute of science,2000**).

Conclusion

L'objectif de ce travail, consiste à évaluer dans un premier temps, l'effet d'un régime à base de 5% d'une huile de tournesol thermo-oxydée sur certains bio-marqueurs du stress oxydant et l'aspect histologique rénal. Dans un second temps, le suivi de ces mêmes paramètres après une supplémentation de la même huile en présence de la vit E à 600 et 1200 mg/kg d'aliment. Au terme de cette étude, il ressort très clairement ce qui suit :

1/ Des changements des paramètres technologiques

- Au fur et à mesure du processus de l'oxydation, la coloration de l'huile change ; celle-ci vire du jaune au vert clair, traduisant la présence de produits secondaires d'oxydation tels que les composés polaires.
- La formation d'une mousse persistante à la surface de l'huile et l'augmentation de la viscosité traduisent l'altération des TG et l'accumulation des produits polymérisés.
- A la fin de l'oxydation, une forte odeur (rancissement) et un goût désagréable, dus à la libération des alcools, aldéhydes et cétones isomères *trans* des composés cycliques et époxydes.
- La dégradation oxydative des acides gras de l'huile de tournesol est élevée, suite à la formation de 232 mmol d'hydro-peroxydes, 43,3% d'esters polaires et 71,70% de glycérides polaires.
- L'accroissement de l'acidité est associée à une perte importante du taux d' α -Toc lors des étapes d'oxydation.
- Un indice d'acide de 4,2mg de KOH /g pour l'huile de tournesol thermo-oxydée contre 0,1mg de KOH/g pour l'huile fraîche ; cette acidification est expliquée par l'hydrolyse des TG en AGL, favorisée par l'eau contenue dans l'huile et par le chauffage.
- L'indice d'iode après oxydation est de 82 d'I₂/100g, une valeur nettement plus basse que celle trouvée par **Blanc et al., (1992)** qui est de 103 d'I₂/100g. Cet écart serait lié à la durée plus prolongée d'oxydation qui est de l'ordre de 46h.

- Un indice de peroxyde de 1 mmol d'O₂/kg d'huile fraîche, contre une valeur de 258 mmol d'O₂/kg après oxydation, ceci pourrait être lié aux effets combinés de la température et de l'insufflation d'oxygène lors du chauffage induisant ainsi, la formation de peroxydes.
- La diminution considérable du C18 :2 ω6 est associée à l'insertion des molécules d'oxygène de l'air insufflé sur les doubles liaisons de l'Ac. Linoléique.
- L'oxydation lipidique est contrôlée par l'évaluation des diènes conjugués et des hydro peroxydes dont les valeurs sont de 10 et 232mmol /kg pour l'huile fraîche et oxydée respectivement. L'évolution des diènes conjugués et d'hydro-péroxydes durant le traitement, révèle l'effet de la température sur l'oxydation des lipides et le taux des marqueurs augmente linéairement avec la température. Cette évolution est cohérente, car l'oxydation des AGPI conduit à la formation de la fonction diénoïque conjuguée conservée tout au long de la chaîne lipidique.

2/ Des changements physiologiques

- Aucune mortalité des rats n'est enregistrée pour tous les lots, ni de lésions cutanées ou de la queue n'ont été observées pour les régimes à base d'huile de tournesol oxydée et supplémentée en α-Toc.
- Une baisse significative du poids corporel des rats soumis à l'huile oxydée (*OSO*), qui est expliquée par les diarrhées et la diminution de la prise alimentaire, voir perte d'appétit, suite à l'apparition du goût et d'odeur caractéristiques d'une part, et de la dégradation de l'Ac. linoléique en diènes oxygénés toxiques ce qui abaisse la valeur nutritive du régime.
- La supplémentation du régime avec 600 mg d'α-Toc/kg d'aliments (*OSOE1*) accroît le poids corporel, bien que cette augmentation ne soit pas significative. Ceci est expliqué par le fait que, l'α-Toc neutralise les dommages du stress oxydatif induit par les radicaux libres.
- Une réduction non significative des poids rénaux des rats soumis à l'huile oxydée et ceux supplémentés avec de l'α-Tocopherol sont notés.

3/ Des Changements métaboliques

L'utilisation de l'huile thermo-oxydée (*OSO*) a montré un effet oxydant caractérisé par une augmentation significative des MDA avec des valeurs significativement basses du système antioxydant enzymatique et non enzymatique représenté par la Cat, la SOD, la GPx, la GR et l' α -Toc respectivement, par rapport au lot témoin.

- L'élévation significative du taux de MDA est expliquée par l'altération du système antioxydant et la surproduction des espèces réactives d'oxygène, spécialement les radicaux hydroxyles.
- Une baisse significative de la concentration en α -Toc est due à l'augmentation de la peroxydation des lipides, induite par les ROS et à la réduction significative de la glutathion réductase qui renouvelle le glutathion réduit qui à son tour régénère l' α -Toc.
- Une réduction hautement significative des activités enzymatiques anti-oxydantes, notamment la SOD, la GPx et la Cat. Ce résultat est attribué d'une part, à la production excessive des anions superoxydes qui sont rapidement converties en H₂O₂ par la SOD et en H₂O par la Cat et la GPx. D'autre part, aux lésions cellulaires et la mort des cellules saines capables de contrecarrer l'effet oxydatif, suite à la présence excessive des ROS.
- Diminution de l'activité de la glucose 6 phospho-déshydrogénase (G6PDH) qui entraîne une baisse du niveau du NADPH donneur d'électron nécessaire à l'activation de la glutathion réductase (GR) qui

La supplémentation de l'huile thermo-oxydée avec 600mg d' α -Toc/kg d'aliment, a montré un effet antioxydant qui protège les tissus des dommages causés par les ROS suite à :

- Une diminution hautement significative du taux de MDA avec une augmentation significative d' α -Toc par rapport au lot oxydé (*OSO*). Cependant, aucune différence significative n'est observée par rapport au témoin. Cette réduction ainsi observée est associée au rôle piègeur de l' α -Toc vis-à-vis de l'oxygène singulet, des peroxydes d'hydrogène, de l'anion superoxyde et des radicaux hydroxyles générés.

- L' α -Toc restaure les taux de toutes les enzymes anti-oxydantes à des valeurs normales, en piégeant les radicaux libres et en stimulant l'activité de la barrière principale de défense afin de bloquer la propagation de l'oxydation des AGPI.

La supplémentation de l'huile thermo-oxydée avec 1200 mg d' α -Toc/kg d'aliment, a induit un effet pro-oxydant avec :

- Une augmentation hautement significative du taux des LPO avec une réduction significative de la concentration en α -Toc et de toutes les activités enzymatiques, notamment la SOD, la GPx, la Cat, la GR et la G6PDH par rapport au témoin. Ceci peut être attribué à la réduction de l'expression des enzymes anti-oxydantes par la dose élevée d' α -Toc.

4/ Des changements histologiques

- Le groupe (*OSO*) a révélé une désorganisation de l'architecture normale du tissu rénal suite au stress oxydatif, qui est reflété par la congestion des vaisseaux sanguins, une infiltration des cellules inflammatoires, des œdèmes et une atrophie glomérulaire. Cet effet est lié aux radicaux libres et les aldéhydes issus de la lipo-peroxydation qui entraînent la perte de l'intégrité des membranes cellulaires et subcellulaires.
- Les effets du stress oxydatif de l'huile de tournesol oxydée ont été partiellement normalisés après une supplémentation à 600 mg d' α -Toc /kg d'aliment. Une amélioration remarquable de l'aspect histologique avec une régénération marquée de certains glomérules, réduisant un certain nombre d'œdèmes et d'altérations tubulaires, suggérant l'effet protecteur significatif de l' α -Toc contre l'oxydation des lipoprotéines et l'infiltration intra-glomérulaire.

Lors d'une supplémentation à 1200 mg d' α -Toc /kg d'aliment est transformée en radical Tocopheroxyl, ce dernier n'étant pas éliminé, il en résulte une augmentation des LPO, processus connu sous le nom de « tocophérol médiateur de peroxydes ». En effet, l'étude histologique a révélé :

- Une architecture cellulaire rénale plus détériorée qu'à l'utilisation de l'huile thermo-oxydée, avec une forte présence d'œdèmes, de congestion de vaisseaux sanguins et des changements dégénératifs plus sévères des glomérules. Ces résultats sont dus à

l'augmentation significative des MDA et à la réduction parallèle de la défense anti-oxydante, ce qui suggère un effet pro-oxydant de l' α -Toc.

Malgré l'ensemble de ces résultats, les interactions métaboliques entre les enzymes de protection contre la peroxydation lipidique et de l' α -Toc sont encore obscures, certains parlent d'effet direct alors que d'autres suggèrent un effet indirect.

A l'issue de cette étude plusieurs orientations peuvent être envisagées et qui pourront faire l'objet de travaux antérieurs :

- Déduire la dose précise ou l'effet antioxydant d' α -Toc devient prooxydant.
- Rechercher l'effet prooxydant d' α -Toc sur d'autres organes notamment, le foie, le cerveau et le poumon.
- Evaluer d'autres biomarqueurs du stress oxydatif tels que le dosage
 - Du 8 hydroxy guanosine
 - Des protéine carbonylés
 - Les produits de glycation avancés **AGE** (*advanced glycation endproducts*)
- Etudier l'effet de cette dose prooxydante d' α -Toc, sur l'expression de certains facteurs de transcription NRF2 et d'' inflammation NFkB.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbas, A.M et Sakr, HF. (2013). Simvastatin and vitamin E effects on cardiac and hepatic oxidative stress in rats fed on high fat diet.

J. Physiol. Biochem. Vol 10, P 1007-1013.

Abawi, F.G et Sullivan, T.W. (1989). Interaction of vitamin A, D3, E and K in the diet of broiler chicks.

Poult. Sci. 68: 1490.

Adam, SK., Sulaiman, NA., Mat Top, AG., et Jaarin, K. (2007). Heating reduces vit E content in palm and soy oils. Malays.

J. Bioch. Mol. Biol ; 15, P 76-79.

Adrian, J., Dan Villier, P., Poiffait, A., et Potus, J. (1999). Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires.

Edition : Tec & Doc, Lavoisier, Paris : P 47-57 et P 165-171.

Adedara., Amos, O., Abolaji., Blessing, E., Odion, Isioma J., Okwudi, Abiola, A., Omolaja, et Ebenezer, O. (2014). Farombi Impairment of Hepatic and Renal Functions by 2,5-Hexanedione Is Accompanied by Oxidative Stress in Rats.

Isaac A. Journal of Toxicology Volume October,

Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*.

Method. Enzymol.105, P 121–126.

AFFSA. (2010). Avis de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments relatifs à l'actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras.

http://www.anses.fr/Documents/Nut_2006_sa0359.

Agneray, J et Metais, P. (1990). Biochimie clinique : 1. Biochimie analytique. 2^{ème} Edition SIMEP, Vol 1, 25 Paris, France.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agrawal, A et Sharma, B. (2010). Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems. Int. J. Biol. Med. Res. 1(3): P 90-104.

Ahmed, M.K et Mahmood, R. (2012). Oral administration of potassium bromates a major water disinfection by product induces oxidative stress and impairs the antioxidant power of rat blood. Chemosphere. 87(7), P 750–756.

AI. (2007). Effect of vit E on antioxidant enzymes activities and fatty acids composition in juvenile abalone (*Haliotis discushannaino*). J. Fish.Res.26(3), P 809–814.

Aitken, R.J., De Iuliis, G.N et Finnie, J.M. (2010). Analysis of the relation-ships between oxidative stresses, DNA damage and sperm vitality in a patient population: development of diagnostic criteria. Hum Reprod; 25: P 2415-26.

Ajitih, T.A., Abhishek, G., Roshny, D. et Sudheseh, N.P. (2009). Co- supplementation of single and multi doses of vit E and C ameliorates cisplatin induced acute renal failure in mice. Experiment and Toxicologic Pathology. 61, P 565–571.

Agneray, J et Metais, P., (1990). Biochimie clinique : 1. Biochimie analytique. 2^{ème} Edition SIMEP, Vol 1, 25 Paris, France,

Ahmed, M.K et Mahmood, R. (2012). Oral administration of potassium bromates a major water disinfection by product induces oxidative stress and impairs the antioxidant power of rat blood. Chemosphere. 87(7), P 750–756.

Akhtar, M.H., Mahadevan, S et Paquet, A. (1994). Comparative metabolism of deltamethrin and 3 phenoxybenzoic acid in chickens. J. Environ. Sci. Helth; 29: P 369-394.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Akbas, SH., Yegin, A et Ozben, T. (2005). Effect of pentylene tetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues.

Clin.Biochem; 38(11): P 1009-14.

Akhtar, M.H., Mahadevan, S et Paquet, A. (1994). Comparative metabolism of deltamethrin and 3 phenoxybenzoic acid in chickens.

J. Environ. Sci. Helth ; 29 : P 369-394.

Albert, MG., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z et Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?

L'actualité chimique - novembre-décembre 20, P 91-96.

Alfadda AA et Sallam RM. (2012). Reactive oxygen species in health and disease.

J Biomed Biotechnol, vol., Article ID936486, 14 pages.

Al-Othman, A.M., Al-Numair, K.S., El-Desoky, G.E., Yusuf, K., Al Othman, Z.A., Aboul-Sou, M.A M, et Giesy, G P. (2011). Protection of α -tocopherol and selenium against acute effects of malathion on liver and kidney of rats.

African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 5 (10), P 1263-1271, 15 September,

Ammouche, A., Rouaki, F., Bitam, A et Bellal, M.M. (2002). Effect of ingestion of thermally OSO on the fatty acid composition and antioxidant enzymes on rat liver and brain in development.

Ann.Nut. Metab.46, 268–275.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K et Hagen, T.M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging.

Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 90, P 7915-7922.

Amresh, G., Singh, PN et Rao, CV. (2008). Toxicological screening of traditional medicine Laghupatha (Cissamelospareira) in experimental animal.

J. Of. Ethnopharmacology; 116, Num 3; P 454-460.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Andrali, K., Sandhya, R et Sunkireddy, YR. (2010).

Quality changes in trans and trans free fats/oils and products during frying.

Eur. J. Res. Technol ; 230, P 803-811.

Anjum, M I., Alam, MZ et Mirza, IH. (2002). Effect of non-oxidized and oxidized soybean oil supplementation with levels of antioxidant on Broiler performance.

Asian. Aust. J. Anim. Scivol; 15, P 713- 720.

ANSES. (2016). Actualisation des repères du PNNS : élaboration des références nutritionnelles.

Avis de l'Anses Rapports d'expertise collective Edition scientifique Décembre.

Anthea, M., Hopkins, J., Mc Laughlin, C.W., Johnson, S., Warner, M.Q., Lahart, D et Wright, JD. (1993). Human Biology and Health.

Engleword Cliffs, New Jersey, USA: Prentie Hall. ISBN 0-13-981176-1. Oclc. 32308337.

Ardestani, A et Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of Achillea santolina extracts.

Food. Chem. 104: P 21-29.

Arroyo, R., Cuesta, C., Garrido-Polonio, C., Lopez-Varela., S et Sanchez-Muniz, FJ. (1992). High-performance size-exclusion chromatographic studies on polar components formed in sunflower oil used for frying.

J. Am. Oil Chem. Soc; P 469:557.

Arunakara., J. (2006). Role of alphetocopherol on antioxidant status in liver, lung and kidney of PCB exposed male Albinos rats.

Food and Chemical Toxicology; 44(12), P 2040–2060.

Association Française de Normalisation. (1978). Recueil de normes françaises des corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés.

AFNOR ; P 88–163.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Atalay, .M, Laaksonen, D E., Khanna, S., Kaliste, K E., Hanninen, O et Sen, C K. (2000). Vit E regulates changes in tissue antioxidants induced by fish oil and exercise;

Med. Sci. Spor. Exerc; 32, P 601-607.

Atasyar, S., Gurer-Orhan, H., Orhan, H., Gurel, B., Girgin, G et Ozgunes, H. (2009). Preventive effect of aminoguanidine compared to vit E and C on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats.

