

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE
LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIE ENVIRONNEMENT ET SANTE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES



**En vue de l'obtention du diplôme de Master
EN SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES
Option : BIOCHIMIE**



Thème

**Influence de la supplémentation de doses croissantes
en alpha-tocophérol sur quelques paramètres
biochimiques du stress et l'histologie du tissu
hépatique chez des rats Wistar.**

Présenté par : Hamouda Abdelouahab Koudri Fatma Massied Fatma Zahra

Soutenu le: 24 septembre 2020

Membres de jury :

Mme Touaibia M .
Mme Tobal Seghir S.
Mme Rouaki F.

Maitre de Conférences "A"
Maitre de Conférences "B"
Maitre de Conférences "B"

USDB1 Présidente
USDB1 Examinatrice
USDB1 Promotrice

Année Universitaire : 2019 / 2020

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à mes très chers parents, ma raison de vivre et ma source de courage ceux qui m'ont élevé et inculqué en moi les bonnes valeurs de la vie.

À mon père Abdelkrim pour sa patience, sa confiance et son respect de mes choix rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être je vous offre toutes mes années d'étude ainsi que mon diplôme.

À ma très chère mère Zhor la plus belle mère dans la vie je t'adore à la folie la flamme de mon cœur ma source d'espoir pour sa patience, son soutien, son amour et toute son assistance durant tant d'années

Tous les mots ne suffisent pour leur exprimer mon amour et ma gratitude, je leur souhaite longue vie, santé, tranquillité, et bonheur inchaa allah.

À ma seule sœur Karima la prunelle de mes yeux pour je te souhaite de réussir brillamment dans ta vie privée et le bonheur.

À mes frères Ayoub Fouad et Zineddine mon support et ma source de sécurité et leurs épouses pour leurs soutiens et encouragement qu'Allah vous protéger et donner tous ce que vous souhaitez

À mes petites princesses Qatr Ennada et Hadil

À mes grands parents pour leurs prières et encouragements merci infiniment

À toute la famille Hamouda de près ou de loin

À mes amis intimes Amine et Sidali mes amis d'âmes vous êtes les meilleurs merci

À mes associés dans ce travail mon trinôme mes amies et plus Fatma et Fatma Zohra j'étais vraiment chanceux car j'avais l'opportunité de travailler avec vous deux c'était vraiment des moments inoubliables et parmi les plus belles souvenirs dans ma vie, vous deux sont les princesses de joie et les pierres qui rend la couronne belle merci beaucoup.

À tous mes camarades de promos et mes amis d'université mes collègues j'ai tous le respect et la fidélité pour vous.

H. Abdelouahab



Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects

À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et Source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, mon père

NOUREDDINE

Et

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore FATIMA, je remercie de m'avoir donné tant d'amour et de tendresse. « Je suis très fier d'être votre fille ».

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

À ma grand-mère HDJILA :

La prunelle de mes yeux, Muma tu es partie mais tu es toujours présent dans nos cœurs. Je prie le bon Dieu de veiller sur toi, en espérant que tu seras toujours fier de moi.

À mes chers frères que Dieu les bénéfices:

MOHAMED, ABDO, MADJID Pour ses soutien et ses encouragements, je lui témoigne mon grand respect.

Mes Trois étoiles qui me donner de la force et éclaire mon chemin : mes trois sœurs MANEL et RIHEB Spécialement à ma cher sœur NAFISSA et son époux BILÉL pour son aide et son encouragement. Sans oublier mes neveux MONDHIR et AYMEN.

À tout personne de famille KOUIDRI et BOUYOUSFI

Mon amie WAHAB et Ma sœur ZOLA et leurs familles : les belles paroles sont faciles à dire, mais des personnes comme vous sont difficiles a trouvé, merci pour vos patiences pour vos compréhensive et vous méritez tout le bonheur et l'amour du monde

À tous mes proches, À tous ceux qui m'aiment. Mes amis et mes collègues de promotion Ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.

Fatma. le

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

À mon très cher, **mon père ABD RAZAK** : Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail, de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Tu m'as aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

À celle qui m'a donné la vie, la prunelle de mes yeux ma mère **LILA** : Tu m'as comblé avec t'affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. Tu as guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études je t'aime plus que tout. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

À ma chère sœur **LOBNA** : A tous les moments d'enfance passés avec toi ma sœur. Puisse nos liens sororaux se consolider et se pérenniser encore plus. que dieu te protège et t'offre la chance et le bonheur.

À ma chérie **MERJEM** : En souvenir des bons moments, de tous ce qu'on a vécu ensemble. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et la réussite dans tes études.

À ma douce **RANIA** : En témoignage de ma profonde tendresse et reconnaissance, je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, te protège et te garde, je t'aime ma belle.

À mon ange **MOHAMED** : Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour toi, ta joie et ta gaieté me comblent de bonheur. Puisse Dieu te garder, éclairer ta route et t'aider à réaliser à ton tour tes vœux les plus chers.

À ma belle **RACHIDA** : Avoir une nièce est le plus beau cadeau. Tu as apporté beaucoup de bonheur à notre famille.

À mon grand père **BOUALAM**, ma grand mère **HAMIDA** et ma grande mère **YAMINA** : Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve longue vie, beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.

À mon trinôme **ABD ELWAHAB** et **FATMA** : vous êtes pour moi un frère et une sœur sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À toute ma famille .A tous mes amis chacun par son nom.

À tous ceux que j'aime. Qui m'aiment.

À tous que j'ai omis de citer.

FATMA ZOHR

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Allah le tout Puissant de nous avoir donné le courage et la persistance de poursuivre nos études, et la force pour mener à bien ce travail.

Nous voudrions remercier très chaleureusement Mme la présidente du jury Dr Touaibia M., maître de conférences "A" à l'université de Blida 1 pour le grand honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider ce jury.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à notre promotrice Mme Rouaki F, maître de conférences "B" à l'université de Blida 1 pour nous avoir dirigé et guidé tout le long de ce travail. Ses conseils et ses remarques constructifs étaient très bénéfiques pour nous, nous le remercions également pour son soutien permanent, sa bonté et sa disponibilité.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à Mme Tobal Seghir S., maître de conférences "B" à l'université de Blida 1, pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner à fin qu'il soit enrichi.

Nous tenons à exprimer nos remerciements au Dr Boudour H. Médecin pathologiste au niveau de l'hôpital Fares Yahia (Koléa/Tipaza) pour son aide lors de la lecture des lames histologiques. Nous remercions également Mme Amroussi M. chef de service au laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Fares Yahia (Koléa/Tipaza) ainsi qu'un grand Merci à toute l'équipe du laboratoire.

Nos remerciements vont également à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation et à notre encadrement tout au long de notre cursus.

Enfin, nous remercions les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Résumé

Cette étude a pour objectif d'étudier l'impact de la supplémentation de l'alpha-tocophérol (α -T) à doses différents (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 et 1000 mg/kg d'aliment), d'une part sur les paramètres pondéraux (la variation du taux d'évolution du poids corporel et la variation du poids du tissu hépatique), et d'autre part sur l'histologie du tissu hépatique des rats de souche Wistar.

Au terme de cette étude, les principaux résultats obtenus montrent aucune variation du taux d'évolution de la croissance chez les lots traités avec des doses de 500 à 700 mg d' α -T/kg d'aliments, cela montre qu'il n'y a eu aucun effet sur la croissance des rats, par contre une baisse significative pour les lots traités avec les doses 750 à 900 mg d' α -T/kg d'aliments et une baisse hautement significative pour les lots traités par 950 et 1000 mg d' α -T/kg d'aliments, suggère que l' α -T à affecter la croissance des rats concernant ces doses.

Concernant l'évolution du poids hépatique aucune variation significative n'a été obtenue, cela signifie que les différentes doses d' α -T n'ont eu aucun effet sur ce paramètre.

L'étude histologique du foie montre une architecture normale pour les lots RS à RSE650 ce qui laisse supposé l'effet antioxydant de l' α -T vis-à-vis du stress oxydatif pour ces doses. En revanche, l' α -T a eu un effet néfaste, c'est à dire prooxydant aux dose 700 à 1000 mg d' α -T/kg d'aliment, traduit par une architecture désorganisée marqué par des congestions et des dilatations de la veine centro-lobulaire.

En finalité, nous pouvons conclure que la dose 700 mg d' α -T/kg d'aliment est la dose à laquelle l'effet de l' α -T bascule de l'effet antioxydant à l'effet prooxydant.

Mot clés: alpha tocophérol, antioxydant, prooxydant, rat, foie.

المخلص

يهدف هذا العمل لإيجاد تأثير جرعات مختلفة من الالفاتوكوفيرول (500-600-650-700-750-800-850-900 - 950 - 1000 مغ \ α -T كغمنالغذاء) على تطور الوزن الإجمالي و كتلة الكبد أولا و كذلك الفحص النسيجي لكبد الجرذ Wistar ، بعد 12 أسبوعا من المعالجة.

بعد هذه الفترة التجريبية، أظهرت النتائج المتحصل عليها:

بالنسبة لتطور الوزن الإجمالي لم نلاحظ أي اختلاف في تطور الوزن الإجمالي بالنسبة للجرعات 500 حتى 700 مغ α -T / كغ من الغذاء موحيا بعدم تأثر الكتلة بهذه الجرعات، بالنسبة للجرعات 750-900 مغ α -T / كغ من الغذاء لاحظنا تناقصا شديدا في تطور الكتلة، و تناقصا شديدا جدا في تطور الوزن الإجمالي في كل من الجرعات 950-1000 مغ α -T / كغ من الغذاء مشيرا للأثر السلبي للفيتامين في هذه النسب.

بالنسبة لتطور وزن الكبد لاحظنا عدم تأثر الكتلة بالنسبة لجميع الجرعات مظهرا عدم تأثير هذه الجرعة على تطور وزن الكبد.

بالنسبة للمقاطع النسيجية لاحظنا بنية منظمة بالنسبة للجرعات 500-600-650 مغ α -T / كغمنالغذاء تشير النتائج للدور الفعال للالفاتوكوفيرول كمضاد أكسدة، بالنسبة للجرعات من 700 حتى 800 مغ α -T / كغ من الغذاء تظهر المقاطع النسيجية بنية مهتزة، بعض التمديدات في الشرايين و بعض الاحتقانات، أما بالنسبة للجرع من 850 حتى 1000 مغ α -T \ كغ من الغذاء أظهرت المقاطع النسيجية بنية مهتزة جدا مع احتقانات كبيرة و توسع كبير في الشرايين على ضوء النتائج الأخيرة تم إثبات أن الالفاتوكوفيرول قام بدور دافع للأكسدة بدل مضاد أكسدة .

نستطيع في الأخير الاستنتاج أن الجرعة 700 مغ α -T / كغ من الغذاء كانت الجرعة التي انقلب فيه دور الألفا توكوفيرول من مضاد أكسدة إلى دافع للأكسدة

الكلمات المفتاحية : ألفاتوكوفيرول، مضاد للأكسدة، دافع للأكسدة، كبد، جرذ.

Abstract

The objective of this study is to find the impact and the influence of supplementation with alpha-tocopherol (α -T) of different doses (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 and 1000 mg / kg of food), firstly on the weight parameters (the variation in the rate of change in body weight and the variation in the weight of the hepatic tissue) also on the histology of the hepatic tissue of the rats of Wistar strain.