Exp. Toxicol. Pathol; 61, P 23-32.

Atessahin, A. (2005). The effect of Vit E and selenium on cypermethrin induced oxidative stress in the rats.

Turk. J. Vet. Anim.Sci. 29, P 385–391.

Ayaz, SA., Bhandari, U et Pillai, KK. (2005). Influence of DL lipoic acid and vitamin E against doxorubicin- induced biochemical and histological changes in the cardiac tissue of rats. Indian. J of Pharm. Vol 37, N° 5 Sep –Oct; P 294- 299.

Babior, B.M., (2000). Phagocytes and oxidative stress.

Am. J. Me; 109, P 33-44.

Bailey, D.M., Lawrenson, L., Mc-Eneny, J., Young, I S., James, PE., Jackson, S.K., Henry, R.R., Mathieu-Costello, O., Mc-Cord, M et Richardson, RS. (2010). Electron Paramagnetic spectroscopic evidence of exercise induced free radical accumulation in human skeletal muscle. Free Radic Res; 41: P 182-190

Bagshaw, S.M et Bellomo, R. (2007). Insuffisance rénale aiguë: définition, épidémiologie et pronostic. In : L'insuffisance rénale aiguë.

Laurent J. Springer-Verlag France. P 13.

Balakrishan, R., Kumar, C.S.V., Rani, M.U., Srikanth, M.K., Boobalan, G et Reddy, A.G. (2013). An evaluation of the protective role of alpha tocopherol on free induced hepatotoxicity and nephrotoxicity due to chromium in rats.

Indien. J. Pharmacol; 45(5), P 490–495.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Banadevi, S., Krishnamoorthy, G., Venkataraman, P., Vignesh, C., Aruldas, M.M et Arunakaran, J. (2006). Role of alphatocopherol on antioxidant status in liver, lung and kidney of PCB exposed male Albinos rats.

Food and Chemical Toxicology. 44 (12), P 2040–2060.

Baynes, J.W et Thorpe, S.R. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm.

Diabetes; 48, P 1-9.

Bayraktar, H., Altan, O., Açıkgöz, Z., Baysal, S.H et Şeremet, Ç. (2011). 12 Effects of oxidised oil and vitamin E on performance and some blood traits of heat-stressed male broilers.

S. Afr. j. anim. Sci ; vol.41 n.3 Pretoria Jan.

Beaudeau, JL, Delattre, J et Peynet, J. (2003). Lipoprotéines et athérosclérose : Mécanismes Moléculaires et cellulaires. In : Delattre J, Durand G, Jardillier JC.

Biochimie. Pathologique : aspects moléculaires et cellulaires.

Médecine-Sciences Flammarion, Paris. P 91-107.

Beaudeau, JL., Peynet, J., Bonnefont-Rousselot, D., Therond, P., Delattre, J et Legrand, A. (2006). Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. Implication dans la transcription et la régulation des gènes.

Ann. Pharm ; 64 : P 373-81.

Beckman, J et Koppenol, W. (1996). Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad and ugly.

Am J Physiol; 271:P 1424–1437.

Beevi, SS., Narasu, MI et Godwa, BB. (2010). Polyphenolics profile antioxidant and radical scavenging activity of leaves and stem of *Rphanus sativus L.*

Plant Foods for Human Nutrition; 65 (1): P 8-17.

Belaïch, R., et Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques.

Médecine des Maladies Métaboliques,10, P 38-42.

Ben Ali, H., Atig, F., Mehri, S., Saad, A et Ajina, M. (2012)

Analyse du statut oxydatif spermatique chez des patients infertiles.
Andrologie ; 22:P 233-240.

Benderdour, M., Charron, G., De Blois D., Comte, B et Des R.C. (2003). Cardiac mitochondrial NADP⁺-isocitrate dehydrogenase is inactivated through 4-hydroxynonenal adduct formation: an event that precedes hypertrophy development.

J Biol Chem. Nov 14 ;278(46) : P 45154-9.

Ben-Shachar, D et Youdim, M.B.H. (1990). Selectivity of melanized nigro-striatal dopamine neurons to degeneration in Parkinson's disease may depend on iron-melanin interaction.

J. Neural Transm; 29, P251–258.

Bergmeyer, H.U. (1963). Methods of Enzymatic Analysis.

Academic Press, New York; P 744–751 et P 875–879.

Berlett, B et Stadtman, E. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress.

J. Biol. Chem; 272: P 20313–20316.

Berriot-Varoqueaux, N., Dannoura, A H., Moreau, A., Verthier, N A., Sassolas, G., Cadiot et Lachaux, A. (2001). Apolipoprotein B48 Glycosylation in abeta-lipoproteinemia and Anderson's Disease.

Gastro-enterology; 121 (5): P 1101- 8.

Bertinato, J., Hidioglou, N et Peace, R. (2007). Sparing effects of selenium and ascorbic acid on vitamin C and E in guinea pig tissues.

Nutr. J; P 6: 7.

Beutler, E. (1984). Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods,

Grune and Startton; New York 3rd ed., P 105–106.

Biesalski, HK., Böhles, H., Esterbauer, H., Fürst, P., Gey, F et Hundsdörfer, G. (1997). Antioxidant vitamins in prevention. Consensus statement. Clin.Nutr; P 16151-16155.

Biesalski, HK., Grune, T., Tinz, J., Zöllner, I et Blumberg, JB. (2010). Reexamination of a meta-analysis of the effect of antioxidant supplementation on mortality and health in randomized trials. Nutrients; 2; P 929–949.

Billek, G. (2000). Heated oil : Chemistry and nutritional aspects.

Nutr. Metab, 42, P 200-210.

Boler, D.D., Fernandez –Dunas, D.M., Kutzler, L.W., Zaho, J., Harrell, R.J., Champion, D.R., Mckeith, F.K., Killefer, J et Digler, A.C. (2015). Effects of oxidized corn oil and synthetic antioxidant blend on performance, oxidative status of tissues and fresh meat quality in finishing barrows.

J. Anim. Sci ; 90, P 5159- 5169.

Boniface, MN., Ejimofor, OC et Ezissi. (2014). The effect of thermally oxidized palm oil on the kidney of adult wistar rats.

JMSCR; Vol 2 Issue 4 April

Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., Delattre, J. (2003a). The role of oxidative imbalance in diabetes mellitus in Redox Genome Interactions in Health and Disease.

Fuchs J, Podda M, Packer L (Eds.). New York: Marcel Dekker, chap. 23, P511-538.

Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P et Delattre, J. (2003b). Radicaux libres et antioxydants. In : Delattre J., Durand G., Jardillier J-C.

In Biochimie pathologique ; Flammarion, Paris. 317p

Bowry, V.W et Stocker, R. (1993). Tocopherol mediated peroxidation. The prooxidant effect of vitamin E on the radical initiated oxidation of human low-density lipoprotein.

J.Am.Chem. Soc; 115: P 6029-6044.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bucioli, S.A., Deabreu, L.C., Valenti, V.E., Leone, C. et Vannucchi, H., (2011). Effect of vit E supplementation on renal non enzymatic antioxidants in young rats submitted to exhaustive exercise stress.

BMC. Complementary and Alternative Medicine; 133, P 1–6.

Buege, J.A et Aust, S.D. (1976). Microsomal lipid peroxidation.

Method. Enzymol; 52, P 302–310.

Boggio, S.M., Hardy, R.W., Babbit, J.K. et Brannom, L. (1985). The influence of dietary lipid sources and alpha tocopherol acetate level on product quality of rainbow trout.

Aquaculture; 51, P 13–24.

Bowry, V.W., Ingold, K. U et Stocker, R. (1992). Vit E in human low-density lipoprotein.

Biochem; 288, P 341–344.

Bowry, V.W., Mohr, D., Cleary, A et Stock, R. (1995). Prevention of tocopherol mediated peroxidation in ubiquinol-10 free human low-density lipoprotein.

J. Biochem. Chem; 270, P 5756–5763.

Brown, M.S et Goldstein, J.L. (1983). Lipoprotein metabolism in the macrophages.

Ann. Rev. Biochem ; 52 : P 223–261.

Buettner, GR et Schafer, QF. (2000). Free radicals, oxidants, and antioxidants.

Teratology; 62, P234.

Burdge, GC et Calder, PC. (2005). Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults.

Reprod.Nutr. Dev., 45(5) : P 581-97.

Burenjargal, M et Totani, N. (2008). Effect of thermally processed oil on weight loss in rats.

J. Oleo.Sci; 57, (9); P 463-470.

Burk, RF. (2002). Selenium, an antioxidant nutrient.

Nutr.Clin. Care;5: P 47-49.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Buttet, M., Véronique, T., Thi, T., Trang, T., Philippe, B., Hélène, P., et Isabelle, N. (2014). From fatty-acid sensing to chylomicron synthesis: Role of intestinal lipid-binding proteins. *Biochimie*; 96 (janvier): P 37-47.

Cabel, M.C., Waldroup, P.W., Shemer W D et Calabotta D.F.F. (1988). Effects of ethoxyquin feed preservative and peroxide level on broiler performance. *Poult.Sci*; 67, P 1725- 1730.

Cabrero, À., Alegret, M., Sánchez, R M., Adzet, T., Laguna, J C et Vázquez, M. (2001)
Diabetes Aug ; 50(8) : P 1883-1890.

Cadenas, E et Davies, K.J. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress and aging.

Free.radical. Biol. Med ;29: P 222- 230.

Cai, H et Harrison, D.G. (2000). Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress.

Circ.Res; 87(10), P 840-844.

Cakatay, U., Telci, A., Salman, S., Salman, L et Sivas, A. (2000). Oxidative protein damage in type 1 diabetic patients with and without complications.

Endocr Res ; 26, P 365-79.

Calviello, G., Palozza, P., Franceshelli, P et Bartoli, GM. (1998). Low dose eicosapentanoic or docosahexaenoic acid administration modifies fatty acid composition and does not affect susceptibility to oxidative stress in rat erythrocytes and tissues.

Lipids ; 32, P 1075-1083.

Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S.M., Vasson, M.P., Hasselmann, M et Leverve, X. (2007). In *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*.

3ème édition, Springer-Verlag Paris. P: 257.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Cao, J., Burn, P et Yuguang, Shi. (2003). Properties of the Mouse Intestinal Acyl-CoA: Mono-acylglycerol Acyltransferase, MGAT2.
The Journal of Biological Chemistry 278; (28), P 256-263.

Carr, A.C., Zhu B.Z et Frei, B. (2000). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E).
Circ. Res; 87, P 349-354.

Cartwright, I J et Higgins, J A. (2001). Direct Evidence for a Two-Step Assembly of Apo B48-Containing Lipoproteins in the Lumen of the Smooth Endoplasmic Reticulum of Rabbit Enterocytes.
The Journal of Biological Chemistry; 276 (51), P 48-58.

Casado, C., Moya, V.J., Pascual, J.J., Blas, E et Cervera, C. (2011). Effect of oxidation state of dietary sunflower oil and dietary zinc and α -tocopheryl acetate supplementation on performance of growing rabbits.
World Rabbit Sci; 19, P 191 – 202.

Castronovo, V. (2003). Alimentation et cancer.
Rev Med Liege ; 58 : 4 : P 231-239.

Chen, J et Berry, MJ. (2003). Selenium and selenoprotein in the brain and brain diseases.
J. Neurochem ; 86, P 1-12.

Choe, E et Min, D.B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils.
J. Food Sci; 72: P 77- 86.

Christen, Y. (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease.
Am J Clin Nutr; 71(suppl), P 621S-629S.

Close, G.L., Ashton, T., McArdle, A et MacLaren, D.P. (2005). The emerging role of free radicals in delayed onset muscle soreness and contraction-induced muscle injury.
Comp.Biochem.Physiol.Mol. Integr. Physiol ; 142, P 257-266.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CNERNA-CNRS. (2001). Les apports nutritionnels conseillés pour la population Française.

3e édition, coordonnateur Ambroise Martin, Edt Tec Doc Lavoisier, Paris

Combe, N et Boué-Vaysse, C. (2004). Face aux besoins et à la réalité des consommations, quelles sont les spécificités des différentes sources d'acides gras oméga 3 disponibles ?

OCL ; 11(2), P103-115.

Cook, N.L., Viola, H.M., Sharov, V.S., Hool, L.C., Schoneich, C et Davies, M.J. (2012).

Myeloperoxidase derived oxidants inhibit sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase activity and perturb Ca²⁺ homeostasis in human coronary artery endothelial cells.

Free Radical Biol. Med; 52, P951-961

Cooke, M.S, Evans, MD, Dizdaroglu, M et Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage mechanisms, mutation and disease.

FASEB. J; 17: P1195 -1214.

Cooper, C.E., Vollaard, N.B., Choueiri, T et Wilson, MT. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress.

Biochem.Soc. Trans ; 30, P 280-285.

Crapiste, G.H., Bredan, M.I.V et Carelli, A.A. (1999). Oxidation of Sunflower Oil during Storage.

JAOCS ; 76, P 1437-1443.

Cuesta, C., Romero, A et Sánchez-Muniz, F.J. (2001). Fatty acid changes in high oleic acid sunflower oil during successive deep-fat frying of frozen foods.

Food Sci. Technol. Int; 7, P 317–324.

Cyrne, L., Oliveira-Marques, V., Marinho, H.S et Antunes F. (2013). H₂O₂ in the induction of NF-κB-dependent selective gene expression.

Methods. Enzymol ; 528 : P 173 -88.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Dai, J et Mumper, R J. (2010). Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules.*, 15 : P 7313-7352,

Dal, S., Schaschkow, A., Maillard-Pedracini, E., Pinget, M., Jeandidier, N et Sigrist, S. (2014). Le stress oxydant : nouvelle cible Le stress oxydant : nouvelle cible pour optimiser la prise en charge du patient diabétique de type 1 patient diabétique de type 1.

Infusystemes France; Vol.31 No.3, P 25-30.

Dardik, R., Varon, D et Tamarin, I. (2009). Homocysteine and oxidized low-density lipoprotein enhanced platelet adhesion to endothelial cells under flow conditions: distinct mechanisms of thrombogenic modulation.

Thromb.Haemost; 83, P 338-344.

Datta, K., Sinha, S et Chattopadhyay P. (2000). Reactive oxygen species in health and diseases.

Nat. Med.J. India; 13, P 304-310.

Davies, K. J. A. (2000). Oxidative stress antioxidant defenses and damage removal, repair and replacement systems.

Life; 50, P 279-289.

Deaton, C.H.M et Marlin, DJ. (2003). Exercise-associated oxidative stress.

Clin Tech Equine Pract; 2(3) P 278-91.

De Biase, L., Pignatelli, P et Lenti, L. (2003). Enhanced TNF alpha and oxidative stress in patients with heart failure: effect of TNF alpha on platelet O₂-production.

Thromb Haemost; 90, P 317-25.

De Groot, H., Noll, T et Tolle T. (1985). Loss of latent activity of liver microsomal membrane enzyme evoked by lipid peroxidation. Studies of nucleoside diphosphatase, glucose-6-phosphatase, and UDP glucuronyltransferase.

Biochim Biophys Acta. Apr 26;815(1): P 91-6.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

De Jaeger, C. (2011). Les théories du vieillissement.

Médecine & Longévité ; 3, P 155-174.

Dehpour, A.R. et Pasalar, P. (2008). Dose dependent modulation of systemic lipid peroxidation and activity of anti-oxidant enzymes by Vit E in the rat.

Redox Rep; 13(2), P 60–66.

Delattre, J., Beaudoux, J.L et Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. In : Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologique.

Edt. Tec. Doc. Paris ; Lavoisier, P45-80 et P 261-405.

Del Corso, L., Pastine, F., Protti, MAR., Omanelli, AM., Moruzzo, D., Ruocco, L et Pentimone, F. (2000). Blood zinc, copper and magnesium in aging. A study in healthy home - living elderly;

Panminerva Med; 42, P 273-277.

Démarchez, M. (2012). Le Stress oxydant cutané.

FORUM ; 16 Juin 2012

Desai, J.D. (1984). Vitamin E analysis method for animal tissues.