The results obtained during our work show that:

The main results obtained any different variation in the rate of development of growth in the batches treated with doses of 500 to 700 mg of α -T / kg of food, this shows that there was no effect on the growth of the rats which means that α -T act his role as an antioxidant protecting the organism against oxidative stress, on the other hand a significant decrease for the batches treated with the doses 750 to 900 mg of α -T / kg of food and a highly significant decrease for the batches treated with 950 and 1000 mg of α -T / kg of food, suggests that α -T affected the growth of rats at these doses.

Regarding the change in hepatic weight, no significant variation was obtained, which means that the different doses of α -T had no effect on this parameter.

Histological study of the liver shows a normal architecture for the RS to RSE650 lots, which suggests the antioxidant effect of α -T against oxidative stress for these doses. On the other hand, α -T had a detrimental effect, i.e. prooxidizing at doses of 700 to 1000 mg of α -T / kg of food, reflected by a disorganized architecture marked by congestions and dilations of the centrilobularvein therefore we conclude that the high-dose α -T hasn't act like an antioxidant but like a prooxidant leading to the appearance and the existence of severe oxidative stress.

Finally, we can conclude that the dose of 700 mg of α -T / kg of food is the dose at which the effect of α -T switches from the antioxidant effect to the prooxidant effect.

Keywords: oxidative stress, rat, antioxidant, pro-oxidant, alpha tocopherol, liver.

Liste d'abréviation

Abréviation	Désignation
AND	Acide Désoxyribonucléique
AGPI	Acides Gras Polyinsaturés
Asc	Ascorbate.
BHT	Butyle-hydroxo toluene
BSA	Bovine Serum Albumin
Cat	Catalase
ERA	Espèces Réactives de l'Azotes
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
GPx	Glutathion Peroxydase.
GR	Glutathion Réductase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathion-Disulfure
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HDL	High density lipoprotein
HNO₂	Acide Nitrique.
HOCL	Acide Hypochloreux
LDL	low density lipoprotein
LPO	Lipoperoxydation
MDA	Malondialdehyde
NaCl	Chlorure de Sodium
NADP⁺	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Hydrogène.
NO[•]	Monoxyde d'azote
NOS	Nitrique Oxyde Synthase
NOX	NADPH oxidase
¹O₂	Oxygène Singlet
O₂^{•-}	Anion Superoxyde
O₂[•]	Radical Superoxyde
OH[•]	Radical Hydroxyl
ONAB	Office National des Aliments de Bétail
ONOO⁻	Peroxynitrite
ONOO[•]	Peroxynitrite
Pfg	Produit finaux de glycosylation
PLPT	Plasma Phospholipid Transfer Protein
RL	Radicaux libres
RO[•]	Radical Alkoxyl
ROO[•]	Radical Peroxyl
ROO[•]	Radicaux Peroxyles
ROOH	Hydroperoxyde
RS	Régime Standard
RSE1000	Régime Standard supplémenté en 1000 mg d'α-tocophérol /kg d'aliment.
RSE500	Régime Standard supplémenté en 500 mg d'α-tocophérol /kg d'aliment.
RSE600	Régime Standard supplémenté en 600 mg d'α-tocophérol /kg d'aliment.
RSE650	Régime Standard supplémenté en 650 mg d'α-tocophérol /kg d'aliment.

RSE700	Régime Standard supplémenté en 700 mg d' α -tocophérol /kg d'aliment.
RSE750	Régime Standard supplémenté en 750 mg d' α -tocophérol /kg d'aliment.
RSE800	Régime Standard supplémenté en 800 mg d' α -tocophérol /kg d'aliment.
RSE850	Régime Standard supplémenté en 850 mg d' α -tocophérol /kg d'aliment.
RSE900	Régime Standard supplémenté en 900 mg d' α -tocophérol /kg d'aliment.
RSE950	Régime Standard supplémenté en 950 mg d' α -tocophérol /kg d'aliment.
SOD	Superoxyde Dismutase
TBA	Thiobarbituric Acid
TBA-RS	Thiobarbituric Acid Reactive Substance
VLDL	Very low density lipoprotein
α- TTP	α -Tocophérol Transfert Protéine
α-T	α - Tocophérol
α-T•	Radical α -Tocophéroxy

Glossaire

Cataracte : est une affection de l'œil aboutissant à l'opacité partielle ou totale du cristallin. Le cristallin devenu trouble et opaque empêche la lumière de se rendre au fond de l'œil et altère la vision (Labbé et Boureau, 2007).

Hémochromatose : est une maladie génétique qui entraîne une accumulation de fer dans l'organisme et certains organes en particulier. Le foie, le pancréas, la peau, le cœur sont les principaux organes touchés (Pascal et *al.*, 2011).

Mucoviscidose : est une maladie génétique et héréditaire qui touche les cellules qui tapissent différents organes tels que les voies respiratoires, le tube digestif, les glandes sudorales en altérant leurs sécrétions (mucus, sueur, ...). Elle est appelée fibrose kystique (cysticfibrosis) dans les pays anglo-saxons (Hubert, 2005).

Psoriasis : est une maladie inflammatoire fréquente atteignant essentiellement la peau et parfois les articulations. Caractérisé, dans sa forme la plus fréquente, par des plaques érythémato-squameuses bien limitées associées à une prolifération exagérée des kératinocytes de l'épiderme, une inflammation et une hyper vascularisation du derme superficiel (Masson et *al.*, 2016).

Sclérose latérale amyotrophique (SLA), ou maladie de Charcot : est une maladie neurodégénérative caractérisée par un affaiblissement puis une paralysie des muscles des jambes et des bras, des muscles respiratoires, ainsi que des muscles de la déglutition et de la parole. Les fonctions intellectuelles et sensorielles ne sont pas touchées. C'est une maladie évolutive grave résultant d'une destruction des cellules nerveuses (neurones), qui réduit l'espérance de vie des personnes atteintes (Pradat et Bruneteau, 2006).

Thalassémie : constituent un ensemble de maladies héréditaires du sang causée par le gène qui contrôle la production d'hémoglobine. Thalassémie est l'absence ou la diminution de la biosynthèse d'une ou plusieurs chaînes de l'hémoglobine. Très schématiquement on distingue donc des α et des β thalassémie (Rochette et Charbitte, 1990).

Liste des figures

Figures	Titres	Page n°
01	Origine des espèces réactives de l'oxygène	06
02	Représentation schématique d'une partie de la chaîne respiratoire mitochondriale	09
03	Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires	13
04	Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant	16
05	Les principales enzymes antioxydant	17
06	Structure chimique des isoformes de tocophérol et tocotrienol	22
07	L'activité antioxydante et régénération de la vitamine E pendant la peroxydation lipidique.	25
08	Métabolisme de la vitamine E	26
09	L' α tocophérol médiateur de la peroxydation lipidique	28
10	La répartition des rats en 11 lots	32
11	Aliments fourni aux rats sous forme de poudre	33
12	Vitamine E pure NUTRIVA	33
13	Vitamine E sous forme de poudre	34
14	Automate de déshydratation	35
15	Appareil d'enrobage	36
16	Microtome	37
17	Automate de coloration	38
18	Effets de la supplémentation d'un régime standard en α -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg/kg d'aliments) sur le taux d'évolution du poids corporel des rats	44
19	Effets de la supplémentation d'un régime standard en α -T E (500,600, 650, 700, 750, 800, 850, 900,950 et 1000 mg/kg d'aliment) sur le poids du tissu hépatique chez les rats	46
20	Micrographies du foie des rats des lots RS	47

21	Micrographies du foie des rats des lots RSE500	48
22	Micrographies du foie des rats des lots RSE650	48
23	Micrographies du foie des rats des lots RSE700	50
24	Micrographies du foie des rats des lots RSE750	50
25	Micrographies du foie des rats des lots RSE800	51
26	Micrographies du foie des rats des lots RSE850	52
27	Micrographies du foie des rats des lots RSE900	53
28	Micrographies du foie des rats des lots RSE950	54
29	Micrographies du foie des rats des lots RSE1000	55

Liste de tableaux

Tableaux	Titres	Page N°
I	Les principales sources exogènes de radicaux libres.	10
II	Les différentes phases de la peroxydation lipidique en présence d'ERO et leurs réactions chimiques	11
III	Les différentes maladies liées au stress oxydatif	14
IV	propriétés physico-chimique de la vitamine E	23
V	Les principales sources de vitamine E	24
VI	Répartition des différents lots	32
VII	Préparation du courbe étalon	40
VIII	Concentrations et quantités de réactifs nécessaires au dosage de l'activité de la catalase	42

Table de matière

Dédicaces		
Remerciements		
Résumé		
Abstract		
الملخص		
Liste des abréviations		
Glossaires		
Liste des figures		
Liste des tableaux		
Introduction		01
Première partie : Rappels bibliographies		
Chapitre I : stress oxydatif		
I.1.	Généralités	03
I.2.	Les radicaux libres	03
I.2.1.	Notions sur les radicaux libres	03
I.2.2.	Classification des radicaux libres	04
I.2.2.1	Espèce réactives d'oxygénées	04
I.2.2.2.	Espèce réactives de l'azote	07
I.2.3.	Rôle physiologique des radicaux libres	08
I.2.4.	Source des radicaux libre	08
I.2.4.1.	Source endogène	09
I.2.4.2.	Source exogène	10
I.3.	Effet du stress oxydant sur les macromolécules	11
I.3.1.	Oxydation des lipides	11
I.3.2.	Protéines et acides aminés	12
I.3.3.	Les glucides	13
I.3.4.	Oxydation de l'ADN	13
I.4	Pathologie liées aux stress oxydant	14
Chapitre II : Les Antioxydants		
II.1.	Rappels sur les antioxydants	16
II.2.	Systèmes antioxydants enzymatiques	17
I.3.	Systèmes antioxydants non enzymatiques	18
II.4.	Composé exogène	20
Chapitre III : la vitamine E		
III.1.	Historique	22
III.2.	Structure chimique de la vitamine E	22
III.3.	Propriétés physico-chimique	23
III.4.	Source de la vitamine E	23
III.5.	Régénération de la vitamine E	24

III.6.	Métabolisme de la vit E	25
III.7.	Rôle de la vitamine E	26
III.7.1.	Vitamine E en tant qu'antioxydant	26
III.7.2.	Vitamine E en tant que pro-oxydant	28
Deuxième partie : étude expérimentale		
Chapitre I : Matériel et méthode		
I.1.	Matériel	31
I.1.1.	Matériel biologique	31
I.1.1.1.	Conditions d'élevage	31
I.1.1.2.	Expérimentation	32
I.1.1.3.	Régime et α -T	33
I.1.1.4.	Sacrifice et prélèvement	34
I.1.2.	Matériel non biologique	34
I.2.	Etude histologique	34
I.3.	Méthodes	38
I.3.1.	Dosage des protéines	39
I.3.2.	Dosage Malondialdehyde	40
I.3.3.	Dosage de l'activité de la catalase	41
I.4.	Etude statistique	42
Chapitre II : résultat et discussion		
I.	Modifications physiologiques	43
I.1.	Symptomatologie	43
I.2.	Effets de la supplémentation d'un régime en différentes doses d' α -tocophérol sur les paramètres pondéraux	43
II.	Effets de la supplémentation d'un régime en α -T à différentes doses sur l'histologie du tissu hépatique chez les rats	47
III.	Effets de la supplémentation d'un régime en différentes doses d' α -T sur quelques paramètres biochimiques du stress oxydatif	56
III.1.	Effets de la supplémentation d'un régime en différentes doses d' α -T (500-600-650 mg α -T /kg d'aliments) sur la teneur en LPO et l'activité de la catalase au niveau du tissu hépatique	57
III.2.	Effets de la supplémentation d'un régime en différentes doses d' α -T (700-750-800 mg α -T /kg d'aliments) sur la teneur en LPO et l'activité de la catalase au niveau du tissu hépatique	58
III.3.	Effets de la supplémentation d'un régime en différentes doses d' α -T (850-900-950-1000 mg α -T /kg d'aliments) sur la teneur en LPO et l'activité de la catalase au niveau du tissu hépatique	59
III.4.	Effets de la supplémentation d'un régime en différentes doses d' α -T sur la teneur en protéine du tissu hépatique	60
Conclusion et perspectives		63
Références bibliographiques		
Les annexes		