Methods in Enzymol; 105, P 138–147.

decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes.

Cancer. Res ; 56, P 1291-5.

Desport, J.D. (2002). Nutrition et stress oxydant. Stress oxydant et maladies neuro-dégénératives.

Nutr. Clin. Métabol ; 16, P 253–225.

De Wit, Ni., Derrien, M., Bosch-Vermeulen, H., Oosterink, E., Keshtkar, S., Duval, C., - van den Bosch, D., Kleerebezem, M., Müller, M et van der Meer, R. (2012). Saturated Fat Stimulates Obesity and Hepatic Steatosis and Affects Gut Microbiota Composition by an Enhanced Overflow of Dietary Fat to the Distal Intestine.

American. Journal.of. Physiology. Gastro intestinal and Liver Physiology; 303 (5).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Dhalla, N.S., Temsah, R.M et Netticadan, T. (2000). Role of oxidative stress in cardiovascular diseases.

J. Hypertens ; 18, P 655-73.

Dhalla, NS., Yates, J.C., Naimark, B., Dhalla, K.S., Beamish, R.E et Ostadal, B.

(2002). Cardiotoxicity of catecholamines and related agents.

In: Acosta D, Ed. Cardiovascular toxicology.

Diallo, A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* willd (myrtaceae).

Thèse de Doctorat d'état en Pharmacie. 100p.

Diplock A.T. (1994). Antioxidation and disease prevention.

Molec. Aspects, Med; vol. 15, P 293-376.

Dizdaroglu, M., Jaruga Birincioglu, M et Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement.

Free.Radic.Biol. Med; 1, P 102-115.

Dizdaroglu, M et Jaruga, P. (2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA.

Free.Radic. Res ; 46, P 382-419.

Dobarganes, M.C et Perez-camino, M.C. (1985). Métodos analíticos de aplicación en grasas calentadas. III. Evolución de los ácidos grasos e influencia de su posición en la molécula de triglicéridos.

Grasasy Aceites ; 36, P 186-198.

Dobarganes et Marquez-Ruiz G., (2003). Oxidized fat in foods.

Current Option in Clinical Nutrition and Metab Care., 6 (2); P 157-163.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Droge, W. (2002). Aging-related changes in the thiol/disulfide redox state: implications for the use of thiol antioxidants.

Exp. Gerontol; 37: P 1333-1345.

Drozdowski, B et Szukalska, E. (1984). A rapid instrumental method for the evaluation of the stability of fats.

J. Am. Oil. Chem. Soc., 64: P 1008-1011.

Drozdowski, B et Szukalska, E. (1987). A rapid instrumental method for evaluation of the stability of fats.

J. Am. Oil. Chem. Soc; 64, P 1008–1011.

Duthie, S.J., Ma, A., Ross, M.A et Collins, A.R. (1996). Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes.

Cancer Res. 1996 Mar 15 ;56(6) :1291-5.

Eckert, A., Keil, U et Marques, CA. (2003). Mitochondrial dysfunction, apoptotic cell death and Alzheimer's disease.

Biochem Pharmacol; 66 (8), P 1627-1634.

Eder, K., Flader, D., Hirche, F et Brandsh, C. (2002). Excess dietary vit E lowers the activities of antioxidative enzymes in erythrocytes of rats fed salmon oil.

J. Nut. 132, P 3400–3404.

Elbially, BE., Saleh, NT et Abou-Elkhair, RM. (2015). Potential hazards of feeding albino rats on diet containing repeatedly boiled cooking oil: Clinico-pathological and Toxicological studies.

Inter. J. Of. Adv. Res; Vol 3, Issue 3 P 134-147.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Eldemerdash, F.M. (2004). Antioxidant effect of vit E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminum.

J. Trace. Elem. Med. Biol; 18, P 113–121.

El-Gendy, A. (2011). Amelioration of aluminium intake oxidative stress by some antioxidants in male albinos.

The Egyptian Journal of Hospital Medicine; Vol., 45, Num 536 – P 546 536.

Elmaddawy, Z.K.H. et Gad, S.B. (2012). Hepato-Renal Protection of Silymarin in comparison with Vitamin E in Rats.

Global. J. Pharmacology; 6(3), P 236–244.

El-Nashar, E.M. (2011). Effects of combined erythropoietin and epidermal growth factor on renal ischaemia/reperfusion injury: a randomized experimental controlled study.

BJU. International ; 107(2), P 323–328.

Engberg, RM., Lauridsen, C., Jensen, SK et Jacobsen, K. (1996).

Inclusion of oxidised vegetable oil in broiler diets: It's influence on nutrient balance on the antioxidative status of broilers.

Pout. Sci ;75, P 1003-1011.

Engeseth, NJ Gray IJ Booren AM et Asghar A *et al.*,1993. Improved oxidative stability of veal lipids and cholesterol through dietary vit E supplementation

Meat Sci ; 35 : P 1-15

Eraslan, G., Kanbur, M et Silici, S. (2009). Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of beep P 86-91.

Ernster, L et Forsmark-Andree, P. (1993). Ubiquinol: an endogenous antioxidant in aerobic Organisms.

Clin. Investig ; 71 : P 60-65.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Estakhri, R., Hajipour, B., Madjidi, H et Soleimani, H. (2013). Vit E ameliorates cyclophosphamide induced nephrotoxicity.

Life.Science. J; 10 (6s), P 308–313.

Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H et Jurgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL.

Free Rad. Biol. Med.,13, P 341.

Fain, O. (2013). Carence en vitamine C et scorbut

Médecine thérapeutique Volume 19, numéro 3, Juillet-Août-Septembre.

Falade, A.O., Oboh, G.A., Ademilueyi, A.O et Odubanjo, O.V. (2015). Consumption of thermally oxidized palm oil alters biochemical indices in rats.

Beni Suef University Journal of Basic And Applied Science 4 P150- 156.

Fang, Y.Z., Yang, S et Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition.

Nutrition; 18: P 872–879.

Beni-suef university journal of basic and applied Sciences 4; p150-156.

Faure, C., Dupont, C., Sermondade, N et Lévy, R. (2011). Antioxydants et infertilité masculine Antioxidants and male infertility.

Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie ; 13 (4) : P 275-83.

Favero, T.G., Zable, A.C et Abramson, J.J. (1995). Hydrogen peroxide stimulates the Ca²⁺ release channel from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum.

J. Biol. Chem: 27: P 25557-63

Favero, L et Halliwell, B. (1996). Antioxidants in human health and disease.

Annu Rev Nutr. :16 : P 33-50.

Fauzia, H., Razali, I et Nor Aini, S. (2000). Frying Performance of Palm Olein and High Oleic Sunflower Oil during Batch Frying of Potato Crisps.

Palm Oil Developments, 33:P 1-7.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Favier, A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.

Mécanismes biochimiques.

L'actualité Chimique. 108-115.

Feroli, F. (2007). Application of chromatographic and spectroscopic techniques in the evaluation of the lipid fraction of animal products.

AMS Tesi di Dottorato. ALMA MATER STUDIORUM – Università di Bologna.

Fernández-Dueñas, DM. (2009). Impact of oxidized corn oil and synthetic antioxidant on swine performance, antioxidant status of tissues, pork quality and shelf life evaluation.

PhD thesis. University of Illinois Champaign-Urbana, Department of Animal Sciences.

Finaud, J., Lac, G et Filaire, E. (2006). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training.

Sports Med. 36(4): P 327-358.

Fontaine, E., Barnoud, D., Schwebel, C., Leverve, X. (2002). Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique.

Réanimation. 11 : P 411-20

Fontaine, E. (2007). Radicaux libres. In Traité de nutrition artificielle de l'adulte, 3^{ème} édition, Springer-Verlag Paris. Editeurs : N Cano, D Barnoud, SM. Schneider, MP Vasson, M Hasselmann et X Leverve, P :257.

Fontagné-Dicharry, S., Lataillade, F et Surget, A. (2014). Antioxidant defense system is altered by dietary oxidized lipid in first feeding rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*.

Aquaculture 424- 425., P220 -227

Franco, JG., Lisboa, PC et Lima, NS. (2013). Resveratrol attenuates oxidative stress and prevents steatosis and hypertension in obese rats programmed by early weaning. J Nutr Biochem. 24 : P 960-66.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Frankel, E.N et Meyer, A.S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multi dimensional food and biological antioxidants.

Journal of Science and Food Agriculture; 80: P 1925-1941.

Frénot, M et Vierling, E. (2001). Biochimie des aliments : diététique du sujet bien portant, Rueil-Malmaison, Doin, P 297.

Fu, J., Zhang, W., Mai, K., Feng, X., Xu, W., Liufu, Z., Ma, M et Ai, A. (2007).

Effects of vit E on antioxidant enzyme activities and fatty acid compositions in juvenile abalone *Haliotis discus hannai*.

J. OF. Shellfish. Research.26 (3): P 809-814.

Fu, J., Zhang, W., Mai, K., Feng X., Xu, W., Liufu, Z., Hongming, M. A et Qinghui, Mohammad, M., Mohiuddin, M. et Wali, M.A. (2013). Protective effect of vit E treatment on cold restraint induced oxidative stress in rat.

Indian. J. Of. Fundamental and Applied. Life.Science.3 (4), 116–120.

Fusco, D., Colloca, G., Lo Monaco, M.R, et Cesari, M. (2007). Effects of antioxidant supplementation on the aging process.

Clin Interv Aging; 2(3): 377-87.

Institute of Science. Dietary reference intakes for vitamin C, selenium vitamin E on the radical-initiated.

Washington, DC: National Academies.Press, 2000.

Galleano, M., Verstraeten S.V., Oteiza, P.I et Fraga, C.G. (2010). Antioxidant actions of flavonoids: thermodynamic and kinetic analysis.

Arch Biochem Biophys; 501(1): P 23-30.

Gallicchio, L., Boyd, K., Matanoski, G., Tao, X., Chen, L et Lam, TK. (2008). Carotenoids and the risk of developing lung cancer: a systematic review.

Am J Clin Nutr; 88: P 372–83.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Gao, J.S., Koshio M., Ishikawa, S., Yokoyama, M., Kader, A et Laining, A. (2012). Interaction between vitamin C and E on oxidative stress in tissues and blood of red sea bream (*Pagrus major*).

Aquacult. Sci. 60, P 119-126.

Gardès-Albert, V., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z and Jore, D. (2003). Espèces Réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?

L'actualité chimique. P: 91-96.

Garrel, C., Ceballos-Picot, I., Germain, G et Al-Gubory, K.H. (2007). Oxidative stress inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F₂alpha-induced luteal cell death in vivo.

Free Rad Res. 41, P 251-9.

Garrison, W. (1987). Reaction mechanisms in the radiolysis of peptides, polypeptides and proteins.

Chem Rev ; 87 : P 381–398.

Gere. (1984). Dégradation thermique de quelques corps gras hongrois.

Revue Française des Corps Gras ;11 : P 437-442.

Gimeno, E., Castellote, A.I., Lamuela-Raventós, R.M., De la Torre, M.C. et López-Sabater, M.C. (2000). Rapid determination of vitamin E in vegetable oils by reversed-phase high-performance liquid chromatography.

J. Chromatogr; 881, P 251–254.

Glynn, R.J., Ridker, P.M., Goldhaber, S.Z., Zee, R.Y. et Buring, J.E. (2007). Effects of random allocation to vitamin E supplementation on the occurrence of venous thromboembolism: report from the Women's Health Study.

Circulation.116 : P 1497-503.

Godon, B., et Loisel, W. (1991). Analyse des constituants alimentaires. In Multon « Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires ».

Edition Techniques et Documentation, Lavoisier ; P 201- 216.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Goldstein, J.L., Ho, Y.K., Brown, M.S., Innerarity, T.L et Mahley, R.W. (1980). Cholesteryl Ester accumulation in macrophages resulting from receptor mediated uptake and degradation hypercholesterolemic canine β -VLDL.

J. Biol Chem; 225: P 1839 –1848.

Goodman, G.E., Metch, B.J. et Omenn, G.S. (1994). The effect of long-term β -carotene and vitamin A administration on serum concentrations of α -tocopherol.

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 3: P 429-32.

Gopaul, NK., Halliwell, B et Anggård, E.E. (2001). Measurement of plasma F2-isoprostanes as an index of lipid peroxidation does not appear to be confounded by diet.

Free Radic Res; 33(2): P115–127.

Grandjean, D. (2005). Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien.

Le Nouv.Prat. Vét.22, P 11-15.

Griffths, HR., Moller, L., Bartosz, G., Bast, A., Berttoni Freddari, C., Collins, A., Coolen, S., Haenen, G., Hoberg, AM., Loft, S., Lunec, J., Olinski, R., Parry, J., Pompella, A., Poulsen, H., Verhagen, H et Astley, SB. (2002).Biomarkers.

Mol Aspects Med;23: P 101–209.

Grimard, M.P., Lemarchal, P et Blond, J.P. (1984). Influence du régime riche en acides gras saturés sur le métabolisme des acides gras essentiels chez le rat.

Revue Française des Corps Gras. 4-5 : P155-157.

Grimble, R.F. (1993). The maintenance of antioxidant defenses during inflammation.

Springer Verlag. Num 3; P 347-363.

Gryglewski, R.J., Palmer, R.M et Moncada, S. (1986). Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor.

Nature ; 320 : P 454-6.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Guemouri, L., Arthur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G et Siest, G. (1991). Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood.

Clin Chem; 37 Num, P 1932–37.

Guesnet, P., Alasnier, C., Alessandri, J.M et Durand, G. (1997). Modifying the n-3 fatty acid content of the maternal diet to determine the requirements of the fetal and suckling rat.

Lipids. 32(5) : P 527-34.

Guesnet, P., Alessandri, J.M., Astorg, P., Pifferi, F et Lavielle, M. (2005). Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI).

OCL, 12(5) : P 333-43.

Guesnet, P et Alessandri, JM. (2011). Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS) –Implications for dietary recommendations,

Biochimie. Jan; 93(1): P 7-12

Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. (1996).

National Academy Press, Washington DC.

Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. (2001). Eighth edition,

The National Academies Press, Washington DC.

Guilland, J.C. (2011). Les interactions entre les vitamines A, D, E et K : synergie et/ou Compétition.

OCL ; 18(2) : P 59-67

Guillaumin, R., Gente, M et Barbati, C. (1977). Etude sur les huiles chauffées, dégradation des composés non volatils formés lors des fritures.

R.F.C.G, 10 : P 477-479.

Guimarães, R.M. (2014). Supplementation of alpha-tocopherol is able to modulate heart and kidney histopathological features of shrsp rats 1 marcela

Current topics in nutraceutical research Vol. 12, No. 1/2, P 19-24.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Gutteridge, J. (1992). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free. Rad. Res. Comm.* Vol 19: P 598-620.

Gutteridge JM. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* ; 41(12) : P 1819-28.

Gujjala, S., Putakala, M., Nukala, S., Bangeppagari, M., Ramaswamy, R et Desireddy, S. (2016). Renoprotective effect of Carralluma fimbriyata against high-fat induced oxidative stress in wistar rats. *J.of. Food and Drug Analysis*, 24 : P 586-593.

Haiba, K., Kerboua, N., Ait Hami et Benmahdi, L. (2014). Stress oxydatif et infertilité masculine : premiers résultats de l'expérience algérienne pilote. *Revue Médicale de l'HMRUO, 2°RM. F. No 1-2014.*

Hajiani, M., Golestani, A., Shariftabrizi, A., Rastegar, R., Payabvash, S., Slamasi, A.H., Otani, H., Mune, M., Yukawa, S., Smith, D., Meydani, M et Blumberg, J. (1999). Vit E treatment of experimental glomerular disease in rat. *Kidney. Int*; 56, suppl, S-66-S-69.

Hallenbeck, J.M et Dutka, A.J., (1990). Background Review and Current Concepts of Reperfusion Injury. *Archives of Neurology*, 47:P 1245-1254.

Halliwell, B et Gutteridge, J.M. (1986). Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys*; 246: P 01-514.

Halliwell, B et Gutteridge, J.M. (1988). Free radicals and antioxidant protection: mechanisms and Significance in toxicology and disease. *Hum Toxicol*; 7: P7-13.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Halliwell, B et Gutteridge, JMC. (1989). Free radicals in biology and medicine.
2^{ends}. Oxford: Clarendon Press.

Halliwell, B. (1996). How to characterize a biological antioxidant.
Free Radic. Res. Commun. 13: P 1-32.

Halliwell, B et Gutteridge, J.M.C. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids.
Arch Biochem Biophys; 280: P1-8.

Halliwell, B et Gutteridge, J.M. (1999). Free radicals in biology and medicine,
3rd edn. Oxford University Press, Midsomer Norton.

Halliwell, B., (2000). Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should
we move forward?
Cardio vasc Res; 47(3): P 410–418.

Halliwell, B. (2009). The wanderings of a free radical.
Free Radic Biol Med; 46: P 531–542.

Hamid G AA., (2013). Effet of vit E and selenium against aluminum induced nephrotoxicity
in pregnant rats.
Folia Histochemica et Cytobiologica; Vol 51, N4: P312-319.

Harrison, R., (2002). Structure and function of xanthine oxido-reductase: where are we now?
Free Radic Biol Med 2002; 33: P 774-797.

Hawkes, WC., Kelley, DS et Taylor, PC. (2001). The effects of dietary selenium on the
immune system in healthy men.
Biol Trace Elem Res, September, Vol 81, Issue 3, P 189-213.

Hayam, I., Cogan, U et Mokady, S. (1993). Dietary oxidized oil enhances the activity of (Na+
K+) ATPase and acetylcholine esterase and lowers the fluidity of rat erythrocyte membrane.
J Nutr Biochem; 4: P 563– 56.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hayam, M.Sc., Uri Cogan, Ph. D et Shoshana Mokady, Ph D. (1995). Dietary oxidized oil and the activity of antioxidant enzyme and lipoprotein in rats.

Nutrition Research, Vol 15, Num 7; P 1037 – 1044.

Heim, K.E., Tagliaferro, A.R et Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.

J Nutr Biochem; 13(10); P 572–84.

Hellsten, Y., Svensson, M., Sjödin, B., Smith, S., Christensen, A., Richter, E.A et Bangsbo, J. (2001). Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during sub maximal exercise.

Free. Radic.Biol. Med; 31(11): P 1313-1322.

Helmut, S., Wilhelm, S et Alex, S. (2005). Nutritional, dietary, and postprandial oxidative stress.

J Nutr 2005 ; 135 : P 969 – 72

Hercberg.S., Preziosi, P., Alferez, M.J.M et Paul-Dauphin, A. (1996). Vitamines antioxydantes et risque de maladies cardiovasculaires.

Sang Thrombose Vaisseaux. 8(4): P 210-4.

Hershko, C., Link, G., Tzahor, M et Pinson A. (1993). The role of iron and iron chelators in anthracycline cardiotoxicity.

Leuk. Lymphoma; Vol 11, P 207-214.

Houlot R. (1984). Techniques d'histopathologie et de cytopathologie.

Ed. Maloine. P 225-227.

Hsieh, CC et Lin, BF., (2005). Opposite effects of low and high dose supplementation of vit E on survival of MRL/lpr mice.

Nutrition. 21(9), P 940–948.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Huang, W., Chan, P., Chen, Y., Chen, C., Liao, S., Chin, W et Cheng, J. (1999). Changes of superoxide dismutase in cultured rat aortic smooth muscle cells (A7r5) by an incubation of vit E. *Pharm.* 59, P 275–282.

Huang, D., Ou, B et Prior, R L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 53 (6): P 1841-1856.

Hulbert, A.J., (2005). On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. *J. Theor Biol*; 234, P 277- 288.

Hussein, A.E., Shokeir, A.A., Sarhan, M.E., El-Menabawy, F.R., Abd-Elmoneim, H.A et Hussain Mahmood, M. (2014). Intestinal Lipid Absorption and Lipoprotein Formation. *Current Opinion in Lipidology* 25 (3): 200- P 206.

Hwang, I., Lee, J et Huh J.Y. (2012). Catalase deficiency accelerates diabetic renal injury through peroxisomal dysfunction. *Diabetes*; 61: P728-738.

Ide, T., Tsutsui, H et Kinugawa, S. (1999). Mitochondrial electron transport complex I is a potential source of oxygen free radicals in the failing myocardium. *Circ Res*; 85: P 357-63.

Ide T., Tsutsui, H et Hayashidani, S. (2001). Mitochondrial DNA damage and dysfunction associated with oxidative stress in failing hearts after myocardial infarction. *Circ Res*; 88: P 529-35.

Immenschuh. S et Ramadorig. (2000). Gene regulation of heme oxygenase-1 as a therapeutic target. *Biochem Pharmacol*; 60: P 1121–1128.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Inoguchi, T., Li, P., Umeda, F., Yu, HY., Kakimoto, M., Imamura, M., Aoki, T., Etoh, T., Hashimoto, T., Naruse, M., Sano, H., Utsumi, H et Nawata, H. (2000). High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C. dependent activation of NADPH oxidase in cultured vascular cells.

Diabetes ; 49 : P 1939-45.

Iqbal, S., Bhangar, M.I et Anwar, F. (2005). Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan.

Food Chem. 93(2): P 265–272.

Iqbal.S., et Bhangar, M.I. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage.

Food Chemistry, 100: P 246–254.

Iranloye et Ouldare. (2011). Renoprotective effect of Caralluma Fimbriata against high-fat diet induced oxidative stress in wistar rats.

Journal of Food Drug Analysis; 24; P 586- 593.

Isaac, A.A., Amos, O.A; Blessing, E.O., Isimoa, J., Okwudi Abiola, A.O et Ebenezer, O.F. (2014). Impairment of hepatic and renal function by 2,5 hexanedione is accompanied by oxidative stress rats.

J.of. Toxicology; Oct P 1-9.

Izaki, Y., Yoshikawa, S et Uchiyama, M. (1984). Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on peroxidative criteria in rats.

Lipids; 19: P 324-331

Jacques, PF., Halpner, AD et Blumberg, JB. (1995). Influence of combined antioxidant nutrient intakes on their plasma concentration in an elderly population.

Am.J. Clin. Nut ; 62, P 1228-1233.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Jain, S.K et Mc Vie, R., (1994). Effect of glycemc control, race (white versus black) and duration of diabetes on reduced glutathione content in erythrocytes of diabetic patients. *Metabolism* ; 43 : P 306-9.

Jairam, V., Uchida, K et Narayanaswami, V. (2012). Pathophysiology of Lipoprotein Oxidation.

Lipoproteins - Role in Health and Diseases. Edition de Sasa Frank et Gerhard Kostner

Janet, Y., Uriu-Adams et Carl, L et Keen. (2005). Copper, oxidative stress and human health. *Mol Aspects Med*; 26 (4-5): P 268-98.

Jensen, S.K. et Lauridsen, C. (2007). Alpha-tocopherol stereo-isomers. *Vitam Horm*, 76: P 281-308.

Jialal, I et Devaraj, S. (1996). Low density lipoprotein oxidation, antioxidants and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin Chem*; 42: P 498–506

Jiang, HY., Wek, S A., Mc Grath, BC., Scheneur, D., Kaufman, RJ., Cavener, DR et Wek, RC (2003). Phosphorylation of alpha subnit of eukaryotic initiation factor 2 is required for activation of NF-kappa B in response to deverse cellular stress. *Mol. Cell. Biol*; 23, P 5651-5663.

Jimoh, F.O et Odutuga, A.A. (2004). Histological changes of selected rat tissues following the ingestion of thermally oxidized groundnut oil. *Biochemistry*, 16: P 1-10.

Jiyeun, Lee et Yoosung, L. (2007). Temperature dependence of the autoxidation and antioxidants of soybean, sunflower, and olive oil. *Eunok Choe Eur Food Res Technol*. 226: P 239–246.

Jones, D.P. (2002). Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol*; 348: P 93–112.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Jong, J.W., Van der, M.P., Niekoop, A.S., Huizer, T., Stroeve, R.J et Bos, E. (1990). Xanthine oxido-reductase activity in perfused hearts of various species, including humans. *Circ Res.*, 67: P 770-3.

Jungbluth, G. (2008). Les espèces réactives de l'oxygène et leurs principales implications dans la physiopathologie canine. Thèse Méd. Vét., Lyon, N°14.

Junk, K et Henke, W. (1996). Developmental changes of antioxidant enzymes in kidney and liver from rats. *Free Radic. Bio. Med.*, 20, P613 - 617

Juskiewicz, J., Dlugoszewska, M., Zdunczyk, Z., Krasnodebska-Depta, A., Krefft, B et Sadowska, J. (2000). The response of rats to long-term feeding with diets containing oxidized fat 2. Biochemical indicator in the serum liver, and bone mineralization. *J.Anim. Feed.Sci.*, 9, P 149-157.

Kale, M., Rathore, N., John, S et Bhatnagar, D. (1999). Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol. Lett.*, 105: P 197-205.

Kamal-Eldin, A., Mäkinen, M et Lampi, A. (2003). The challenging contribution of hydroperoxides to the lipid oxidation mechanism. In: Kamal-Eldin A (ed.), *Lipid Oxidation Pathways*. Champaign Illinois: AOCS Press., P. 1-35.

Kamp, F., Hamilton, J.A., Kamp, F et Westerhoff, H.V. (1993). Movement of Fatty Acids, Fatty Acid Analogues and Bile Acids across Phospholipid Bilayers. *Biochemistry.*, 32 (41): P 11074-86.

Kasai, S., Ito, A., Shindo, K., Toyoshi, T et Bando, M. (2015). High doses of Alpha-Tocopherol supplementation does not induce bone loss in normal rats. *Plos One.*, 10 (7) P 132- 146.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Keaney, J.F Jr., Larson, M.G et Vasan, R.S. (2003). Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study.

Arterioscler Thromb Vasc Biol; 23: P 434–9.

Kebièche, M., Lakroun, Z., et Lahouel, M. (2009). Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat liver cells and mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin administration.

Exper Toxicol Pathol 61: P 161–167

Keller, U., Eder, K et Brandusch, C. (2004). Effect of dietary oxidized fat on cholesterol in plasma and lipoproteins and the susceptibility of low-density lipoprotein to lipid peroxidation in guinea pigs fed diets with different concentration of vitamins E and C.

Int. J. Vit. Nut. Res. Jan, 74; P 11-20

Khalil, A. (2002). Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin e against atherosclerosis.

Can J Physiol Pharmacol; 80, P 662-669.

Kharb.S., Singh. V., Ghalaut, P.S., Sharma, A et Singh, G.P. (2000). Gluthatione levels in health and sickness.

Indian. J Med. Sci; 54: P 52–4.

Kilhovd, B., Juutilainen, A., Lehto, S., Rönnemaa, T., Torjesen, P., Hanssen, K et Laakso M. (2007). Increased serum levels of advanced glycation end products predict total, cardiovascular and coronary mortality in women with type 2 diabetes: a population-based 18 year follow-up study.

Diabetologia, Epub May 4; 50 (7): P 1409–1417.

Kim, JK., Kim, Y., Na, KM., Surh, YJ et Kim, TY. (2007). Gingerol prevents UVB-induced ROS production and COX-2 expression in vitro and in vivo.

Free Radic Res; 41(5): P 603-614.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kimura. (1984). Mechanisms of Adverse effect of Air-Oxidized Soy Bean Oil-Feeding in rat. J. Nut.Sci. Vitaminol.30: P 125-133.

Kirk, J.R. (1984). Biological availability of nutrients in processed foods.

J. Chem. Educ; 61; P 364-367.

Kiron, V., Puangkaew J., Ishizaka, K., Satoh, S et Watanabe T. (2004). Antioxidant status and nonspecific immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vit E along with three lipid sources.

Aquaculture; 234, P 361–379.

Kitamura, M. (2011). Control of NF-kappa B and inflammation by unfolded protein response. Int. Rev. Immunol ; 30 ; P 4-15.

Knight, T., Kurtz, A., Bajt, M., Hinson, J et Jaeschke, H. (2001). Vascular and hepatocellular peroxynitrite formation during acetaminophen toxicity: role of mitochondrial oxidant

Stress. Toxicol Sci; 62: P 212–220.

Koehlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires.

Nutr Clin Metab; 20(4); P 165–77.

Kok, T.S., Harris, P.G et Alexander, J.C., (1988). Heated canola oil and oxidative stress in rats.

Nutrition.Research; 8 (6): P 673-684.

Kongham S Sriwong S et Tasanarong. (2013). Protective effect of Alpha tocopherol on contrast-induced nephropathy in rat.

Nefrologia. Pres; 33 (1), P 116- 123.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Konopka, I., Tanska, M., Rotkiewicz, D., et Zachodna, M. (2003). GC analysis of changes in the fatty acid composition of sunflower and olive oils heated with quercetin, caffeic acid, protocatechuic acid, and butylated hydroxyanisole.

Bromat. Chem. Toksykol., Supplement; 343.

Kontush, A., Finckh, H., Karten, B., Kohlschu, A et Beisiege, I.U. (1996). Antioxydant and prooxidant activity of alpha- tocopherol in human plasma and low-density lipoprotein.

J.Lipid.Res.37: P 1436-1448.

Koppenol, W.H. (2001). The Haber-Weiss cycle, 70 years later.

Redox Rep ; 6 : P 229–34.

Korytowski, W., Kalyanaraman, B., Menon, I.A., Sarna T et Sealy, R.C. (1986). Reaction of $O_2^{\circ-}$ with melanins: Electron spin resonance and spin trapping studies.

Biochim Biophys Acta; 882: P 145-153.

Krajcovicova, M., Valachovicova, M., Mislanova, C. et Pribiojova, J. (2012). Antioxidative vitamins and oxidative damage of lipid and DNA in relation to nutrition oxides.

Antioxid. Med.Sci.1, P 147–151.

Krause K H (2004). Tissues distribution and putative physiological function of NOX family NADPH oxydase.

Jpn J Inf Dis., 57: P S28- 29.

Krinsky, N. (1993). Actions of carotenoids in biological systems.

Annu.Rev. Nutr., 1993, 13: P 561-87.

Kryston, T.B., Georgiev, A.B., Pissis, P et Georgakilas, A.G. (2011). Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis.

Mutat. Res ; 711 : P 193–201.

Koven, W., Barr, Y et Lutzky, S (2001). The effect of dietary arachidonic acid (20 :4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead sea bream Sparus aurata larvae.

Aquaculture., 193 ; P 107-591.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kowalski, R. (2007). GC analysis of changes in the fatty acid composition of sunflower oil and olive oils heated with quercetin, caffeic acid, protocatechuic acid and butylated hydroxyanisole. Acta chromatographica N°18, presented at the 5th International Symposium on Chromatography of Natural Products ISCNP 2006, Lublin (Poland), June 19th-22nd, 2006.

Ku, SK., Ruhaifi, M M S., Fatin, S S., Saffana, M., Taty Anna, K., Das, S et Kamsiah, J. (2014). The harmful effects of consumption of repeatedly heated edible oils: a short review. Clin. Ter 165(4) P 217-221

Kuhn, H., Romisch, J et Belkner, J. (2005). The role of lipoxygenase isoforms in atherogenesis. Mol Nutr Food Res; 49: P 1014–1029.

Kulås Robert, E et Ackman, G (2001). Properties of α -, γ -, and δ -tocopherol in purified fish oil triacylglycerols.

Journal of the American Oil Chemists Society. April 2001, Volume 78, Issue 4, P 361–367

Kuroiwa, K., Nelson, J., Boyce, S., Alexander, J., Ogle, C et Inoue, S. (1991). Metabolic and immune effect of vitamin E supplementation after burn. JPEN.15 : P 22-26

Kushnareva, Y, Murphy, AN et Andreyev, A. (2002). Complex I-mediated reactive oxygen species generation : modulation by cytochrome c and NAD(P)⁺ oxidation-reduction state. Biochem. J : P 368 :545-53.