Introduction

Tout le système biologique est basé sur le fait que les électrons sont habituellement appariés, c'est-à-dire associés par paires sur les orbitales des atomes et des molécules. Un radical libre est une molécule ou un atome qui contient un électron célibataire sur une orbitale, l'oxygène moléculaire présente la particularité d'être un élément indispensable et toxique à la fois pour l'homme, il est sans doute le composé dont le pouvoir oxydant est le plus puissant parce qu'au niveau de la couche externe de l'atome d'oxygène, deux électrons seulement sont appariés, alors que deux électrons sont célibataires (Leverve, 2006). L'oxygène moléculaire peut se transformer dans l'organisme en anions superoxydes, pour générer d'autres espèces réactives oxygénées (ROS) (Daumbadouard, 2006) et il peut également générer d'autres radicaux libres à partir de l'azote, classés dans la famille des espèces réactives d'azote (RNS) de nature radicalaire ou non (Li et *al.*, 2013).

Dans les cellules intactes, il existe un équilibre entre la formation et l'élimination des radicaux libres. Cependant, cette balance peut s'orienter vers la formation excessive des radicaux libres ou quand la concentration des antioxydants diminue. Cet état est appelé « le stress oxydatif », et il peut d'autre part provoquer de sérieux dommages si ce dernier est massif et prolongé (Shinde et *al.*, 2012). Pour équilibrer la balance du stress oxydant, l'organisme a développé ses propres systèmes de défense antioxydants. Parmi ces systèmes, on a les systèmes enzymatiques, notamment le superoxydedismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX) et les systèmes non enzymatiques exemple le glutathion (GSH) et le coenzyme Q10, sans oublier les antioxydants d'origine végétale comme les flavonoïdes, la vitamine E (alpha-tocophérol), l'acide ascorbique et les caroténoïdes (Laguerre et *al.*, 2007).

Les propriétés antioxydantes de la vitamine E qui font l'objet d'une large majorité des travaux effectués actuellement sur cette vitamine, c'est l'antioxydant majeur des milieux lipidiques (huiles, membranes biologiques, lipoprotéines), elle pourrait augmenter l'activité enzymatique antioxydante de la SOD et la CAT (Margaritis et *al.*, 2003; Lyn Patrick, 2006). Cependant, la capacité que la vitamine E puisse agir en tant que prooxydant et augmenter la peroxydation lipidique est bien connue *in vitro* (Bowry *et al.*, 1992). Des études sur des LDL isolées (Thomas et *al.*, 1996), ont montré que de fortes doses en vitamine E avaient un effet prooxydant. La cause de cette activité prooxydante et l'interaction du radical tocophéroxyl avec des radicaux peroxydes ou avec des acides gras polyinsaturés dans des LDL, cette réaction mène à l'accumulation des hydroperoxydes (Mukai, 1993).

Introduction

C'est dans cette optique que le présent travail a été réalisé, dont l'objectif est d'étudier l'effet de la supplémentation de doses différents en α -T (500,600,650,700,750,800,850,900,950 et 1000 mg/kg d'aliment) sur l'histologie du tissu hépatique de rats Wistar traités pendant 12 semaines et d'évaluer d'autre part certains paramètres du stress oxydatif (malondialdéhyde, la catalase et les protéines).

Synthèse bibliographique

I.1.Généralités

En 2012, Lavoie a défini la notion de stress oxydatif comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactivées de l'oxygénée (ERO), en d'autres termes, le stress oxydant se caractérise par un déséquilibre entre la production des radicaux libres (RL), et les molécules antioxydants en faveur des oxydants; Cette rupture d'équilibre peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'inactivation du système enzymatique ou d'intoxication par des métaux lourds « fer, cuivre et magnésium » (Pincemail et *al.*, 2002).

Lorsqu'un état de stress oxydant s'établit dans la cellule, les radicaux en excès sont susceptibles d'attaquer les cibles cellulaires, ce qui a pour conséquence des dommages oxydatifs au niveau des lipides, des protéines et des acides nucléiques(Bonnefont, 2013).

I.2.Les radicaux libres

I.2.1.Notions sur les radicaux libres

Selon Carrière et *al.*(2006), un RL est une espèce chimique, neutre ou chargée, qui a la particularité de porter un électron célibataire (ou non apparié) sur sa couche externe. Cette absence d'appariement lui confère une grande réactivité et donc une durée de vie très courte de l'ordre de 10^{-3} à 10^{-6} secondes (Halliwell, 1996a).En effet, un RL aura toujours tendance à remplir son orbitale pour devenir plus stable : il va donc se combler soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule ou bien scission homolytique des liaisons covalentes, ce qui le rend instable et lui procure une grande réactivité vis-à-vis des molécules environnantes, il se stabilise au détriment de la molécule voisine qui devient à son tour un radical libre et ainsi de suite (Fontaine, 2007).

Les RL sont indisponibles à la vie parce qu'ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones. Mais de façon générale, les RL contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne (Guillouty, 2016).

I.2.2. Classification des radicaux libres

Selon Halliwell (1994), il existe trois principales catégories de RL :

- Les radicaux primaires, qui sont un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène (les ERO) par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), ou de l'azote (les espèces réactive de l'azote ou ERA) tels que le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}).
- Les radicaux secondaires sont les autres radicaux libres qui se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.
- Les radicaux précurseurs, espèce non radicalaire issues de la réduction de dioxygène (cas de H_2O_2).

I.2.2.1. Espèces réactives d'oxygénées

D'après Kalam et *al.* (2012), les ERO sont produits par la réduction de l' O_2 , d'une part lors de la production par la mitochondrie d'énergie mobilisable par la cellule, d'autre part dans diverses réactions enzymatiques ; Ce sont des sous-produits chimiquement réactifs du métabolisme aérobie normal et de l'exposition au xénobiotiques (Neelam et Krishnan, 2014).

Pour des raisons de commodités nous ne détaillerons que quelque espèce à savoir :

A. L'anion superoxyde

L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) est une ERO primaire chargé négativement formé à partir de l'oxygène moléculaire O_2 , principalement par six 6 voies enzymatiques faisant intervenir le système xanthine oxydase, la chaîne mitochondriale et le cytochrome p450, la NADPH oxydase (production massive et limitée dans le temps), les cyclo-oxygénase et lipoxygénases (Delbosc et *al.*, 2001). Il possède la plus faible réactivité vis-à-vis des substrats bio-organiques en raison, d'une vitesse faible constante (Migdal et *al.*, 2011).

L' $O_2^{\bullet-}$ est cependant hautement réactif avec certains métaux de transition comme le cuivre, le fer et le manganèse (Abreu et *al.*, 2010). L' $O_2^{\bullet-}$ ne traverse pas rapidement la membrane plasmique et se dismute spontanément au pH physiologique en produisant du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), selon la réaction(1): $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$ (1)

B. Le peroxyde d'hydrogène

Selon Halliwell et Gutteridge(1999), le H_2O_2 n'est pas une espèce radicalaire, il n'est pas chargé et peut donc diffuser très facilement à travers les membranes biologiques, de ce fait son action n'est pas restreinte à son lieu de production mais peut se dérouler dans différents compartiments cellulaires tel que le noyau; Il peut causer des dommages à la cellule à une concentration relativement faible ($10\mu M$) (Phaniendra et *al.*, 2015).

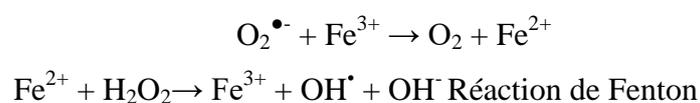
Le H_2O_2 est produit à partir du radical $O_2^{\bullet-}$ en solution aqueuse, cet ion provoque la dismutation de H_2O pour former du H_2O_2 et de l' O_2 , (la réaction 2) (Halliwell et Gutteridge, 1984): $2 O_2^{\bullet-} + 2 H^+ \xrightarrow{SOD} O_2 + H_2O_2$ (2)

Le H_2O_2 est réduite en eau par une voie enzymatique par la catalase (dans les Peroxysomes) et le glutathion (Rao et *al.*, 2011).

C. Le radical hydroxyl

Le radical hydroxyl (OH^{\bullet}) est le radical le plus dangereux dans l'organisme, un oxydant très puissant et extrêmement réactif d'une demi-vie de 10^{-9} sec (Maestre, 1991). De ce fait, il est capable de réagir presque avec tous les composants cellulaires par échange d'électron, addition sur les doubles liaisons ou arrachement d'atome d'hydrogène conduisant à la formation des RL secondaires et réagit indifféremment avec tous les macromolécules (Migdal et Serres, 2011).

L' OH^{\bullet} se forme principalement à partir de l' $O_2^{\bullet-}$ et d' H_2O_2 au cours de la réaction de Haber-Weiss (réaction 3) en présence des ions ferriques :



(3)

D. Radicaux alcoyle et peroxyde

Les radicaux peroxydes (ROO^\bullet) sont des radicaux secondaires issus de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le carbone (R^\bullet), les radicaux R^\bullet correspondent à un acide gras polyinsaturé, issus de l'action des radicaux OH^\bullet sur les substrats biologiques (par arrachement d'atome d'hydrogène ou addition sur les doubles liaisons).

Plusieurs modes d'actions sont décrits pour les propriétés oxydantes des radicaux ROO^\bullet : transfert de charge (arrachement d'un électron) ou d'un atome d'hydrogène (arrachement d'un atome H) réaction 4, addition sur les doubles liaisons (réactions intramoléculaires ou intermoléculaires) réaction 5 et formation d'endoperoxydes radicalaires ROOR^\bullet (Gardès-Albert et al., 2003). $\text{RH} + \text{HO}^\bullet \rightarrow \text{R}^\bullet + \text{H}_2\text{O}$ (4) ; $\text{R}^\bullet + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}^\bullet$ (5)

E. L'oxygène singlet

L' $^1\text{O}_2$ est un agent oxydant très puissant qui peut directement oxyder des protéines, l'ADN et des lipides et causer des dommages tissulaires (Halliwell, 2006). Une année plus tard, Halliwell et Gutteridge disent qu'il correspond à une forme excitée de l'oxygène O_2 , 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, son état 'excité' lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l' O_2^- .

L' $^1\text{O}_2$ est également formé *in vivo* par l'activation des neutrophiles, des éosinophiles et par certaines d'autres réactions enzymatiques catalysées par des enzymes, telles que les lipoxygénases, les dioxygénases et la lactoperoxydase (Phaniendra et al., 2015).