Kutlubay et Oguz E.O. (2007). Histological and ultrastructural evidence for protective effect on aluminium – induced kidney damage by intraperitoneal administration of alpha- tocopherol. Int. journal of Toxicology; 26: P 95-101.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Li, S., Tan, HY., Wang, N., Zhang, Z.G., Lao, L., Wong, C.W. et Feng, Y. (2015). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases.

Int. J. Mol. Sci. 16(11), P 26087–26124.

Liaudet, L. (2007). Biologie oxydative et implications cliniques du peroxy-nitrite

Rev Med Suisse ; vol 3. N° 32769, P 1-10.

Lee, C Y., Sharma A., Cheong J E et Nelson, J L. (2010). Synthesis and antioxidant properties of dendritic polyphenols.

Bioorg.Med. Chem. Lett; 19: P 6326-6330.

Legrand, P. (2004). Comment augmenter l'apport nutritionnel en acides gras n-3 ?

OCL ; 11(1) : P50-4

Legrand, P. (2007). Les acides gras : structure, fonction, apports nutritionnels conseillés, Cahier Nutri Diététique, 42(HS1) : P 7-12

Lemańska, K., Szymusiak, H., Tyrakowska, B., Zieliński, R., Soffers, A.E et Rietjens, I.M. (2001).

The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones.

Free Radic Biol Med; 31(7): P 869-81.

Leong, XF., Ng, CY., Jaarin, K et Mustafa, MR. (2015). Effect of repeated heating of cooking oil on antioxidant content and endothelial function.

Austin Pharm Ther; Vol 3 P 1-7.

Levine, R et Stadtman, E. (2001). Oxidative modification of proteins during aging.

Exp Gerontol; 36: P1495–1502.

Levine, RL. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease.

Free Radic Biol Med ; 32, P 790-796.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

L'huillier, A, (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes méditerranéennes : *Agauria salicifolia* hook, *F ex Oliver*. *Agauria polyphyllabaker* (ERICACEAE). *Tambourissa trichophylla baker* (*monimiaceae*) et *embeliaconcinna baker* (*myrsinaceae*).

Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat. Ecoledoctorat de Toulouse.

Liu, Y. (2006). Biliverdin reductase, a major physiologic cytoprotectant, suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis.

Free Radical Biology and Medicine; 40 (6): P 960-967.

Liu, W.H., Stephen, B., Inbara, J et Chen, B.H. (2007). Analytical, nutritional and clinical methods. Analysis of formation of trans fatty acids in hydrogenated soybean oil during boiling food chemistry; 104: P 567-572.

Liu, P., Chen, B J., Weber, TE., Johston, L J et Shurson, G, C. (2014). Influence of thermally-oxidized vegetable oils and animals' fats on growth performance liver gene expression and liver and serum cholesterol and triglycerides in young pigs.

J. Anim. Sci. 92, P 2960- 2970.

Linn, S., Ishikawa, M., Koshio, S et Yokama, S. (2014)

Effect of Dietary Vitamin E Supplementation on Growth Performance and Oxidative Condition of Red Sea Bream *Pagrus major*

Aquaculture Sci. Vol 62. N°4, P 329— 339.

Liu, J.F et Huang, C.J. (1995). Tissue alpha-Tocopherol retention in male rats is by feeding diets containing oxidized frying oil.

J. Nut. 125 : P 3071-3080.

Liu, J F et Huang, C.J. (1996). Dietary oxidized frying Oil Enhances Tissue Alpha-Tocopherol Depletion and Radioisotope Tracer Excretion in vitamin E-Deficient Rat.

Nut. 126: P 2227- 2235.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liu, Y., Zhu, B., Luo, L., Li, P., Paty, D et Cynader, M. (2001). Heme oxygenase -1 plays an important protective role in experimental autoimmune encephalomyelitis.

Neuroreport; 12: P1841–1845.

Liu, W.M., Lai, S.J., Lu, L.Z., Shi, F.X., Zhang, J., Liu, Y., Yu, B., Zheng-Rongtao, Z.R., Shen, J.D., Li, G.Q., Wang, D.Q., Li, J.J., et Tian, Y. (2011). Effect of dietary fatty acids on serum parameters, fatty acid compositions, and liver histology in Shaoxing laying ducks.

Journal of Zhejiang University. Science; B 01 Sep, 12(9): P 736-743.

Lennon, C., Davidson, K.W., Sadowski, J.A et Madson, J.B. (1993). The vitamin K content of intravenous lipid emulsions.

JPEN; 17: P142-144.

Lopes, S, Jurisicova, A et Sun, J.G. (1998). Reactive oxygen species: potential cause for DNA fragmentation in human spermatozoa.

Hum. Reprod; 13: P 896-900.

Lovell, M.A et Markesbery, W.R. (2007a). Oxidative damage in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease.

J Neurosci Res; 85: P 3036-40.

Lovell, M.A et Markesbery, W.R. (2007b). Oxidative DNA damage in mild cognitive impairment and late-stage Alzheimer's disease.

Nucleic Acids Research; 35: P 7497-504.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr., A.L et Randaith, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent.

J. Biol. Chem. 193, P 265–267.

Mac Laren, D. (2007). Advances in sports and exercise science series.

Nutrition and Sport. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Malle, E., Waeg, G., Schreiber, R., Grone, E.F., Sattler, W et Grone, H.J. (2000). Immunohistochemical evidence for the myelo-peroxidase/H₂O₂/halide system in human atherosclerotic lesions: co-localization of myelo-peroxidase and hypochlorite-modified proteins.

Eur. J. Biochem; 267: P 4495–4503.

Mandelker, (2008). Introduction to oxidative and metochondrial dysfunction. Vet Clin: Small AnimPractice.Oxidative stress: The role of mitochondria and antioxidants.

Elsevier Inc.38: P 1-30.

Mansbach, Charles, M et ShadabSiddiqi A. (2010). The biogenesis of chylomicrons.

Annual Review of Physiology; 72: P 315-333.

Marklund et Marklund (1974). Pyrogallol autoxidation. In: Greenwald, R.A. Handbook of Methods for Oxygen Radical Research; P 243–547, CRC Press, Boca Raton, Florida

Marmesat, S., Morales, A., Velasco, J., Ruiz-Mendez, M.V et Dobarganes, M.C. (2009). Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation.

Grasasy Aceites; 60 (2), P 155-160.

Marnett, L.J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde.

Mutat. Res. 424 : P 83–95.

Marquez-Ruiz, G., Garcia-Martinez, M C et Holgado, F. (2008). Changes and effects of dietary oxidized lipids in the gastro intestinal tract.

Lipids. Insights, 2: P 11-19.

Martin, A. (2001). The apports nutritionnels conseilles (ANC) for the French population.

Reprod. Nutr. Dev. 41: P 119-228.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C et Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes.

Journal of Nutritional Biochemistry; 16 (10): P 577-586.

Mattes et Richard, D. (2002). Oral Fat Exposure Increases the First Phase Triacylglycerol Concentration due to Release of Stored Lipid in Humans.

The Journal of Nutrition 132 (12): P 665-662.

Mc Cord, JM. (1985). Oxygen derived free radicals in post ischemic tissue injury.

N. Eng.Chem; 33, P 17025-17208.

Mc Michael, M. (2007). Oxidative stress, antioxidants, and assessment of oxidative stress in dogs and cats.

JAVMA; 231(5): P 714-720.

Meagher, E., Barry O et Lawson J. (2004). Effect of vitamin E on lipid peroxidation healthy person.

JAMA; 285: P 1178-1182.

Mei, W.S., Ismail, A., Esa, N.M., Akowuah, G.A., Wai, H.C et Seng, Y.H. (2014). The effectiveness of rambutan (*Nepheliumlappaceum*. L.) extract in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions.

Antioxidants (Basel); 3(2), P 371–386.

Melton, S.L., Jafar, S., Sykes, D et Trigiano, M.K. (1994). Review of Stability Measurements for Frying Oils and Fried Food Flavor.

J. Amer. Oil Chem. Soc., 71: P 1301- 1308.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mendoza-Nunez, V.M., Sanchez-Rodriguez, M.A., Retana-Ugalde, R., Vargas-Guadarrama, L.A., (2001). Total anti-oxidant levels, gender and age as risk factors for DNA damage in lymphocytes of the Elderly.

Mech Ageing Dev; 122: P 835–47.

Mette, M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : Etat des connaissances. Nutrition clinique et métabolisme ; 20 : P 48-53.

Mezzetti, A., Pierdomenico, SD., Costantini, F., Romano, F., De Cesare, D., Cucurullo, F., Imbastaro, T., Riario-Sforza, G., Di Giacomo, F., Zuliani, G et Fellin, R. (1998). Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases.

Free Radic Biol Med; 25: P 676-681.

Mezziti, A. (2007). Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Etude in vitro et in vivo.

Mémoire de Magister Université de Batna. 30 -35- P 49-67.

Milne, G., Musiek, E et Morrow, J. (2005). F2-isoprostanes as markers of oxidative stress in vivo: an overview.

Biomarkers; 10 (Suppl): S10–S23.

Miller, K.W et Long, P.H. (1990). A 91-day feeding study in rats with heated olestra/vegetable oil blends.

Fd. Chem.Toxic; 28: P 307-315.

Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, LP., Bramley, P.M et Rice-Evans, C.A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls.

FEBS Lett; 384: P 240-2.

Miyata, M et Smith, JD. (1997). Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and β -amyloid peptides.

Nature Genetics; 14: P 55-61.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Mohammedi, Z. (2005).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et falvonoides de quelques plantes de la région du Tlemcen.
Thèse de magistère. Université-Abou Bakr Belkaid-Telemcen.
- Mohinder, B et Naveen, K. (2014).** Physiological markers of oxidative stress. In: Oxidative stress mechanisms and their modulation.
Springer India: P 8-12.
- Mohrose, F., Afzal, M., Sayed Zakir, HS et Tabassum, S. (2017).** Influence of dietary lipid peroxidation of *Labeo rohita* fingerlings.
Inter. Journal. Of. Biosciences ; Vol. 10, N° 4. P 113-120.
- Mongens, M. (2013).** Origine et conséquences du stress oxydant.
Thèse de Doctorat de vétérinaire Ecole National de Vétérinaire d'Alfort. Faculté de Médecine de Créteil. France.
- Monteil, C., Mulder, P et Thuillez, C. (2004).** Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique ?
Médecine thérapeutique Cardiologie ; Vol 2, N° 2 : P 78-85.
- Montuschi, P., Barnes, P et Roberts, L. (2004).** Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress.
FASEB J; 18(15): P 1791–1800.
- Moore, SA., Hurt, E., Yoder, E., Sprecher, H et Spector, AA. (1995).** Docosa-hexaenoic acid synthesis in human skin fibroblasts involves peroxisomal retroconversion of tetra-cosa-hexaenoic acid.
J. Lipid Res.,36(11): P 2433-43.
- Mossa A-T.H., Heikal T.M et Omara E.A.Z. (2015).** Liver damage associated with exposure to aspirin and diazinon in male rats and the ameliorative effect of selenium.
Biomed. Aging. Pathol; 14: P 1-14.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mourente, G ED., Salvago, D., Bell, JG et Tocher, DR. (2002). Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidized oil: attenuation by dietary vit E.

Aquaculture ; 214, P 343-361.

Mu, H et Hoy, C. (2004). The Digestion of Dietary Triacylglycerols.

Progress in Lipid Research 43 (2): P 105-133.

Mukai, K. (1993). Synthesis and kinetic study of antioxidant and prooxidant actions of vitamin E derivatives. In: Vitamin E in health and disease (Packer, L. & Fuchs, J., eds),

P 79-119. Marcel Dekker, New York, NY.

Murthy, KG., Szabo et Salzman, A.I. (2004). Cytokines stimulate expression of inducible nitric oxide synthase in DLD-1 human adenocarcinoma cells by activating poly(A) polymerase.

Inflam Res ; 53 : P 604—608.

Martin-Polvillo, M., Marquez-Ruiz, G., et Dobarganes, MC. (2004). Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature.

J. Am. Oil Chem. Soc; 81: P 577-583.

Michelangeli, F., Robson, M.J., East, J.M et Lee, A.G. (1990). The conformation of pyrethroids bound to lipid layers.

Biochim.Biophys. Acta ; 1028 : P 49-57.

Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas E., Drai, J et Therand P. (2008). Biomarqueurs de la peroxydation lipidique aspect analytique.

Ann. Biol. Clin ; 66 ; Vol 6 ; P 605-629.

Miller, E.R., Pastor, R., Dalal, D., Riemersma, R.A., Appel, L.J. and Gullar, E. (2005)

Meta-Analysis: High-Dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. Ann.

Intern. Med. 142, P 37–46.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Murphy, MP. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species.

Biochem J; 417: P 1-13.

Mutlu-Turkoglu, U., Ilhan, E., Oztezcan, S., Kuru, A., Aykac-Tokcr, G., Uysal, M. (2003). Agerelated increase in plasma malondialdehyde and protein carbonyl levels and lymphocyte DNA damage in elderly subjects.

Clin Biochem ; 36 :3 P 97-400.

Nadezda, A et Victor, V.M. (2015). Molecular strategies for targeting antioxidants to mitochondria therapeutic implications.

Antioxidant Redox Signaling ; 22(8), P 686–729.

Nakamura, Manabu, T., Barbara, E., Yudell et Juan, J.L. (2014). Regulation of energy Metabolism by Long-Chain Fatty Acids.

Progress in Lipid Research; 53 (janvier): P 124-144.

Navarro-Alarcon, M., Cabrera-Vique, C. (2008). Selenium in food and the human body: A review. Science of the Total Environment; 400: P 115-141.

Naziroglu, M., Karaoglu, A et Aksoy, AO. (2004). Selenium and high dose vit E administration protect cisplatin-induced oxidative damage to renal liver and lens tissues in rats.

Toxicology; 195 (2-3), P 221-230.

Neuzil, J et Stocker, R. (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin.

FEBS.Lett; 331 (3), P 281-284.

Nielsen, H.K., Finot, P.A et Hurrell, R.F. (1985). Reactions of proteins with oxidizing lipids. British Journal of Nutrition. 53: P 75-86.

Niki, E., Tsuchiya, J., Tanimura, R et Kamiya, Y. (1982). Regeneration of vitamin E from alpha-chromanoxo radicals by glutathione and vitamin C.

Chem. Lett ; P 789-92.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Niot, I., Poirier, H., Thu, T., Tran, T et Besnard, P. (2009).

Intestinal Absorption of Long-Chain Fatty Acids: Evidence and Uncertainties.
Progress in Lipid Research; 48 (2), P 101-115.

Nishikawa, T., Edelstein, D., Du, XL., Yamagishi, S., Matsumura, T., Kaneda, Y., Yorek, MA., Beebe, D., Oates, PJ., Hammes, HP., Giardino, I., et Brownlee, M. (2000).
Normalizing mitochondrial production blocks three pathways of hyperglycemic damage.
Nature; 404, P 787-90.

Nishizuka, Y. (1988). The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation.
Nature. 25: P 661-665.

Nwangumaa, B., Chebeal, CA., Zeanyikabl, USE et Zea, CE. (1999). Toxicity of oxidized fats II: Tissue levels of lipid peroxides in rats fed a thermally oxidized corn oil diet.
Food and Chemical Toxicology; Vol 37, 4, P 413-416.

Nwaugino, B C., Achebe, A C., Ezeanyika, L U et Eze, LC. (1998). Toxicity of oxidized fats II: tissue levels of lipid peroxides in rats fed a thermally oxidized corn oil diet.
Food.Chem. Toxicol; 37, P 413-416.

Oarada, M., Miyazawa, Z et Kaneda, T. (1996). Distribution of ¹⁴C after oral administration of (U-¹⁴C) labeled methyl linoleate hydroperoxides and their secondary oxidation products in rats.
Lipids; 21, P 150–154.

Ognjanović, B.I., Marković, S.D., Pavlović, S.Z., Žikić, R.V., Štajn, Z.Š et SAIČIĆ, S., (2012). Effect of Chronic Cadmium Exposure on Antioxidant Defense System in Some Tissues of Rats: Protective Effect of Selenium.
Physiol Res ; 57(3) : P 403-11.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ohshima, H., Sawa, T et Akaike, T. (2006). 8-nitroguanine, a product of nitrative DNA damage caused by reactive nitrogen species: formation, occurrence, and implications in inflammation and carcinogenesis.