Un récapitulatif des principales ERO et son Origine est présenté dans la figure 01 :

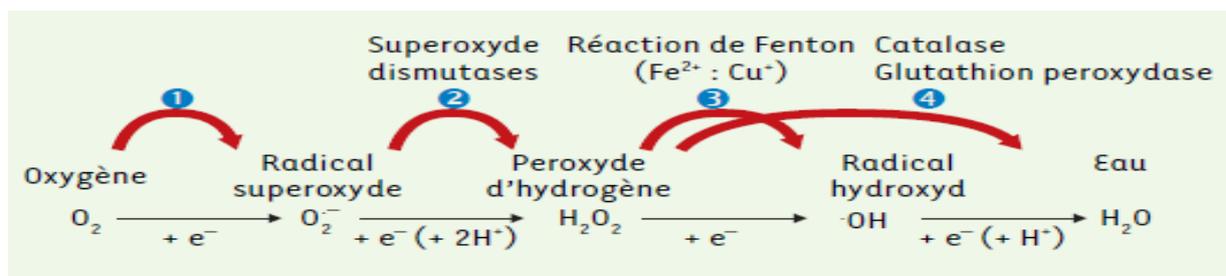


Figure 01: Origine des espèces réactives de l'oxygène (Migdal, 2011).

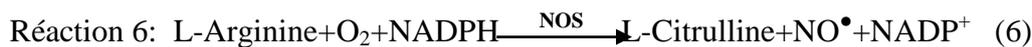
I.2.2.2. Espèces réactives de l'azote

Les métabolites dérivés de l'azote sont nommés espèces réactives de l'azote (ERA); il s'agit du monoxyde d'azote (NO^\bullet) et du peroxyneutre (ONOO^-).

A. Monoxyde d'azote ou l'oxyde nitrique

D'après Ali *et al.*, (2015), le NO^\bullet est le principal dérivé réactif d'azote, il constitue la source principale pour générer d'autres ERA; le NO^\bullet est synthétisé à partir de l'acide aminé L-arginine par de nombreux types cellulaires.

La synthèse se produit à travers des synthases d'oxyde nitrique (NOS) de trois types principaux: NOS neuronal (NOS1), la NOS2 produite dans des conditions inflammatoires et la NOS3 endothéliale (Powers et Jackson, 2008).



Le NO^\bullet lui-même se caractérise par une diffusivité élevée, une réactivité limitée et une demi-vie qui n'excède pas quelques secondes, il n'est donc pas particulièrement délétère pour les structures cellulaires (Blanc *et al.*, 2005).

B. Peroxynitrite

Le peroxyneutre OONO^- est un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques. Il est formé par l'association entre $\text{O}_2^{\bullet-}$ et NO^\bullet (Haleng *et al.*, 2007). Réaction 07 : $\text{O}_2^{\bullet-} + \text{NO}^\bullet \rightarrow \text{ONOO}^-$ (7)

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

- Un récapitulatif des principales ERO et de leurs propriétés est présenté dans le Tableau I (annexe A).

I.2.3. Rôle physiologique des radicaux libres

- Selon Favier et *al.*, (2003), la production de grande quantité d' $O_2^{\cdot-}$ par la NADPH oxydase (NOX) dans les cellules phagocytaires en cas d'inflammation représente une première barrière de défense vis-à-vis des agents pathogènes: c'est «le burst oxydatif».
- Les mécanismes radicalaires des ERO sont largement impliqués dans le processus dégénératif, dans de telles situations, la protéine P₅₃ sensible aux dommages causés à l'ADN, est capable de déclencher la mort cellulaire programmée pour éviter la transformation oncogénique, le gène codant pour la protéine P₅₃ est par ailleurs qualifié de gène suppresseur de tumeurs et dénommé « gardien du génome » en raison de sa capacité à déclencher l'apoptose dans les situations critiques (Wolyniec et *al.*, 2009).
- Les RL induisent l'expression de nombreux gènes par l'intermédiaire d'une part des voies de signalisation impliquant les MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases) mais aussi en agissant plus directement sur les facteurs de transcription comme l'AP-1 (Activator protein 1) et le NF-κB (Nuclear Factor kappa B) (Uchida et *al.*, 1999 ; Cyrne et *al.*,2013).
- La régulation des cascades de signalisation intracellulaire dans divers types de cellules (Pham–Huy et *al.*, 2008).
- Les RL sont impliqués dans le mécanisme de la contraction musculaire, certaines études scientifiques ont montré que les RL 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 les radicaux H₂O₂ favorisent la libération du Ca²⁺ au niveau du réticulum sarcoplasmique et stimulent l'ouverture des canaux calciques.

En finalité, les ERO et les ERN à des niveaux faibles ou modérés sont vitales pour la santé humaine.

I.2.4.Source de radicaux libre

Les RL sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes par l'organisme soit par l'activation des mécanismes de défense cellulaire ou signaux intracellulaire

I.2.4.1. Source endogène

La formation endogène de radicaux libres s'effectue au niveau de diverses voies :

A. Mitochondrie

La mitochondrie est le principal organite producteur d'énergie sous forme d'ATP, elle est aussi considérée comme la plus grande source de production des ERO (de l'ordre de 0,2 à 0,4% de l'oxygène consommé) (Sanz, 2008). Il a été démontré que les complexes I et III de la chaîne respiratoire (figure 02) sont responsables de la production d'anion superoxyde O_2^- , qui est ensuite rapidement converti en H_2O_2 par le superoxyde dismutase (SOD) (Barja, 1999 ; Sanz et Stefanatos, 2008).

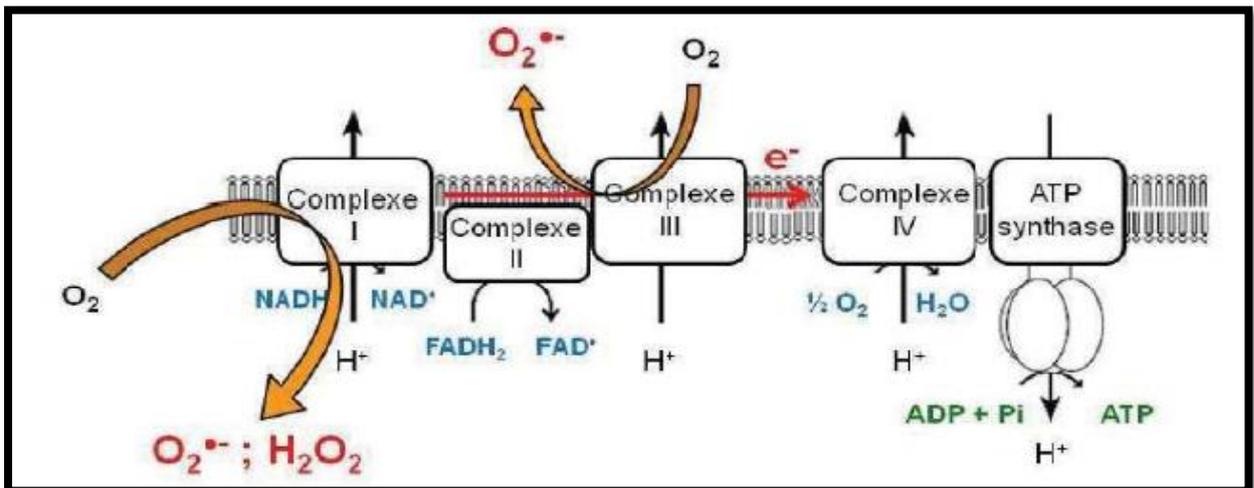


Figure 2 : Représentation schématique d'une partie de la chaîne respiratoire mitochondriale (Valko et al., 2006).

B. NADPH oxydase

La nicotamide adénine dinucléotide phosphate oxydase (NADPH oxydase) est une enzyme membranaire qui catalyse la réduction mono-électronique de l' O_2 (réaction 08)

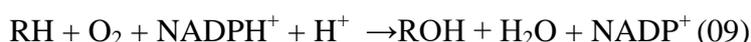


En utilisant le NADPH ou le NADH comme donneur d'électrons entraînant la formation des radicaux $O_2^{\bullet-}$ (Maghzal et al., 2012).

C. Cytochromes P450

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

Les cytochromes P450 sont des enzymes qui catalysent l'hydroxylation de leur substrat (RH), en utilisant le NADPH comme donneur d'électrons (réaction 09) (Slaught et al., 1995).



D. Xanthine oxydase (XO)

Selon Harrisson et al., (2002), la xanthine oxydase (XO) est une enzyme qui génère des RL en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique. Cette enzyme est présente dans le sang, les cellules endothéliales et aussi dans le foie. La localisation cellulaire de la XO est essentiellement cytoplasmique. La production des RL par la XO est faible au repos, mais elle joue un rôle important lors de l'ischémie-reperfusion (Heunks et al., 1999).

I.2.4.2. Source exogène

L'organisme humain est exposé à l'agression de différents agents capables d'induire la génération des radicaux libres.

Tableau I: Les principales sources exogènes de radicaux libre.

Source exogène de RL	
Physique	Les rayonnements UV, les radiations ionisantes provoquent également la génération de radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso et al., 2007).
Chimique	Pesticides, les polluants (fumée de cigarette, pollution atmosphérique (SO ₂ , NO ₂ , O ₃ , hydrocarbures), métaux occupationnels (métaux de transition tels le mercure, le fer, le cadmium et le nickel, arsenic, amiante) et le CO ₂ atmosphérique (Wageset al., 2014). Les métaux lourds ayant une grande affinité avec les groupements sulfhydryles (-SH), ils inactivent facilement les antioxydants contenant du soufre (Valko et al., 2005).
Biologique	Virus, bactéries, réactions immunologiques, fuite des électrons.
Alimentaire	Les médicaments (traitements contre le cancer, psoralène), l'ingestion d'alcool (Moller et al., 1996).

I.3. Effet du stress oxydant sur les macromolécules

Les ERO seront à la base de dégâts cellulaires importants, en inactivant des protéines ou encore en induisant des processus de peroxydation lipidique au sein des acides gras polyinsaturés (AGPI) de la membrane cellulaire ou des lipoprotéines et en provoquant des mutations au niveau de l'acide désoxyribonucléique (ADN) (Pincemail *et al.*, 2001).

I.3.1. Oxydation des lipides

L'oxydation des lipides ou peroxydation lipidique, correspond à la détérioration oxydative de doubles liaisons d'acides gras insaturés que l'on trouve dans les AGPI; Ceux-ci pourraient subir des attaques radicalaires et génèrent des peroxydes lipidiques qui sont eux même très réactifs. On distingue 2 formes d'oxydation des AGPI : la forme enzymatique et la forme non enzymatique. L'oxydation non enzymatique des AGPI se fait soit par photo-oxydation par l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ (Girotti *et al.*, 1990), soit par auto-oxydation par l'oxygène triplet $^3\text{O}_2$ (Porter *et al.*, 1995).

Le mécanisme radicalaire comporte trois étapes successives : l'initiation, la propagation et la terminaison (tableau II).

Tableau II: Les différentes phases de la peroxydation lipidique en présence d'ERO et leurs réactions chimiques

Phase d'oxydation lipidique	Réaction(s) chimique(s)
Initiation	$\text{RH} + \text{HO}\cdot \longrightarrow \text{R}\cdot + \text{H}_2\text{O}$
Propagation	$\text{R}\cdot + \text{O}_2 \longrightarrow \text{ROO}\cdot$ $\text{ROO}\cdot + \text{RH} \longrightarrow \text{ROOH} + \text{R}\cdot$
Terminaison	$\text{R}\cdot + \text{R}\cdot \longrightarrow \text{RR}$ $\text{ROO}\cdot + \text{R}\cdot \longrightarrow \text{ROR}$ $\text{ROO}\cdot + \text{ROO}\cdot \longrightarrow \text{ROOR} + \text{O}_2$

(Valko *et al.*, 2006).

- a. Phase d'initiation:** elle consiste en la rupture homolytique occasionner par un initiateur radicalaire, d'une liaison C-H de la chaîne d'un acides gras, ce qui en fait un composé radicalaire très réactif vis-à-vis de l'oxygène et qui va donc se transformer en radical $\text{ROO}\cdot$ (Hannebelle *et al.*, 2004).

- b. Phase de propagation:** Au cours de cette phase le radical lipidique (R^\bullet) réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical ROO^\bullet . Le radical ROO^\bullet est suffisamment réactif pour arracher un H^+ à un AGPI voisin et former un hydroperoxyde lipidique ($ROOH$). Dans ces conditions, une réaction en chaîne s'installe, propagée par les radicaux R^\bullet et ROO^\bullet (Delattre *et al.*, 2005).
- c. Phase de terminaison :** elle est entraînée par la création de deux radicaux pour donner une espèce moléculaire ou par intervention d'un composé antioxydant (Hannebelle *et al.*, 2004).

Par ailleurs, le R^\bullet peut aussi se transformer en endoperoxyde, qui, en présence d'oxygène, va conduire à la formation de divers produits, dont notamment des aldéhydes hautement cytotoxiques et mutagènes, (4-hydroxynonéal, malondialdéhyde) (Favier, 2003).

La réaction de peroxydation se termine lorsque deux radicaux lipidiques se rencontrent ou lorsque le radical lipidique interagit avec un antioxydant liposoluble tel que la vitamine E (Delattre *et al.*, 2005).

I.3.2 .Protéines et acides aminés

D'après Poisson (2013), l'oxydation des protéines et des acides aminés par les ERO aboutit à la formation de produits carbonylés et hydroxylés. Les acides aminés soufrés dont la cystéine et la méthionine, les acides aminés basiques (arginine, leucine) et les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine sont plus particulièrement sensibles à ces phénomènes.

L'oxydation des protéines peut avoir lieu à deux niveaux différents : celui qui casse les liaisons peptidiques et modifie la chaîne peptidique et celui qui modifie les peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique (exemple: 4-HNE). Ces modifications conduisent à une altération structurale des protéines dont les conséquences sont majeures : perte de fonction catalytique, augmentation de la sensibilité aux protéases...etc (Stadtman *et al.*, 2000).

I.3.3. Les glucides

En (2007), Halliwell et Gutteridge énoncent que les cibles glucidiques sont essentiellement le glucose et les protéoglycanes du cartilage, l'oxydation au sens large du glucose est aussi appelée «glycosoxydation», elle se fait en deux mécanismes possibles :

- soit oxydation au sens strict du glucose, donnant des dérivés carbonyles susceptibles de réagir avec une protéine, pour aboutir à la formation de «Produits Finaux de Glycosylation» (PFG).
- soit formation d'une liaison covalente entre un ose et les groupements amines libres d'une protéine : on parle de «glycosylation non-enzymatique des protéines», cela forme une protéine glyquée, qui peut être attaquée par des ERO telles que HO[•] ou NO₃⁻ pour former des PFG.

I.3.4. Oxydation de l'ADN

Les attaques radicalaires de l'ADN peuvent être classées en quatre catégories selon le type de dommages causés (figure 03)

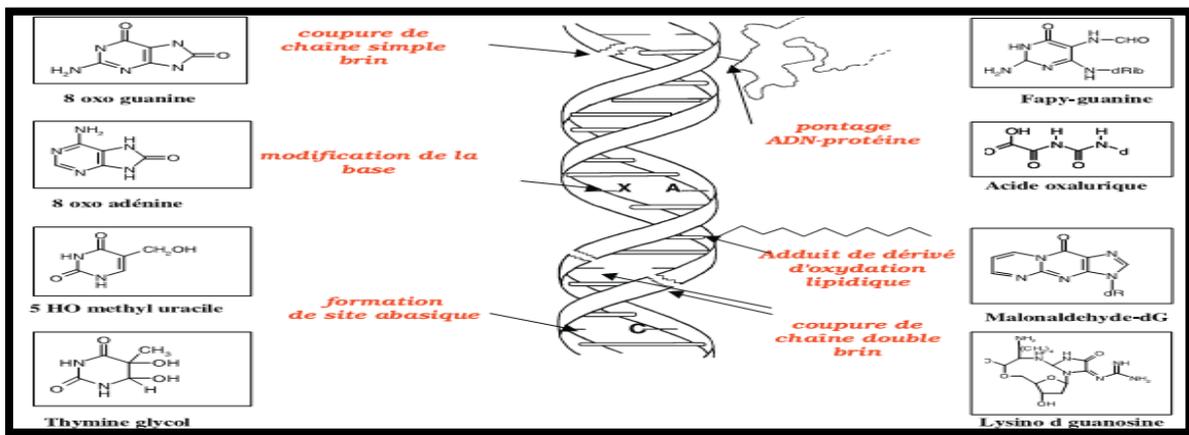


Figure 03: Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires (Favier, 2003).

- Les modifications des bases azotées en particulier la guanine. Cela entraîne un non-appariement des bases, ou un mauvais appariement, ou encore un blocage de la réplication de l'ADN (Halliwell, 1999).

- La formation de sites abasiques due à la rupture de la liaison N-glycosidique entre le désoxyribose et la base azotée (Kryston et *al.*, 1999).
- La formation d'adduits due aux aldéhydes issus de la peroxydation lipidique en particulier le 4-hydroxy-2-nonéanal (4-HNE) et la malondialdéhyde (MDA) (Marnett, 1999).
- Les pontages ADN-protéines : les RL peuvent agir indirectement en attaquant les protéines qui sont en contact de l'ADN : histones, enzymes et facteurs de la réplication ou de la transcription ... Les protéines oxydées réagissent alors avec l'ADN formant des pontages ADN-protéines (Oleinick et *al.*, 1987).

Les conséquences des RL sur l'ADN peuvent participer à une mutagénèse, à un arrêt des divisions cellulaires par blocage des mécanismes de réplication, à un arrêt de la synthèse protéique par blocage des mécanismes de transcription/traduction, et enfin à une mort cellulaire (Cooke et *al.*, 2003).

I.4.Pathologies liées aux stress oxydant

Selon Defraigne et Pincemail (2008), le stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il constitue un terrain favorable au développement de pathologies diverses (Tableau III)

Tableau III: les différentes maladies liées au stress oxydatif

Maladies dues à une production insuffisante de radicaux libres	Maladies où le stress oxydant est la cause primordial	Maladies où le stress oxydant fait partie des facteurs déclencheurs	Maladies entraînant un stress oxydant secondaire
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Agranulomatosose septique ✓ Psoriasis 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cancer ✓ Auto-immunité ✓ Cataracte ✓ Dégénérescence maculaire ✓ Sclérose latérale amyotrophique ✓ Photo-vieillessement cutané ✓ Photosensibilisation ✓ Irradiation ✓ Intoxication : CCl4, Fe, Cd, alcool ✓ Hémochromatose 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Maladie d'Alzheimer ✓ Stérilité masculine ✓ Maladies virales : EBV, HBV ✓ Rhumatismes ✓ Athérome ✓ Asthme ✓ Insuffisance respiratoire 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Diabète ✓ Insuffisance rénale ✓ Mucoviscidose ✓ Sida ✓ Choc septique ✓ Infarctus de myocarde ✓ Parkinson ✓ Ischémies/reperfusion ✓ Brûlures ✓ thalassémie ✓ Greffe d'organes

(Favier, 2006)

- L'oxydation des lipides et celle de l'ADN via la formation de dérivés toxiques de l'oxygène sont respectivement impliquées dans le développement de maladies cardiovasculaires et du cancer (Lesgards *et al.*, 2002).
- Le rôle du stress oxydant dans la relation syndrome métabolique – diabète de type II – maladies cardiovasculaires est de plus en plus établi (Kusano et Ferrari, 2008).
- Les maladies dégénératives seraient imputables au stress oxydatif généré par les RL (Lesgards *et al.*, 2002).

Par conséquent, il est de plus en plus évident que nos défenses naturelles ne suffisent plus à combattre ces ennemis ; Nous observons aujourd'hui un déséquilibre en faveur des RL sur les défenses naturelles de l'organisme. Cette montée en faveur des RL explique, en partie du moins, la recrudescence des cas d'Arthrose et polyarthrite rhumatoïde (Henrotin *et al.*, 2005) et de l'Inflammation (Zafrilla *et al.*, 2002).

II.1. Rappels sur les Antioxydants

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO et d'ERA, le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxygène, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell et Gutteridge, 2014).

Selon Pincemaitet *al.* (2012), les cellules utilisent ainsi de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'ERO. La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (figure 04). Ils sont composés d'enzymes (SOD, CAT, GPx,...), de vitamines (E, C, A), d'oligoéléments (le sélénium, le fer, le cuivre...), de protéines (la ferritine, albumine, la transferrine...) En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler parfaitement la production des ERO.

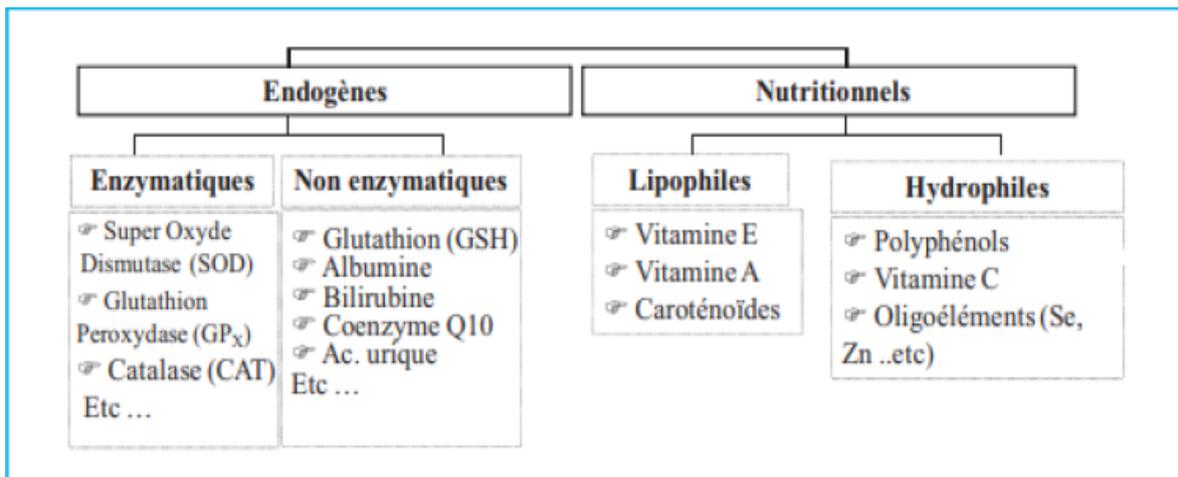


Figure 04 : Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant (Durand *et al.*, 2013).