Antioxid. Redox. Signal; 8(5–6), P 1033–1045.

Olusi, SO. (2002). Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans.

Int. J. Obes. Relat. Metab.Disord; 26, P 1159–64.

Ono, T., Tsuruta, R., Fujita, M., Akih, S., Kutsuna, S et Kawamura, Y. (2009). Xanthine oxidase is one of the major sources of superoxide anion radicals in blood after reperfusion in rats with forebrain ischemia/reperfusion.

Brain Res; 1305, P 158-167.

Osfor, M.M., Ibrahim, M.S., Mohamed, Y.A., Ahmed, A.M., Abd El Azeem, A.S. et Hegazy, A.M. (2010). Effect of alphasalicylic acid and vit E on heavy metals intoxication in male Albinos rats.

J.Am. Sci; 6, P 56–63.

Osim, E.E., Owu, D.U., Isong, E.U et Umoh, I.B. (1994). Influence of chronic consumption of the thermoxidized and fresh palm oil diets based metabolic rate, body weight and morphology of tissues in rats.

Discovery and innovation; 6(4), P 389–396.

Otani, H., Mune, M., Yukawa, S., Yukawa, S., Smith, D., Mohsen, M et Blumberg. (1999). Vitamin E treatment of experimental glomerular disease in rat.

Kidney International; Vol 10; P 12-20.

Otten, W., Iaizzo, PA et Eichinger, HM. (1997). Effects of a high n-3 fatty acid diet on membrane lipid composition of heart and skeletal muscle in normal swine and in swine with the genetic mutation for malignant hyperthermia.

J. Lipid. Res; 38 (10): P 2023-34.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ouladiji, A T., Shoremekun, K.L et Yakubu, M.T. (2009). Physicochemical properties of the oil from the fruit of blighiasapida and toxicological evaluation of the oil-based diet in Wistar rats.

J. of.Med. Food; 12, P 1127-1135.

Ozden, S., Bolkent, S., Gezginci Oktayoglu, S., Arda-Pirincci Karatug, A. et Alpertunga, B. (2012). Effect of taurine and vit E on lipid peroxidation antioxidant system and histological changes in Wistar rat liver and kidney after short term exposure of methiocarb.

Istanbul.Ecz.Kak.Derg.J. Fac. Pharm. Istanbul; 42, P 83–102.

Packer, L., Witt, E.H et Tritschler, H.J. (1995). Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. Free Radical Biology and Medicine; 19(2), P 227-250.

Paglia, D.E. et Valentine, W. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase.

J. Lab. Clin. Med. 70, P 158–169.

Palli, D., Vineis, P et Russo, A. Diet, metabolic polymorphisms and DNA adducts: the EPIC-Italy cross-sectional study.

Int. J. Cancer; 8, P 444 - 451.

Pamplona, R., (2008). Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: A causal role in aging and longevity.

Biochimica. Biophysica. Acta 1777 ; P 1249-1262

Paquet, C et Cuvier, P. (1976). Autoxidation à température relativement élevée.

Rev.Fr. Corps Gras. 13^{ème} congrès mondial. Section A : Autoxydation et altération thermooxydative. P 35-42.

Pastre, J. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydant dans l'alimentation des carnivores domestique.

Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Pearson, P., Lewis, S.A, Britton, J, Young, I.S et Fogarty, A. (2006). The Pro-Oxidant Activity of high-dose Vitamin E Supplements in Vivo.

Biodrugs ; 20 (5), P 271-273.

Perrin, JL. (1992). Evolution des corps gras au cours de leurs utilisations alimentaires.

In KARLESKIND A. Manuel des corps gras Tec & Doc Ed. Lavoisier. Paris.

Pike et Linda J. (2005). Growth Factor Receptors, Lipid Rafts and Caveolae: An Evolving Story.

Biochimica et Biophysica Acta ; 1746 (3) : P 260-273.

Pigeyre, M. (2013). Symposium sur les acides gras, au cœur du débat à Lille, juin.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K et Defraigne, JO. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante.

Nutrition clinique et métabolisme ; 16, P 233-239.

Podda, M et Packer, L. (2003). Physiology of the gastro-intestinal Tract.

(Eds.) New York: Marcel Dekker, chap. 23, P511-38.

Poulsen., LaCour, L., Siersbæk, M et Mandrup, S. (2012). PPARs: Fatty Acid Sensors Controlling Metabolism:

Seminars in Cell & Developmental Biology; 23 (6), P 631-639.

Powell, SR. (2000). The antioxidant properties of zinc.

J. Nutr; 130, P 1447-1454.

Powers, S et Jackson, M. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and Impact on muscle force production.

Physiol. Rev ; 88, P1243-1276.

Pré, J. (1991). La lipoperoxydation.

Path. Biol; 39 (7), P 716-787.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors.
Clin Interv Aging; 2(2), P 219–36.

Ramirez, D.C., Gomez –Mejiba, S.E., Corbett, J.T., Deterding, L.J., Tomer, K.B et Mason, R.P. (2008). Cu/Zn-Superoxide Dismutase-driven Free Radical Modifications: Copper-and Carbonate Radical Anion-initiated Protein Radical Chemistry.
Biochemical Society; 10, P 1-25.

Rao, A.V et Rao, L.G. (2007). Carotenoids and human health.
Pharmacol. Res; 55(3): P 207-16.

Ray, D.E. (1991). Pesticides derived from plants and another organism. In: Hayes WY Jr. Lows ER Jr, eds. Handbook of Pesticides Toxicology.
San Diego CA: Academic Press Inc: P 585-636.

Rhodem E., Lima, L., Teloken, C., Lucas, MI., Bello-Klein, A et Rhoden, CR. (2001). Beneficial effect of Alpha-Tocopherol in renal ischemia-reperfusion in rats.
Jpn.J. Pharmacol ; 87, P 164-166.

Ricciarelli, R., Tasinato, A et Clemen., T S., (1998). Alpha- tocopherol specifically inactivates cellular protein kinase C alpha by changing its phosphorylation state.
Biochem. J; 334; P 243-249.

Richter, C., Park, J. Wet Ames, B.N. (1988). Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive.
Proc Natl Acad Sci U S A., 85, P 6465-6467.

Roberts, H.J. (1981). Perspective on vit E as therapy.
JAMA. 246, P 129–31.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rock, C.L., Thornquist, M.D., Kristal, A.R., Patterson, R.E., Copper, D.A., Neuhouser, M.L., Neumar, K., Sztainer, D et Cheskin, L.J. (1999). Demographic dietary and life style factors differentially explain variability in serum carotenoids and fat-soluble vitamins: base line results from the sentinel site of olestra marketing surveillance study.

J. Nut; 129, P 855–864.

Rohman, A et Man, Y.B.C. (2013). Application of FTIR Spectroscopy for Monitoring the Stabilities of selected vegetable oils during thermal oxidation.

International Journal of Food Properties, 16, P 1594-1603.

Romero, A., Cuesta, C et Sanchez-Muniz, F.J. (1998). Effect of replenishment during deep-fat frying of frozen foods in a sunflower oil and high-oleic acid sunflower oil.

J. Am. Oil Chem. Soc; 75: P 161-167.

Rosen, P., Nawroth, PP., King, G., Moller, W., Tritschler, H.J et Packer, L. (2001). The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society.

Diabetes. Metab. Res; 17, P 189-212.

Rota, S., William, NA., Baglin, TP et Byrne, CD. (1998). Atherogenic lipoproteins support assembly of the prothrombinase complex and thrombin generation: modulation by oxidation and vitamin E.

Blood ; 91, P 508–15

Rouaki, F., Mazari, A., Kanane, A., Brahim Errahmani, M et Ammouche, A. (2013). Cardiotoxicity induced by dietary oxidized sunflower oil in rats: Pro- and Antioxidant effects of alpha tocopherol.

Int.J. Vitam.Nutr. Res; 83(6), P 367–376.

Rutkowski, M et Grzegorzcyk, K. (2012). Adverse effects of antioxidative vitamins.

International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health; 25(2): P 105–121

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sack, M.N., Rader., D.J et Cannon, R.O. (1994). 3rd. Estrogen and inhibition of oxidation of LDL in post menopausal women.
Lancet ;343: P 269-270.

Sadowitz, PD., Hubbard, B A., Dabrowiak, J C., Goodisman, J, Tacka, K A., Aktas, M K., Cunningham, M J., Dubowy, R I et Souid, A K. (2002). Kinetic of cisplatin binding to cellular DNA and modulation by thioblocking agents and thiol drugs.
Drug. Metab. Dispos.30; P 183-190.

Sadikovic, B., Al-Romaih, K., Squire, JA et Zielenska, M. (2008). Cause and consequences of genetic and epigenetic alterations in human cancer.
Curr. Genomics ; 9, P 394–408.

Saraji, M, et Esteki, N. (2008). Analysis of carbamate-pesticides in water amples using single–drop microextraction and gas chromatography- mass spectrometry.
Anal.Bioanal. Chem; 391 (3); P 327-331.

Sarumatki, A et Saravanan, N (2012). Antioxidant status in kidney and liver of rats during immobilization stress and treated with *Centella asiatica* (Linn.)
Int J Res Biol Sci. ;2 : P 165–169.

Schastry, CS., Nrendrakumar, P., Ambala, I., Joshi, H et Aswathanarayana, BJ. (2011). Evaluation of effect of reused edible oils on vital organs of Wistar rats.
J. Health Science; 1 (4); P 10-15.

Schiavone, A., J Nery, J., Alfredo Choque-Lo´pez, J., Baucells, MD., et Barroeta, A. (2009). Dietary lipid oxidation and vitamin E supplementation influence in vivo erythrocyte traits and postmortem leg muscle lipid oxidation in broiler chickens.
Can. J. Anim. Sci. 90: P 197-202.

Scheibmeir, HD., Christensen K., Whitaker, SH., Jegaethesan, J., Clancy, R et Pierce, JD. (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses.
Intensive Crit Care Nurs; 21(1), P 24-8.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sack, M.N., Rader, D.J et Cannon, R.O. (1994). 3rd. Estrogen and inhibition of oxidation of LDL in post menopausal women.

Lancet; 343: P 269-270.

Sen, CK. (2000). Cellular thiols and redox-regulated signal transduction.

Curr Top Cell Regul, 36, P 1–30.

Servais, S. (2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l’ozone : Effets de l’âge et d’une supplémentation en oméga-3.

Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon 1, France.

Sheehy, P.J.A., Morrissey, P.A et Flynn, A. (1994). Consumption of thermally-oxidized sunflower oil by chicks reduces α -tocopherol status and increases susceptibility of tissues to lipid oxidation.

British Journal of Nutrition; 71, P 53-65.

Shultz, M., Leist, M., Petrzika, M., Gassmann, B et Brigelius-Flohé, R. (1995). Novel urinary metabolite of α -T, 2, 5, 7, 8 tetramethyl-2 (2’carboxyethyl)-6-hydroxychroman as an indicator of an adequate Vit supply.

Am. J. Clin. Nut; 62 (6), P 1527S–1534S.

Shurson, G., Kerr, B J et Hanson, A R. (2015). Evaluating the quality of feed fats and oils and their effects on pig growth performance.

Journal of Animal Science and Biotechnology vol 6, 10, P 1 – 14.

Sies, H. (1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants.

Exp.Physiol; 82(2), P 291–295.

Sies, H et Jones, DP. (2007). Oxidative stress.

In: Encyclopaedia of stress. Ed: Fink G. San Diego, Elsevier. P 45-48.

Singh, R P. (2005). Food engineering. Food frying.

3 Edition V III. California.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Singh, U et Jialal, I. (2006). Oxidative stress and atherosclerosis.

Pathophysiology; 13: P 129–142.

Sklan, D et Donoghue, S. (1982). Vitamin E response to high dietary vitamin A in the chick.

J. Nutr; 112: P 759.

Skrzydłewska, E., Ostrowska, J., Stankiewicz, A et Farbiszewski, R. (2002). Green tea as a potent antioxidant in alcohol intoxication.

Addict. Biol.7, P 307–314.

Small, D.M., Coombes, J.S., Bennett, N., Johnson, D.W et Gobe, G. (2012). Oxidative stress, antioxidant therapies and chronic kidney diseases.

Nephrology (Carlton); 17(4), P 311–321.

Smith, MA., Zhu., X, Tabaton., M. (2010). Increased iron and free radical generation in preclinical Alzheimer disease and mild cognitive impairment.

J Alzheimers Dis;19 (1), P 363-72.

Sofic, E., Paulus, W., Jellinger, K., Riederer, P et Youdim, MBH. (1991). Selective increase of iron in substantia nigra zona compacta of parkinsonian brains.

J. Neurochem ; 56 : P 978–82.

Sorescu, D et Griendling, KK. (2002). Reactive oxygen species, mitochondria, and NADPH oxidases in the development and progression of heart failure.

Congest Heart Fail; 8, P 132-40.

Sousa, P S., PereiraCosta, A., RochaTomé, G B., Saldanha, G F., Rivelilson,DF et Freitas, M. (2011). Oxidative stress in rat striatum after pilocarpine-induced seizures is diminished by alpha-tocopherol

European Journal of Pharmacology ; Volume 668, Issues 1–2, 1 October, P 65-71

Spina, MB et Cohen, G. (1989). Dopamine turnover and glutathione oxidation: implication for Parkinson's disease.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA; 86, P 1398–400.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Spiteller, G. (2001). Lipid peroxidation in aging and age dependant diseases.
Exp. Gerontol; 36: P 1425–1457.

Sprecher, H. (2002). The roles of anabolic and catabolic reactions in the synthesis and recycling of polyunsaturated fatty acids.

Prostaglandins. Leukot.Essent. Fatty Acids. Aug-Sep; 67(2-3), P 79-83.

Sriduevi, N., Venkataraman, P., Senthilkumar, K., Krishnamoorthy, G et Arunakaran, J. (2007). Oxidative stress modulate membrane bound ATPases in brain regions of PCB (Arclor 1254) exposed rats: Protective role of Alpha Tocopherol.
Biomed. Pharmacother; 61; P 435-440.

Srinivasan, VA, Raghavan, VA et Parthasarathy, S. (2012). Biochemical basis and clinical consequences of glucolipotoxicity: a primer.
Heart Fail Clin; 8(4): P 501-511.

Stadtman, ER. (2001). Protein oxidation in aging and age-related diseases.
Ann. NY. Acad. Sci; 928, P 22–38.

Staprans, I., Rapp, J.H., Pan, X.M., et Feingold, K.R. (1996). Oxidized lipids in the diet are incorporated by the liver into very low-density lipoprotein in rats.
J. Lipid Res; 37 (2), P 420–430.

Stehbens, W.E. (2003). Oxidative stress, toxic hepatitis, and antioxidants with particular emphasis on zinc.
Exp. Mol. Pathol ; 75(3), P 265-76.

Stevanovic, T., Thorslund, T., et De souza-Pinto, N.C. (2011). Metochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging.
Exp.Gerontol; 37: P 1189-119.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Stevensner, T., Tharslund, T., De souza –pinto, NC et Bohr, VA. (2002). Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging.

Exp. Gerontol; 37, P 1189-1196.

Stocker, R. (1999). The ambivalence of Vit E in atherogenesis.

Trends Biochem.Sci; 24, P219–233.

Storz, P., Jakobu et Reichmann, D. (2013). Oxidative Stress in Cancer, Oxidative Stress and Redox Regulation, Media Dordrecht; P 427-447.

Strayer, D. (2006). Fats and oils. Publication by Institute of shortening and edible oils 175. New York Avenue; NW, SUITE 120. Washington DC, 9th Edition.

Subasree, S. (2014). Role of Vit E and C in health and disease.

J. Pharm. Sci. Res ; 6(1), P 52–55.

Sultana, R et Butterfield, D.A. (2009). Oxidatively modified, mitochondria-relevant brain proteins in subjects with Alzheimer disease and mild cognitive impairment.