En 1996, Halliwell énonce que les mécanismes d'action d'un antioxydant peuvent comprendre : le piégeage direct des RL, l'inhibition des enzymes responsables de la production des RL et La protection par les systèmes de défense antioxydants.

II.2. Systèmes antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les différentes espèces oxydantes, leur rôle principal est de diminuer la quantité des ERO dans la cellule (figure 05).

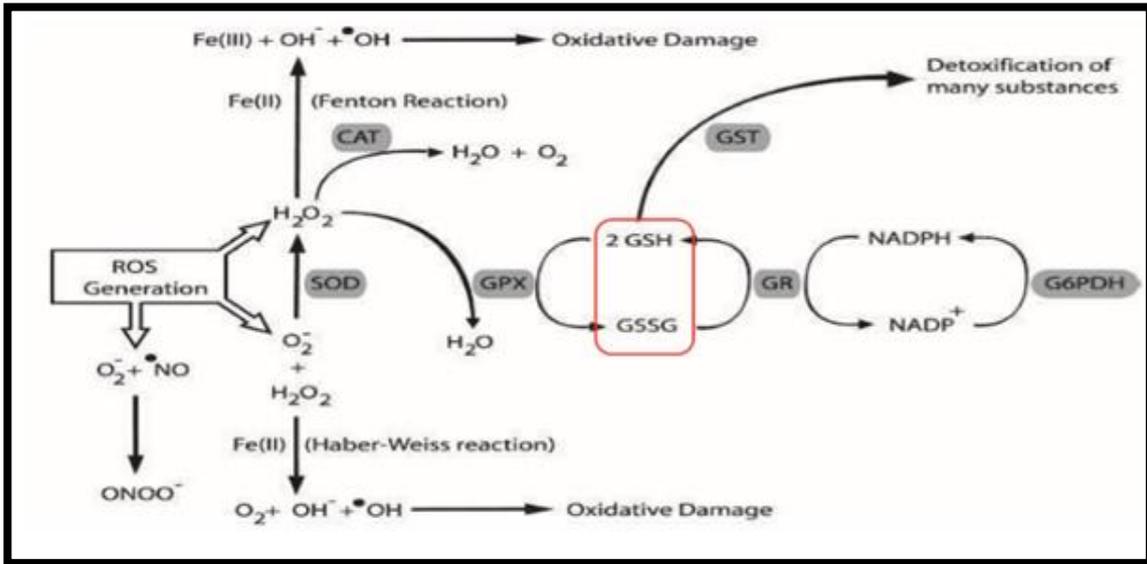


Figure 05 : les principales enzymes antioxydant (Hermes, 2005).

A. Superoxydes Dismutases

Selon Levine et al. (2000), il existe plusieurs SOD qui diffèrent par leur cofacteur (Manganèse, Cuivre ou Zinc), leur structure et leur localisation cellulaire : la SOD à cuivre et à zinc (SOD1) dans le cytosol, la SOD à manganèse (SOD2) dans les mitochondries, la SOD à cuivre et à zinc extracellulaire (SOD3).

D’après Halliwell (1994), les (SOD) sont des métallo-enzymes qui catalysent la dismutation des anions $O_2^{\bullet -}$ en H_2O_2 et en O_2 (réaction 10), elle est 10000 fois plus rapidement que la dismutation spontanée de l’anion $O_2^{\bullet -}$ (Nimse et al., 2015).



B. La catalase

En 2004, Wassmann et *al.* montrent que la CAT est une enzyme héminique, car elle possède un atome de fer qui participe à la fabrication de l'hème, sa masse moléculaire est de 220 000 Da ; La CAT est formée de quatre chaînes polypeptidiques, chacune porte un groupe hème (Fe), qui constituent les sites actifs de la catalase qui a une très grande affinité pour l'H₂O₂. En éliminant l'H₂O₂, la CAT détoxifie indirectement la cellule des O₂[•] qui sont transformés en H₂O₂ par les différentes SOD (réaction 11) : $2\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{CAT}} 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2^{\bullet}$ (11)

C'est une enzyme qui possède un *turnover* important: une molécule de CAT peut convertir en une minute environ 6 millions de molécules de H₂O₂ (Valko et *al.*, 2006).

C. Glutathion peroxydases

Le GPx est un système de défense très important car, il protège l'organisme non seulement contre les radicaux oxygénés mais aussi contre les peroxydes ou le NO et aussi contre les peroxydes organiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol, leur rôle est d'assurer la réduction du H₂O₂ (Francesco et *al.*, 2004).

Selon Haleng et *al.* (2007), la glutathion peroxydase (GPx) est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les H₂O₂ aux dépens de son substrat spécifique GSH. La réaction mise en jeu est la suivante : $\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{GS} \xrightarrow{\text{GPx (Se)}} 2 \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$ (12)

La GSH intervient également dans le cycle de régénération de 2 vitamines antioxydantes: la vitamine E et la vitamine C ; par ailleurs le GSSG permet une protection des groupements thiols des protéines : il y a formation d'une liaison réversible entre le GSSG et un groupement thiol (Powers et *al.*, 2008).

II.3. Systèmes antioxydants non enzymatiques

L'action protectrice des enzymes est complétée par des molécules antioxydantes pouvant être d'origine endogène, ou exogène (Moure et *al.*, 2001; Pincemail et *al.*, 2007).

- a. L'acide urique:** Issu du catabolisme des purines ; Comme pour tout couple acido-basique l'une ou l'autre des formes est prépondérante selon le pH du milieu : au pH physiologique la forme ionisée, l'urate est prépondérante. Il agit comme un donneur d'électrons capable ainsi de stabiliser les radicaux HO•, ROO•, et ¹O₂• (Powers et Jackson, 2008).
- b. La bilirubine:** Est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales, composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine dans un rapport stœchiométrique, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau. La bilirubine est capable de piéger ROO• et l'¹O₂. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Haleng et *al.*, 2007).
- c. Coenzyme Q10:** L'effet antioxydant de coenzyme Q10 s'exerce au niveau de l'ADN et des protéines, étant donné qu'il est un antioxydant liposoluble endogène (Bentinger et *al.*, 2010). Le Q10, appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique ; cette chaîne latérale confère à la molécule un caractère lipophile qui lui permet de s'insérer dans les membranes et les lipoprotéines; Il appartient à la chaîne respiratoire mitochondriale et permet le transport d'électrons des complexes I et II vers le complexe III, le Q10 est un puissant inhibiteur de la PL en synergie avec la vitamine E ; Il est également impliqué dans la régénération de la vitamine E, ce qui amplifie son rôle protecteur contre les ERO (Suzuki et *al.*, 2011).
- d. L'albumine :** agit comme antioxydant et protecteur de l'organisme grâce à la cystéine qui contient de nombreux groupes thiol, ceci lui permettrait d'agir directement sur les ERO (Lamprecht et *al.*, 2004). C'est la protéine la plus abondante dans le sang synthétisé par le foie avec de poids moléculaire 66 KDa; c'est une protéine possédant de nombreuses fonctions au sein de l'organisme. En effet, elle régule la pression oncotique (Jennifer et *al.*, 2014).

II.4. Composés exogènes

A. La vitamine E

Selon Annahazi et *al.* (2007), la vitamine E est un antioxydant liposoluble, en raison de sa longue chaîne aliphatique comportant 16 atomes de carbone, ce qui le différencie nettement de l'ascorbate qui, lui est hydrosoluble ; en même année Haleng et *al.* montrent que leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux ROO• pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique.

B. La vitamine C ou acide L-ascorbique

Selon Haleng et *al.*, (2007), la plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins, ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg *via* une alimentation riche en fruits et d'après Gulcin (2012), la vitamine C est hydrosoluble et considérée comme étant l'antioxydant naturel le plus puissant, présente sous sa forme ascorbate, elle piège les radicaux ROO• en phase aqueuse avant qu'ils initient la réaction de peroxydation lipidique protégeant ainsi les membranes et les lipoprotéines PLP ; la vitamine C peut avoir un effet prooxydant et ainsi se lier avec des ions métalliques dont Fe³⁺ pour le réduire en Fe²⁺ qui pourra ensuite catalyser différentes réactions dont celle de Fenton générant ainsi de nouvelles ERO.



La vit C inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques (Haleng et *al.*, 2007). Une vaste gamme de ERO (OH•, ROO•, O₂•⁻, HOCl), les espèces réactives du nitrogène (OONO•) et les radicaux dérivés des antioxydants (radicaux α-tocophéroxyl et l'urate) sont éliminés par l'acide ascorbique (Pryor, 2000).

C. La vitamine A

La vitamine A regroupe les rétinoïdes et les provitamines A aussi appelés caroténoïdes ; la vitamine A est classé comme un supplément antioxydant elle est produite à la suite de la dégradation de la β-carotène et elle est un caroténoïde produit dans le foie ; ils sont capables

de réagir avec les radicaux libres de trois manières : par le transfert d'électron, d'hydrogène ou par la liaison avec le radical. Ils sont également capables de régénérer la vitamine E et sont eux-mêmes régénérés par la vitamine C (Hermes-Lima, 2004).

Il existe plusieurs membres dans le groupe des caroténoïdes, mais le caroténoïde le plus connu et étudié est le β -carotène, qui est un puissant antioxydant capable d'étancher rapidement l' O_2^{\cdot} (Fusco et *al.*, 2007).

Il existe autres antioxydants exogènes :

- a. Les flavonoïdes :** D'après Kumar et *al.* (2013), les flavonoïdes a pour rôle protègent les lipides contre des dégâts oxydatifs par des mécanismes divers
 - L'activation d'enzymes antioxydants.
 - L'inhibition des oxydases.
 - capables de piéger les RL directement, par le don d'un atome d'hydrogène.

- b. Oligoéléments :** le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des cofacteurs pour maintenir l'activité catalytique de la CAT, SOD, GPx.

III.1. Historique

La vitamine E ($C_{29}H_{49}OOH$) a été découverte en 1922 par Herbert Evans et Karherine Bishop; son rôle nutritif essentiel pour l'homme n'a été reconnu que tardivement (en 1968 par le National Research Council des Etats unis), ses propriétés antioxydantes sont découvertes au cours des années 1950. On observe sa présence dans les structures biochimiques condensées les plus sensibles à l'oxydation. A Partir des années 1980, ses propriétés régulatrices vis-à-vis de la cellule ont été révélées (Léger, 2000).

La vitamine E existe sous multiples formes naturelles, qui comprennent : l' α -tocophérol (α -T), le β -tocophérol, le γ -tocophérol, et de δ -tocophérol (Cook-Mills et McCary, 2010).

La famille des tocophérols, ce nom proposé pour la première fois en 1936 par Evans et collaborateurs, ce nom provient du grec *tokos* pour progéniture et *pherein* pour porter (Cuvelier et *al.*, 2003).

III.2. Structure chimique de la vitamine E

Sous le terme de vitamine, sont regroupées 4 formes de tocophérols (alpha, bêta, gamma et delta), et 4 formes de tocotriénols (alpha, bêta, gamma et delta) (Cook-Mills et McCary, 2010) ; parmi les 4, l' α -T est la forme de vitamine E la plus présent dans l'organisme, il est aussi l'unité de mesure pour l'apport nutritionnel recommandés et la teneur en vitamine E des aliments (Dietrich et *al.*, 2006).