J. Bioenerg. Biomembr; 41: P 441-6.

Sulzle A Hirche F et Eder K. (2008), Thermally oxidized dietary fat upregulates the expression of target genes of PPAR in rat liver.

J Nut 134 P1375- 1383.

Sunderman, FW. Jr., Hopfer, S.M., Sweeney, K.R., Marcus, A.H., Most, B.M et Creason, J (2001). Nickel absorption and kinetics in human volunteers.

J. Biol. Chem; 276 (25): P 22223-222230.

Surai, P.F. (2003). Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction.

Nottingham University Press.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Susa, N., Ueno, S., Furukawa, Y et Sugiyama, M. (1996). Protective effect of vitamin E on chromium (VI)-induced cytotoxicity and lipid peroxidation in primary cultures of rat hepatocytes. *Arch Toxicol* ;71 :20-4

Sushma, B.J., Nagarajappa, K et Mallikaruna, CR. (2013). Serum paraoxonase-1 activity oxidative stress and lipid profile in patients with chronic liver disease

Intern J Pharmacol Biol Sci ; 3 (1) : P 1-6.

Swartz, H.M., Sarna, T et Zecca, L. (1992). Modulation by neuro-melanin of the availability and reactivity of metal ions.

Ann. Neurol; 32, P 69–75.

Swerdlow, R.H, Burns, J.M et Khan, S.M., (2010). The Alzheimer's disease metochondrial cascade hypothesis.

J. Alzheimers. Dis ; 20(suppl2), P 265-267.

Takano, H., Zou, Y., Hasegawa, H., Akazawa, H., Nagai T et Komuro, I. (2003). Oxidative stress-induced signal transduction pathways in cardiac myocytes: involvement of ROS in heart diseases.

Antioxid.Redox. Signal ; 5, P 789-94.

Takahsi, K et Akba, Y. (1999). Effect of oxidized fat on performance and some physiological responses in broiler chickens.

Jpn. Poult.Sci; 36, P 304-310.

Tapia, P S., Hata, T., Hozaima, L., Sanndhh, M S., Panagia, V., et Dhallia, N S., (2001). Role of oxidative stress in cathecolamine-induced changes in cardiac sarcolemmal Ca^{+2} transport.

Archives.Of. Biochemistry and Biophys; 387, P 85-92.

Tasinato, A., Boscoboinik, D., Bartoli, G. M., Maroni, P. and Azzi, A. (1995). α -Toc inhibition vascular smooth muscle cell proliferation occurs at physiological concentrations correlates with protein kinase C inhibition and independent of its antioxidant properties. *Proc.Natl. Acad. Sci. U.S.A.*92, 12190-12194.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Tavarez, MA., Boler, DD., Bess, KN., Zhao, J., Yan, F et Digler, AC. (2011).

Effect of antioxidant inclusion and oil quality performance meat quality and lipid oxidation.
Poult.Sci; 90, P 922-930.

Telci, A., Catakay, U., Kayali, R., Erdogan, C., Orhan, Y., Sivas, A et Akcay, T.

(2000). Oxidative protein damage in plams of type 2 diabetic patients.
Horm. Metab. Res; 32: P 40-43.

Temple BR. (2004). Vitamin toxicity.

In: Dart RC, editor. Medical toxicology. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins;
P1017–24.

Tian, N., Thrasher, KD., Gundy, PD., Hughson, MD et Manning, RD. (2005). Antioxidant treatment prevents renal damage and dysfunction and reduces arterial pressure in salt-sensitive hypertension.

Hypertension. 45 ; P 934-939.

Tirkey, N., Parkwai, S., Kuhad, A et Chopra, K. (2005). Hesperidin, a citrus bioflavonoid decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney.

BMC. Pharmacology; 5(2), P 1–21.

Tissier, M. (2011). Contribution à l'étude du stress oxydant chez le chien de cross canin.

Thèse Méd.Vét., Lyon.

Thannickal, V.J et Fanburg, B.L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling.

Am. J. Physiol. Lung.Cell. Mol.Physiol; 279, L1005-P 10-28.

Thomas, S.R., Neuzil, J et Stocker, R. (1996). Co-supplementation with coenzyme Q prevents the peroxidants effect of alphanatocopherol increase the resistance of LDL to transition metal dependant oxidation initiation.

Arterioscler. Thromb.Vas. Biol; 16, P 687–696.

Thompson, LU et Rae, A. (1983). Lipid changes in French fries and heated oils during commercial deep frying and their nutritional and toxicological implications.

J. Can. Inst. Food Sci. Tec; 16: P46-253.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Tocher, D R., Mourente, G., Van Der EECKEN, A., Evjemo, J O., Diaz, E., Bell, J G., Geurden I., Lavens, P et Olsen, Y. (2002). Effect of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L) and sea bream (*Sparus aurata* L).

Aquaculture Nutrition ; 8, P195-207.

Traverso, N., Menini, S., Cottalasso, D., Odetti, P., Marinari, UM et Pronzato, MA. (1997). Mutual interaction between glycation and oxidation during non-enzymatic protein modification.

Biochim.Biophys. Acta; 1336: P 409-418.

Tsien, RW., Bean, BP., Hess, P., Lansman, JB., Nilius, B et Nowycky, MC. (1986). Mechanisms of calcium channel modulation by beta-adrenergic agents and dihydropyridine calcium agonists.

J. Mol. Cell. Cardiol; 18: P 691-710.

Tsurudome, Y., Hirano, T., Hirata, K., Higure, A., Nagata, N et Takahashi, K. (2001). Age-associated increase of 8 hydroxydeoxyguanosine in human colorectal tissues DNA.

J. Gerontol. A.Biol. Sci. Med. Sci; 56:P 483-5.

Totani, N, Satoh, K., Tsuji, S et Yamaguchi, A. (2006). Effects of deteriorated frying oil in Wistar rats.

J. Oleo. Sci ; vol 55, N° 6, P 291- 297.

Totani, N, et Ojiri, Y., (2007). Mild ingestion of used frying oil damage hepatic and renal cells in Wistar rats.

J. Oleo.Sci; 56, P 261-267

Touafek, O. (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algérien.

Thèse de doctorat. Université de Constantine. P 9-12-76.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Tovar, A., Ameho, C.K., Blumberg, J.B., Peterson, J.W.D Smith et Booth, S.L. (2006). Extrahepatic tissue concentrations of vitamin K are lower in rats fed a high vitamin E diet.

Nutr.Metab. (Lond); 3: 29.

Twaroski, T.P., Obrien, M.L., Larmonier, N., Glauret, H.P et Robertson, L.W. (2001). Polychlorinated biphenyls-induced effects of metabolic enzymes, AP-1 binding, vitamin E, and oxidative stress in the rat liver.

Toxicol. Appl. Pharmacol ; 171(2), P 85–93.

Townsend, D.M et Tew, K.D. (2003). The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene*; 22 (47), P 7369–7375.

Tukhtaev, K R., Tulemetov, N B., Zokirova, N K., Yarieva, OO., et Otajonova, A N. (2013). Prolonged exposure of low doses of fipronil causes oxidative stress in pregnant rats and their of spring.

Int. J. Toxicol; 10, P 1-11.

Tuo, J., Muftuoglu, M., Chen, C., Jaruga, P., Selzer, R.R., Brosh, R.M. Jr, Rodriguez, H., Dizdaroglu, Metbohr, VA. (2001). The Cockayne Syndrome group B gene product is involved in general genome base excision repair of 8-hydroxyguanine in DNA.

J. Biol. Chem; 276, P 45772-45779.

Uchida, K., Shiraishi, M., Naito, Y., Torii, Y., Nakamura, Y et Osawa, T. (1999). Activation of stress signaling pathways by the end product of lipid peroxidation.4-hydroxy-2-nonenal is a potential inducer of intracellular peroxide production.

J. Biol. Chem; 274, P 2234-42.

Üner, N., Özcan, Oruç, E., Canl, M et Sevgiler, Y. (2001). Effect of cypermethrin on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in liver and kidney of the fresh water fish, *Oreochromis niloticus* and *Cyprinus carpio* (L.).

Bull. Environ. Contam. Toxicol.; 67: P 657-664.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Upston, J.M., Terentis, A.C et Stocker, R. (1999). Tocopherol mediated peroxidation (TMP) of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential anti-atherogenic supplement. *FASEB J*; 13: P 977-994.

Urban, Th., Hurbain, I., Clement, A., et Housset, B. (1995). Oxydants et antioxydants : effets biologiques et perspectives thérapeutiques—
Ann. Chi ; 49, N° 5, P 427-434.

Uzzan, A. (1992). Olive et huile d'olive. In : Manuel des corps gras.
Edition : Tec & Doc, Lavoisier, Paris. P 221-228

Valavanidis, A., Vlachogianni, T et Fiotakis, K. (2009). Tobacco smoke: involvement of reactive oxygen species and stable free radicals in mechanisms of oxidative damage, carcinogenesis and synergistic effects with other respirable particles.

Int. J. Environ.Res. Public.Health; 6, P 445 -462.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M et Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.

Chem.Biol. Interact; 10, P 1- 40.

Vankatanarayana, G., Sudhakara, G., Sivajyothi et Petindira, P. (2012). Protective effect of curcuma and vit E on carbo-tetrachloride induced nephrotoxicity in rats.

Excl. J ; 11, P 641–650.

VanPoucke, S., Wattel, F et Mathieu, D. (2002). Syndrome d'ischémie-reperfusion influence de l'oxygénothérapie hyperbare : un étonnant paradoxe. In : *Traité de médecine hyperbare*, Ellipses Edition Paris (France) ; P 100-112.

Vargas, F.D., Soares, D.G., Ribeiro, A.P., Hebling, J et Desouza-Costa, C.A. (2014). Protective effect of alpha tocopherol isomer from Vit E against the H₂O induced toxicity on dental pulp cells.

Biomed.Research. International; P 1–5.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Venkata, PR et Subramanyam, R. (2016). Evaluation of the deleterious effects of consumption of repeatedly heated vegetable oil.

Toxicology Reports; 3, P 636 – 643.

Vertuani, S., Angusti, A et Manfredini, S. (2004). The Antioxidants and pro-antioxidants Network: An Overview.

Curr. Pharm.; 10: P 1677-1694.

Vidau, RA., Gonzalez-Polo, M., Niso-Santano, R., Gomez-Sanchez, JM., Bravo, SP., Pizzaro, R., Blasen, J et Brunet, LP. (2011). Oxidative phosphorylation that triggers apoptosis in human neuronal cell line SHSY5Y.

Neurotoxicology; 32, P 935- 943.

Vidrih, R., Vidakovic, S et Abramovic, H. (2010). Biochemical parameters and oxidative resistance to thermal treatment of refined and unrefined vegetable Edible oils.

Czech. J. Food. Sci; vol, 28 (5) P 376- 384.

Vilas, J. (1994). Contribution à l'étude des composés volatils au cours de l'oxydation thermique des matières grasses.

Revue Française Des Corps Gras ; 6, P 155-157.

Visconti, R et Grieco, D. (2009). New insights on oxidative stress in cancer.

Curr.Opin. Drug Discov.Devel; 12, P 240–245.

Wahba, M.A. et Ibrahim, T.A. (2013). Protective effect of flaxseed oil and vit E on potassium bromate induced oxidative stress in rats.

Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci; 2 (9), P 399–309.

Wakatsuki, A., Okatani, Y., Izumiya, C et Ikenoue, N. (1999). Effect of ischemia-reperfusion on xanthine oxidase activity in fetal rat brain capillaries.

Am. J. Obst et. Gynecol; 181: P 731-735.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Wakatsuki, A., Okatani, Y, Ikenoue, N., Izumiya, C et Kaneda, C. (2000). Melatonin inhibits oxidative modification of low-density lipoprotein particles in normolipidemic postmenopausal women.

J. Pineal. Res; 28: P 136-142.

Wallace, W.J., Houtchens, R.A., Maxwell, J.C et Caughey, W.S. (2010). Mechanism of auto-oxidation for hemoglobins and myoglobins. Promotion of superoxide production by protons and anions.

J. Biol Chem; 10, P 4966-4977.

Wang, H., Chen, X., Su, Y., Paueksakon, P., Zhang, M.G., Harris, R.C., Blackwell, T.S., Zent, R. et Pozzi, A. (2015). P47phox contribute to albuminuria and kidney fibrosis in mice. Kidney. Int; 87, P 948–962.

Waring, W.S., Convery, A., Mishra, V., Shenkin, A., Webb, D.J et Maxwell, S.R. (2003). Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults.

Clin. Sci; 105(4): P 425-430.

Werner, E. (2004). GTPases and reactive oxygen species: switches for killing and signaling.

J. Cell. Sci; 117: P 143-153.

Witzum, J et Steinberg, D. (1991). Role of oxidized low-density lipoprotein in atherogenesis.

J. Clin. Invest; 88(1) : P 785–1792.

Wu, J.A. (1993). Advanced glycosylation end products: a new disease marker for diabetes and aging.

J. Clin. Lab. Anal ;7(5) : P 252–255.

Xia, Y., Tsai, A.L., Berka, V et Zweier, J.L. (1998). Superoxide generation from endothelial nitric-oxide synthase. A Ca²⁺/calmodulin-dependent and tetrahydrobiopterin regulatory process.

Biol. Chem. 273 (40): P 25804-8.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Yang, N et Dessai, A, (1977). Effect of high levels of dietary Vit E on hematological indices and biochemical parameters in rats.

J. Nut ; 107, P 1410-1417.

Yazar, E., Konyalioglu, S., Osmanbirdane, Y., Levent, B.A. et Elmas, M. (2004). Effect of Vit E and prednisolone on some oxidative stress markers in endotoxemic rabbits.

Revue. Med.Vet ; 155(11), P 538–542.

Yin, X., Wu, H et Kang, YJ. (1988). Induction of antioxidants by adriamycin in mouse heart. Biochem.Pharmacol;56, P 87-93.

Yoshikawa, T et Naito, Y. (2002). What Is Oxidative Stress?

JMA.J; 45(7): P 271–276.

Yuan, S., Chen, D., Zhang, K et Yu, B. (2007). Effects of oxidative stress on growth performance, nutrient digestibilities and activities of antioxidative enzymes of weanling pigs.

Asian-Aust. J. Anim.Sci; 20, P 1600-1605.

Zahmatkesh, M., kadhodae, M., Arab, HA et Shams, S. (2006). Effects of co-administration of an iNOS inhibitor with a broad-spectrum reactive species scavenger in rat renal ischemia/reperfusion injury.

Nephron.Exp. Nephrol; 103, P 119-25.

Zeb, A et Murkovic, M. (2011). Carotenoids and triacylglycerols oxidation during thermal oxidation of refined olive oil.

Food.Chem; 127, P 1584–1593.

Zeb, A et Murkovic, M. (2013). Pro-Oxidant Effects of b-Carotene during Thermal Oxidation of Edible Oils.

J. Am. Oil. Chem. Soc; (2013) 90, P 881–889.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Zeb, A et Murkovic, M (2010). Characterization of the effects of b-carotene on the thermal oxidation of triacylglycerols using HPLC–ESI–MS.

Eur. J. Lipid. Sci. Technol ; 112, P844–851.

Zdunz, Z., Juskiewicz, J., Dlugoszewska, M., Frejnagel, S et Koncicki, A. (2000). The response of rats to long term feeding with diets containing oxidized fat. Thermooxidative changes of fat, body weight gain, feed consumption and utilization of diets.

J. Anim. Feed.Sci; 9, P 139-148.

Zelko, IN., Marian, TJ et Folz, RJ. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a structures, evolution, and expression.

Free. Rad. Biol & Med; 33, P 337-349.

Zhang, K et Kaufman, RJ. (2008) From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response.

Nature ; 454 : 455–62.

Zouari, N., F., Elgharbi, N., Fakhfakh, A. B., Bacha, Y., Gargouri et N. Miled (2010). Effect of dietary vitamin E supplementation on lipid and color stability of chicken thigh meat. African J. Biotech., 9, P 2276-2283

Zuta, PC., Simpson, BK., Zhao, X et Leclerc, L. (2007). The effect of α -tocopherol on the oxidation of mackerel oil.