La structure chimique des tocophérols se compose d'un cycle chromanol mono-, di-, ou tri-méthylé auquel se trouve rattachée une chaîne carbonée latérale (chaîne phytyle) saturée de 16 carbones (figure 06); Les tocophérols diffèrent entre eux seulement par le nombre et l'arrangement des groupements méthyles autour du cycle benzène du noyau chromanol (Cuvelier et *al.*, 2003).

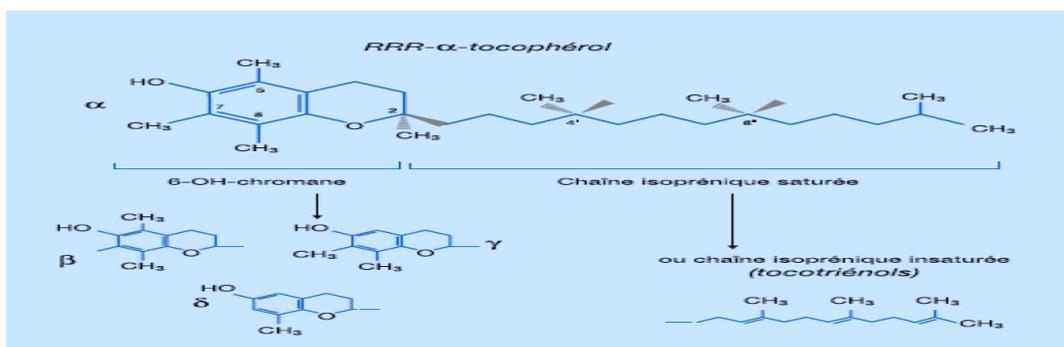


Figure 06: Structure chimique des isoformes de tocophérol et tocotrienol (léger, 2000).

III.3. Propriétés physico-chimique

Tous les tocophérols se présentent, à la température ambiante, sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques (éthers, acétone, chloroforme, méthanol, alcools méthyliques et éthyliques). Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases. Les esters de tocophérols et notamment l'acétate de dl- α -tocophérol sont relativement stables (Tableau IV) (Bourgeois, 2003).

Tableau IV: Propriétés physico-chimique de la vitamine E

Propriétés physico-chimiques	
Nom chimique	2,5,7,8-tetraméthyl-2-(4,8,12-triméthyltridécyloxy)chroman-6-ol-acétate
Formule brute	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
Masse molaire	430.7061 g/mol
Masse volumique	0.947-0.951 g/cm ³
Densité	0.950 g/cm ³
Viscosité	26600 mPa à 0°C
	2120 mPa à 20°C
	161 mPa à 60°C
Température de fusion	3°C
Température d'ébullition	235°C
Point d'éclair	240°C
Indice de réfraction	1.5045 (25°C)
Pka/pkb	11.40 (pka)
Solubilité dans l'eau	<0.1 g/100 ml à 17°C
Chaleur de vaporisation	83.5 KJ/mol

(Bourgeois, 2003).

III.4. Sources de la vitamine E

Les tocophérols sont largement répandus dans les produits naturels d'origine végétale ou animale. Les sources alimentaires les plus riches en vitamine E sont les céréales (seigle, blé, avoine...) dont leurs germes, les fruits (bananes, fraise, melon...), la plupart des oléagineux, dont leurs huiles (tournesol, soja, maïs, olive, arachide...). On trouve de la vitamine E dans les légumes à feuilles (salade, épinard, chou, poireau), dans la graisse animale ainsi que dans le lait, le beurre et le fromage et également dans le poisson ; les viandes, les œufs, le foie (Ruiz et al., 2001).

Tableau V: Les principales sources de vitamine E

Sources naturelles de vitamine E	En mg pour 100g	Sources naturelles de vitamine E	En mg pour 100g
Huile d'arachide	150 à 500	Huile d'olive	8-20
Huile de germe de blé	140	Haricot sec, petit pois	3-4
Huile de soja	15-30	Cacao, farine de blé	3
Amande, noisette	15-20	Beurre, chou, lard	2-3
Germes de cereals	14-20		

(Guerrero et *al.*, 2001).

La vitamine E existe également sous forme synthétique : il s'agit du dl-alpha tocophérol que l'on retrouve dans les suppléments en vitamine E.

On retrouve également l'acétate ou le succinate de tocophérol. Bien que la forme synthétique soit bénéfique, la forme naturelle est particulièrement recommandée.

Les esters de tocophérols et notamment l'acétate de dl- α -tocophérol sont relativement stables par rapport à l'oxygène, la lumière ou les U.V La synthèse de l'acétate de tocophérol est basée sur la condensation de la 2, 3,6-triméthyl-hydroquinone sur l'isophytol, après une acétylation à l'anhydride acétique, on obtient de l'acétate de tocophérol (Bourgeois, 2003). Les esters présents naturellement dans l'alimentation ou rajoutés, comme l'acétate, doivent être hydrolysés par une ester hydrolase pancréatique afin de permettre l'absorption des tocophérols libres (Lareal, 2011).

III.5. Régénération de la vitamine E

Selon Miguel et *al.* (2017), le ROO• va se combiner avec les acides gras de la queue de la vitamine E arrêtant ainsi de retirer les électrons d'acides gras des membranes, donc la vitamine E, par suite à ses caractéristiques structurales, agit comme l'interrupteur de chaîne.

La vitamine E radicalaire est régénérée par la vitamine C (figure 07) à l'interface cytosolique de la membrane, et l'interaction entre l'ascorbate (Asc) et le radical tocophéroxyl serait facilitée par le positionnement d'un noyau chromanoxyle à proximité de la surface de la membrane, la queue du tocophérol est bien ancrée dans la double couche lipidique et le noyau chromanol « flotte » comme un cerf-volant au contact de l'interface phase aqueuse/phase lipidique afin de rendre accessible à l'ascorbate (Guilland, 2011).

Le réseau de balayage de la triade α -tocophérol- ascorbate - glutathion, permet de réduire le radical tocophéroxyl par l'Ascorbate, tandis que le déshydroascorbate (DHA) est formé (Szarka et al., 2012).

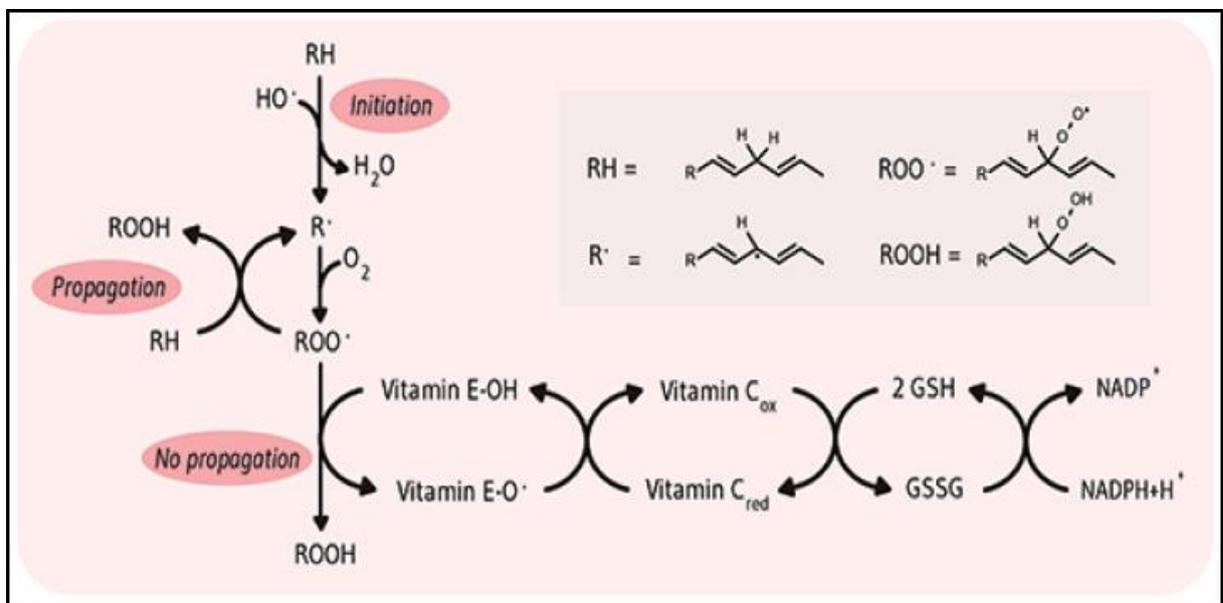


Figure 07: l'activité antioxydante et régénération de la vitamine E pendant la peroxydation lipidique. **Vitamine E WWW.organostate .educ.**

III.6. Métabolisme de la vit E

Chez les mammifères, la vitamine E doit être apportée par l'alimentation, soit sous forme libre (vitamine E naturelle contenue dans les végétaux) soit sous forme estérifiée (vitamine E de synthèse).

Selon Bandt et al. (2013), Après hydrolyse intestinale et entérocytaire des esters, les tocophérols sont transposés dans le sang associés aux lipoprotéines; le taux d'absorption de

l' α -T est voisin de 70% et est conditionné par la présence de sels biliaires, de lipase pancréatique, est par la teneur en lipides de la ration alimentaire; Après digestion, la vitamine E est transportée par les chylomicrons et gagne la circulation générale par voie lymphatique comme le montre la figure08.

L' α -T est incorporée dans les lipoprotéines de très basse densité (VLDL) via l' α -T transfert protéine (α -TTP), selon un mécanisme non élucidé, ce qui va permettre sa distribution aux tissu périphériques (Traber, 2007),aussi, la protéine de transfert plasmatique des phospholipides (PLTP), facilite l'échange de l' α -T entre les lipoprotéines de haute densité (HDL) et les lipoprotéines de basse densité (LDL) (Lagrost et Masson, 2002). Approximativement la moitié de l' α -T plasmatique est présente dans les LDL et l'autre moitié est distribuée entre VLDL et les HDL (Albahrani et Greaves, 2016).

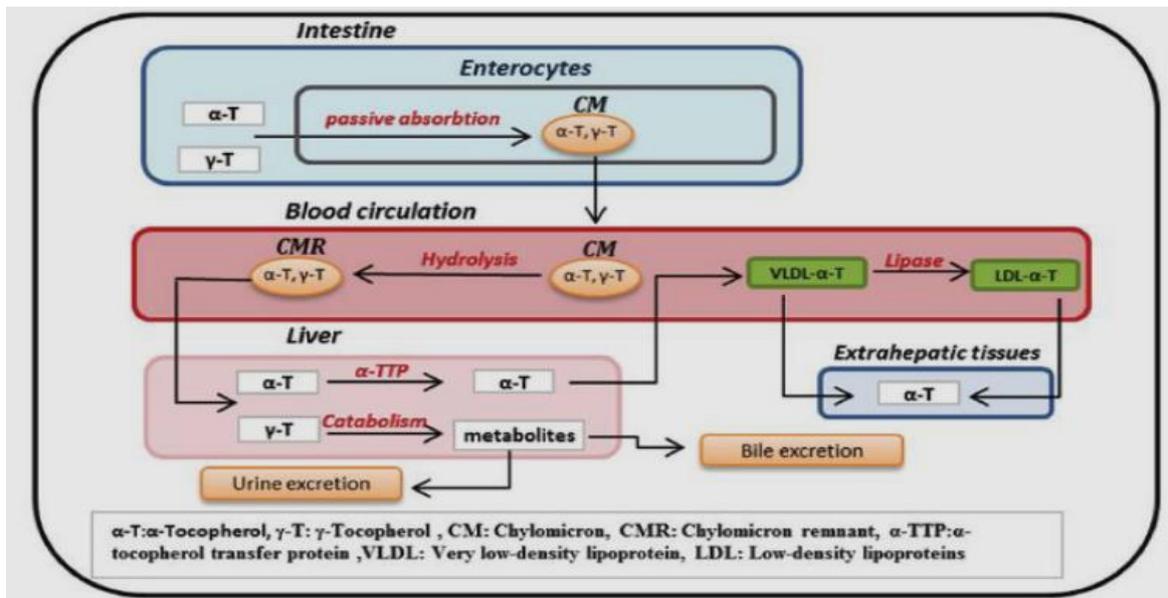


Figure 08 : métabolisme de la vitamine E (Albahrani et Greaves, 2016).