Food Chem., 100 :P 800–880.

ANNEXE

Body weight

	<i>Témoin</i>	<i>OSO</i>	<i>OSOE1</i>	<i>OSOE2</i>
	344,50	293,00	308,50	310,00
	368,50	290,00	330,00	315,00
	315,50	295,00	335,00	300,00
	338,50	294,00	335,50	330,50
	326,00	280,00	331,30	320,00
Moy	338,6±9,0	290,4± 2,7	328,1 ±5,0	315,1± 5,1

Kidney weight

	<i>Témoin</i>	<i>OSO</i>	<i>OSOE1</i>	<i>OSOE2</i>
<i>Kidney weight</i>	2.07±0.11	1.99±0.08	2.05±0.05	2.03±0.08

α-Tocopherol

	<i>Témoin</i>	<i>OSO</i>	<i>OSOE1</i>	<i>OSOE2</i>
<i>Vit E</i>	13.6±0.6	6.5±0.4	10.8±0.2	6.0±0.3

Enzymatic activities

	<i>Témoin</i>	<i>OSO</i>	<i>OSOE1</i>	<i>OSOE2</i>
<i>SOD</i>	<i>7.51±0.26</i>	<i>5.37±0.25</i>	<i>8.37±0.24</i>	<i>5.50±0.19</i>
<i>CAT</i>	<i>85.2±1.7</i>	<i>65.3±1.5</i>	<i>74.6±2.6</i>	<i>65.4±3.9</i>
<i>GPx</i>	<i>3.48±0.18</i>	<i>2.06±0.14</i>	<i>3.49±0.13</i>	<i>2.33±0.17</i>
<i>GRD</i>	<i>0.58±0.02</i>	<i>0.48±0.01</i>	<i>0.54±0.01</i>	<i>0.46±0.01</i>
<i>G6P</i>	<i>2.49±0.18</i>	<i>1.13±0.12</i>	<i>2.46±0.09</i>	<i>1.17±0.11</i>
<i>TBARS</i>	<i>31.3±0.9</i>	<i>53.8±1.2</i>	<i>33.2±3.1</i>	<i>54.86±0.01</i>

Body weight

Sample; Weighted Means (Fichier.sta) Current effect: F(3, 16)=12,402, p=,00019 Effective hypothesis decomposition						
Cell No.	Sample	Body_Weight Mean	Body_Weight Std.Err.	Body_Weight -95,00%	Body_Weight +95,00%	N
1	Control	338,600	9,003333	313,6027	363,5973	5
2	OSO	290,400	2,731300	282,8167	297,9833	5
3	OSOE ₁	328,060	5,001860	314,1726	341,9474	5
4	OSOE ₂	315,100	5,075431	301,0083	329,1917	5

Dunnett test; variable Body_Weight Probabilities for Post Hoc Tests (M<Control) Error: Between MS = 174,12, df = 16,000		
Cell No.	Sample	{1} 338,60
1	Control	
2	OSO	0,000059
3	OSOE ₁	0,238062
4	OSOE ₂	0,016107

Dunnett test; variable Body_Weight Probabilities for Post Hoc Tests (2-sided Error: Between MS = 174,12, df = 16,000)		
Cell No.	Sample	{1} 338,60
1	Control	
2	OSO	0,000087
3	OSOE ₁	0,466294
4	OSOE ₂	0,032191

Kidney weight

Univariate Tests of Significance for Kid_Wnew (Fichier Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	82,90592	1	82,90592	2503,009	0,000000
Sample	0,01652	3	0,00551	0,166	0,917558
Error	0,52996	16	0,03312		

Sample; Weighted Means (Fichier.sta) Current effect: F(3, 16)=,16625, p=,91756 Effective hypothesis decomposition				
Cell No.	Sample	Kid_Wnew Mean	Kid_Wnew Std.Err.	Kid_Wnew -95,00%
1	Control	2,070000	0,111355	1,760828
2	OSO	1,992000	0,076315	1,780115
3	OSOE ₁	2,050000	0,050000	1,911178
4	OSOE ₂	2,032000	0,075987	1,821027

Dunnett test; variable Kid_Wnew (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (2-sided) Error: Between MS = ,03312, df = 16,000			
Cell No.	Sample	{1}	
		2,0700	
1	Contro		
2	OSO	0,838148	
3	OSOE ₁	0,996166	
4	OSOE ₂	0,975398	

Dunnett test; variable Kid_Wnew (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M>Control) Error: Between MS = ,03312, df = 16,000			
Cell No.	Sample	{1}	
		2,0700	
1	Contro		
2	OSO	0,923482	
3	OSOE ₁	0,807878	
4	OSOE ₂	0,852047	

Dunnett test; variable Kid_Wnew (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M<Control) Error: Between MS = ,03312, df = 16,000			
Cell No.	Sample	{1}	
		2,0700	
1	Contro		
2	OSO	0,466294	
3	OSOE ₁	0,683859	
4	OSOE ₂	0,618882	

α -Tocopherol

Univariate Tests of Significance for Vit_Enew (Fichier.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis is decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1700,168	1	1700,168	2249,063	0,000000
Sample	198,420	3	66,140	87,493	0,000000
Error	12,095	16	0,756		

Sample; Weighted Means (Fichier.sta) Current effect: F(3, 16)=87,493, p=,00000 Effective hypothesis is decomposition					
Cell No.	Sample	Vit_Enew Mean	Vit_Enew Std.Err.	Vit_Enew -95,00%	Vit_Enew +95,00%
1	Contro	13,62200	0,560164	12,06673	15,17727
2	OSO	6,52000	0,404228	5,39768	7,64232
3	OSOE ₁	10,77400	0,206097	10,20178	11,34622
4	OSOE ₂	5,96400	0,291712	5,15408	6,77392

Dunnett test; variable Vit_Enew (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (2-sided) Error: Between MS = ,75595, df = 16,000		
Cell No.	Sample	{1} 13,622
1	Control	
2	OSO	0,000007
3	OSOE ₁	0,000264
4	OSOE ₂	0,000007

Dunnett test; variable Vit_Enew (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M>Control) Error: Between MS = ,75595, df = 16,000		
Cell No.	Sample	{1} 13,622
1	Control	
2	OSO	0,999981
3	OSOE ₁	0,999980
4	OSOE ₂	0,999981

Dunnett test; variable Vit_Enew (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M<Control) Error: Between MS = ,75595, df = 16,000		
Cell No.	Sample	{1} 13,622
1	Control	
2	OSO	0,000020
3	OSOE ₁	0,000146
4	OSOE ₂	0,000020

TBARS

Univariate Tests of Significance for TBA (Fichier.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	22500,41	1	22500,41	2531,979	0,000000
Sample	1471,41	3	490,47	55,193	0,000011
Error	71,09	8	8,89		

Sample; Weighted Means (Fichier.sta) Current effect: F(3, 8)=55,193, p=,00001 Effective hypothesis decomposition						
Cell No.	Sample	TBA Mean	TBA Std.Err.	TBA -95,00%	TBA +95,00%	N
1	Control	31,30000	0,907377	27,39587	35,20413	3
2	OSO	53,83333	1,177870	48,76537	58,90130	3
3	OSOE ₁	33,21000	3,104497	19,85243	46,56757	3
4	OSOE ₂	54,86333	0,006667	54,83465	54,89202	3

Dunnnett test; variable TBA (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (2-sided) Error: Between MS = 8,8865, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
		31,300	
1	Control		
2	OSO	0,000049	
3	OSOE ₁	0,777259	
4	OSOE ₂	0,000038	

Dunnnett test; variable TBA (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M>Control) Error: Between MS = 8,8865, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
		31,300	
1	Control		
2	OSO	0,000042	
3	OSOE ₁	0,426140	
4	OSOE ₂	0,000037	

Dunnnett test; variable TBA (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M<Control) Error: Between MS = 8,8865, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
		31,300	
1	Control		
2	OSO	0,999981	
3	OSOE ₁	0,934967	
4	OSOE ₂	0,999981	

CAT

Univariate Tests of Significance for CAT (Fichier.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	63315,93	1	63315,93	3142,078	0,000000
Sample	808,76	3	269,59	13,378	0,001748
Error	161,21	8	20,15		

Sample; Weighted Means (Fichier.sta) Current effect: F(3, 8)=13,378, p=,00175 Effective hypothesis decomposition						
Cell No.	Sample	CAT Mean	CAT Std.Err.	CAT -95,00%	CAT +95,00%	N
1	Control	85,24667	1,696175	77,94861	92,54472	3
2	OSO	65,28000	1,537953	58,66272	71,89728	3
3	OSOE ₁	74,63333	2,592742	63,47766	85,78900	3
4	OSOE ₂	65,39333	3,860485	48,78301	82,00366	3

Dunnett test; variable CAT (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (2-sided) Error: Between MS = 20,151, df = 8,0000		
Cell No.	Sample	{1} 85,247
1	Control	
2	OSO	0,001598
3	OSOE ₁	0,048837
4	OSOE ₂	0,001657

Dunnett test; variable CAT (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M>Control) Error: Between MS = 20,151, df = 8,0000		
Cell No.	Sample	{1} 85,247
1	Control	
2	OSO	0,999964
3	OSOE ₁	0,999115
4	OSOE ₂	0,999964

Dunnett test; variable CAT (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M<Control) Error: Between MS = 20,151, df = 8,0000		
Cell No.	Sample	{1} 85,247
1	Control	
2	OSO	0,000815
3	OSOE ₁	0,024510
4	OSOE ₂	0,000844

SOD

Univariate Tests of Significance for SOD (Fichier.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	536,8056	1	536,8056	3232,795	0,000000
Sample	19,9910	3	6,6637	40,130	0,000036
Error	1,3284	8	0,1660		

Sample; Weighted Means (Fichier.sta) Current effect: F(3, 8)=40,130, p=,00004 Effective hypothesis decomposition						
Cell No.	Sample	SOD Mean	SOD Std.Err.	SOD -95,00%	SOD +95,00%	N
1	Control	7,510000	0,255147	6,412191	8,607809	3
2	OSO	5,373333	0,247409	4,308819	6,437847	3
3	OSOE ₁	8,373333	0,244563	7,321063	9,425603	3
4	OSOE ₂	5,496667	0,187824	4,688526	6,304807	3

Dunnett test; variable SOD (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (2-sided) Error: Between MS = ,16605, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
		7,5100	
1	Control		
2	OSO	0,000546	
3	OSOE ₁	0,076328	
4	OSOE ₂	0,000809	

Dunnett test; variable SOD (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M>Control) Error: Between MS = ,16605, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
		7,5100	
1	Control		
2	OSO	0,999977	
3	OSOE ₁	0,038345	
4	OSOE ₂	0,999975	

Dunnett test; variable SOD (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M<Control) Error: Between MS = ,16605, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
		7,5100	
1	Control		
2	OSO	0,000289	
3	OSOE ₁	0,998430	
4	OSOE ₂	0,000421	

Univariate Tests of Significance for GPx (Fichier.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	96,78720	1	96,78720	1295,101	0,000000
Sample	5,10713	3	1,70238	22,779	0,000284
Error	0,59787	8	0,07473		

Sample; Weighted Means (Fichier.sta) Current effect: F(3, 8)=22,779, p=,00028 Effective hypothesis decomposition						
Cell No.	Sample	GPx Mean	GPx Std.Err.	GPx -95,00%	GPx +95,00%	N
1	Control	3,483333	0,183333	2,694514	4,272153	3
2	OSO	2,056667	0,142634	1,442962	2,670371	3
3	OSOE ₁	3,486667	0,133832	2,910832	4,062501	3
4	OSOE ₂	2,333333	0,166667	1,616225	3,050442	3

Dunnett test; variable GPx (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (2-sided) Error: Between MS = ,07473, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
		3,4833	
1	Control		
2	OSO	0,000563	
3	OSOE ₁	0,999999	
4	OSOE ₂	0,002271	

Dunnett test; variable GPx (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M>Control) Error: Between MS = ,07473, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
		3,4833	
1	Control		
2	OSO	0,999977	
3	OSOE ₁	0,744685	
4	OSOE ₂	0,999957	

Dunnett test; variable GPx (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M<Control) Error: Between MS = ,07473, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
		3,4833	
1	Control		
2	OSO	0,000298	
3	OSOE ₁	0,755219	
4	OSOE ₂	0,001151	

Univariate Tests of Significance for G6P (Fichier.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	39,42188	1	39,42188	791,3391	0,000000
Sample	5,27129	3	1,75710	35,2713	0,000058
Error	0,39853	8	0,04982		

Sample; Weighted Means (Fichier.sta) Current effect: F(3, 8)=35,271, p=,00006 Effective hypothesis decomposition						
Cell No.	Sample	G6P Mean	G6P Std.Err.	G6P -95,00%	G6P +95,00%	N
1	Control	2,493333	0,179010	1,723117	3,263550	3
2	OSO	1,130000	0,120139	0,613084	1,646916	3
3	OSOE ₁	2,456667	0,086667	2,083770	2,829563	3
4	OSOE ₂	1,170000	0,111505	0,690233	1,649767	3

Dunnett test; variable G6P (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (2-sided) Error: Between MS = ,04982, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
1	Control	2,4933	
2	OSO	0,000196	
3	OSOE ₁	0,993910	
4	OSOE ₂	0,000239	

Dunnett test; variable G6P (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M>Control) Error: Between MS = ,04982, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
1	Control	2,4933	
2	OSO	0,999980	
3	OSOE ₁	0,815065	
4	OSOE ₂	0,999979	

Dunnett test; variable G6P (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M<Control) Error: Between MS = ,04982, df = 8,0000			
Cell No.	Sample	{1}	
1	Control	2,4933	
2	OSO	0,000115	
3	OSOE ₁	0,673917	
4	OSOE ₂	0,000137	

Univariate Tests of Significance for GRD (Fichier.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3,18270C	1	3,18270C	5786,727	0,00000C
Sample	0,02730C	3	0,00910C	16,545	0,000861
Error	0,00440C	8	0,00055C		

Sample; Weighted Means (Fichier.sta) Current effect: F(3, 8)=16,545, p=,00086 Effective hypothesis decomposition						
Cell No.	Sample	GRD Mean	GRD Std.Err.	GRD -95,00%	GRD +95,00%	N
1	Contro	0,58000C	0,023094	0,480634	0,679366	3
2	OSO	0,48000C	0,005774	0,455159	0,504841	3
3	OSOE ₁	0,54000C	0,011547	0,490317	0,589683	3
4	OSOE ₂	0,46000C	0,005774	0,435159	0,484841	3

Dunnett test; variable GRD (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (2-sided) Error: Between MS = ,00055, df = 8,0000		
Cell No.	Sample	{1} ,58000
1	Contro	
2	OSO	0,002087
3	OSOE ₁	0,160847
4	OSOE ₂	0,000642

Dunnett test; variable GRD (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M>Control) Error: Between MS = ,00055, df = 8,0000		
Cell No.	Sample	{1} ,58000
1	Contro	
2	OSO	0,999959
3	OSOE ₁	0,995707
4	OSOE ₂	0,999976

Dunnett test; variable GRD (Fichier.sta) Probabilities for Post Hoc Tests (M<Control) Error: Between MS = ,00055, df = 8,0000		
Cell No.	Sample	{1} ,58000
1	Contro	
2	OSO	0,001059
3	OSOE ₁	0,081091
4	OSOE ₂	0,000337

PUBLICATIONS

- 1. Pro-oxidant effects of a high α -tocopherol dose on kidney antioxidant biomarkers and histopathological aspects.***

Amel Kanane Fayrouz Rouaki Mohamed Brahim Errahmani Nouri Laraba

Ali Ammouche

- 2. Cardiotoxicity induced by dietary oxidized sunflower oil in rats : pro-and antioxidant effects of α -tocopherol.***

Fayrouz Rouaki Azzedine Mazari Amel Kanane Mohamed Brahim Errahmani

Ali Ammouche

- 3. Modifications biochimiques et histologiques du foie de rat soumis a un régime contenant une huile oxydée et supplémenté en vitamine E.***

Fayrouz Rouaki et Amel Kanane