III.7. Rôle de la vitamine E

III.7.1. Vitamine E en tant qu'antioxydant

Selon Landrier (2011), la fonction de la vitamine E au niveau de l'organisme joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les ERO ; Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer dans les

membranes biologiques riches en acide gras polyinsaturé (AGPI), ou elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les ERO.

La vitamine E exercerait son action antioxydante grâce à sa chaîne isoprénoïde latérale, qui lui permet de s'intégrer dans la bicouche lipidique, au niveau des zones hydrophobes. Il a été démontré que tocophérol à la possibilité de se fixer dans les encoches formées par les doubles liaisons des AGPI (Sakouhi et *al.*, 2008).

Les tocophérols ont des actions anti-infectieuses en stimulant le système de défense de l'organisme. Ils diminuent le mauvais cholestérol (LDL) et empêchent également les dommages dus à l'athérosclérose et aux maladies cardiovasculaires. Ils jouent un rôle dans la formation et le maintien des globules rouges dans le sang (Pincemail et *al.*, 1998).

L' α -T est également capable de moduler la synthèse endogène de cholestérol et d'oxystérols en modulant probablement le clivage des stérols response element Binding proteins: SREBPs; Ces régulations géniques expliqueraient en grande partie les nombreux effets non antioxydants de la vitamine E. Il est important de souligner que les mécanismes moléculaires ne sont pas spécifiques à la vitamine E, celle-ci utilise des voies de signalisations communes à de nombreux autres modulateurs de L'expression génique (Landrier et *al.*, 2010). Sur la base d'études épidémiologiques, Il a été postulé que la vitamine E pourrait avoir un rôle bénéfique vis-à-vis des pathologies dégénératives (maladies Cardiovasculaires, pathologies neurodégénératives, pathologies oculaires...) dans lesquelles les ERO semblent être impliquées (Bjelakovic et *al.*, 2007).

La vitamine E augmente la production de la prostacycline, un puissant vasodilatateur et inhibiteur de l'agrégation plaquettaire par les cellules endothéliales. Son rôle sur l'élasticité de l'endothélium ainsi que dans le métabolisme des Eicosanoïdes expliquent son effet favorable sur le processus athéromateux. Mais Inversement, il peut expliquer certaines hémorragies cérébrales en particulier quand les doses sont trop importantes, c'est ainsi qu'en fonction du terrain et de la dose, les résultats des études peuvent être divergents (Ferry et *al.*, 2012).

environ 12.5s) est suffisamment longue pour qu'il puisse finalement extraire un hydrogène à partir d'acide linoléique ou arachidonique, créant ainsi un radical d'acide gras puis un radical ROO° , qui déclenchera une nouvelle réaction en chaîne par autooxydation (Ingold et *al.*, 1993).

In vivo : Nitta et *al.* (1991), ont rapportés que l'administration sous-cutanée chronique de l' α -T à des souris et des rats ont induit des tumeurs, ainsi que son administration orale continue chez la souris à augmenter significativement l'incidence du cancer du foie.

En 1996, Kontush et *al.* ont réalisé une étude pour expliquer l'effet prooxydant de la vitamine E, *in vitro* et surtout *in vivo*; Leurs étude a porté sur l'oxydation des LDL du plasma (*in vivo*) et des LDL isolées (*in vitro*), de donneurs sains ou de patients atteints d'ataxie. Ils ont constaté qu'une supplémentation en α -T diminue l'oxydation au niveau du plasma et des LDL isolées dans des conditions oxydatives fortes (amorçées par une teneur élevée en Cu^{2+} et en 2,2 azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)). L'effet était indépendant de la présence d'ascorbate dans les échantillons. Par Contre, en présence de conditions d'oxydation modérées (quantités basses de Cu^{2+} ou AAPH), La supplémentation en α -T a diminué l'oxydation plasmatique seulement en présence de quantités physiologiques d'ascorbate.

Un effet prooxydant d' α -T a été démontré dans des Conditions oxydatives modérées dans le plasma fortement dilué et dans les LDL isolées.

Ces Résultats indiquent que le niveau de stress oxydatif et la concentration de co-antioxydants, Comme l'ascorbate, capable de régénérer l' α -T lors de l'oxydation des particules LDL, semble représenter des facteurs majeurs déterminant l'activité de l' α -T vers l'oxydation tant dans le Plasma humain que dans les LDL isolée.

Etude Expérimentale

Le présent travail a été réalisé d'une part au sein du laboratoire de centre d'élevage de l'institut Pasteur de Kouba(Alger) et d'autre part au niveau du laboratoire d'Anatomie pathologique de l'hôpital professeur Fares Yahia (Koléa-Tipaza) pour l'étude histologique, afin de mettre en évidence les effets de la supplémentation de l' α -T à des doses croissantes (500,600,650,700,.....et 1000 mg α -T/Kg d'aliment) sur la teneur en protéines, le taux en MDA et l'activité enzymatique de la catalase, ainsi que sur l'histologie du tissu hépatique chez les rats mâles de souches Wistar et ceci sur une période de 12 semaines.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

I.1.1.1. Conditions d'élevage

L'expérimentation a été réalisée sur 33 rats mâles de souche Wistar, afin d'éviter les variabilités inter-sexes. Ils ont été fournis par le centre d'élevage de l'institut Pasteur de Kouba (Alger). À leur arrivée, les rats, avaient un poids variant de 104mg à 150 mg répartis en 11 lots expérimentaux de 3 rats chacun, maintenus dans des cages individuelles munies d'une porte étiquette où est mentionné le nom du lot, le traitement subi et les dates de début de l'expérimentation (figure 10). La température de l'animalerie était de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, avec un cycle lumière /obscurité de 12h/12h et une hygrométrie de 35 %.

L'eau est donnée *ad libitum* dans des biberons adaptés aux cages. Les rats ont été soumis à une phase d'adaptation de (07) jours. Durant laquelle ils ont été nourris avec un régime standard sous forme de poudre.

Les cages sont nettoyées et la litière changée une fois tous les trois jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.



Figure 10: Répartition des rats en 11 lots (photo originale, 2020).

I.1.1.2. Expérimentation

Après la période d'adaptation, les rats ont été répartis en 11 lots de trois rats chacun, les rats ont été traités comme suit (tableau VI):

Tableau VI : Répartition des différents lots.

Lot	Lots et traitement
Lot 01	Est soumis à un régime standard (RS)
Lot 02	Est soumis à un régime standard supplémenté en 500mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₅₀₀)
Lot 03	Est soumis à un régime standard supplémenté en 600mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₆₀₀)
Lot 04	Est soumis à un régime standard supplémenté en 650mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₆₅₀)
Lot 05	Est soumis à un régime standard supplémenté en 700mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₇₀₀)
Lot 06	Est soumis à un régime standard supplémenté en 750mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₇₅₀)
Lot 07	Est soumis à un régime standard supplémenté en 800mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₈₀₀)
Lot 08	Est soumis à un régime standard supplémenté en 850mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₈₅₀)
Lot 09	Est soumis à un régime standard supplémenté en 900mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₉₀₀)
Lot 10	Est soumis à un régime standard supplémenté en 950mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₉₅₀)
Lot 11	Est soumis à un régime standard supplémenté en 1000mg d' α -T / kg d'aliment (lot RSE ₁₀₀₀)

I.1.1.3. Régime et α -T :

- Les rats sont nourris avec une nourriture standard qui a été fournis par l'Office National des Aliments de Bétail (ONAB) /Bouzareah, (Annexe B)est apportée aux animaux sous forme de poudre dans des boîtes de Pétries à raison de 30g d'aliments /jour/ un rat Une pesée régulière a été faite chaque (05) jour (figure 11).



Figure 11 : Aliments fourni aux rats sous forme de poudre (photo originale, 2020).

- L' α -T est acheté sous le nom commercial "NUTRIVA vitamines (figure)" et sous forme de poudre de 250 g (figure 12).



Figure 12: Vitamine E pure NUTRIVA (photo originale, 2020).



Figure 13: Vitamine E sous forme de poudre (photo originale, 2020).

I.1.1.4. Sacrifice et prélèvement

Au bout de 12 semaines de traitement, les rats sont sacrifiés après 12h de jeûne. Une pesée a été effectuée avant de l'anesthésiés par l'éther éthylique; Après la dissection des animaux on récupère le foie.

Le foie a été prélevé, rincer avec l'eau physiologique à 0.9%.Peser puis couper en plusieurs fragments, les uns sont destinés au dosage de quelques paramètres biochimiques (protéine, CAT et MDA) et conservé à une température de -20°C, et les autres fragments sont fixée dans le formol (10%) afin de réaliser l'étude histologique.

I.1.2. Matériel non biologique (Annexe C)

I.2. Étude histologique

Les coupes histologiques ont été traitées au niveau du laboratoire d'Anatomie pathologique de l'hôpital Professeur Fares Yahia (Koléa/Tipaza). La technique suivie par le laboratoire est celle de Martoja et *al.* (1967).

Elle requiert plusieurs étapes successives : Fixation, Déshydratation et clarification, inclusion et mise en bloc, confection des coupes et collage des rubans, Déparaffinage et Coloration, Montage et observation.

- **Fixation**

A pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur il s'agit du formol 10%. La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements (de quelques heures pour un petit fragment biopsique à plusieurs semaines pour un cerveau humain entier).

- **Déshydratation et clarification**

Les tissus doivent être préalablement déshydratés par des passages successifs dans des bains: Formol (dans un bain) ; Alcool de concentration croissante : 70% (dans un bain), 80% (dans un bain), 95% (dans un bain), 100% (dans deux bains), 110 % (dans un bain) puis dans un solvant dans lequel la paraffine est miscible le xylène (dans trois bains). À ce stade, le prélèvement devient transparent, c'est la clarification. À la fin de l'étape les prélèvements sont plongés dans deux bains de paraffine liquide pendant 4h qui occupera tous les espaces vides dans le tissu. Toutes ses étapes sont effectuées à l'aide d'un automate de traitement des tissu «Leica» (Figure 14). La durée est 2H pour chaque bain sauf le bain de formol 1H.



Figure 14: Automate de déshydratation (photo originale, 2020).

- **Inclusion et mise en bloc**

A pour but d'assurer la fixation du prélèvement et permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Cette opération fait appel à des appareils "dits à inclusion" refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse (figure 15).

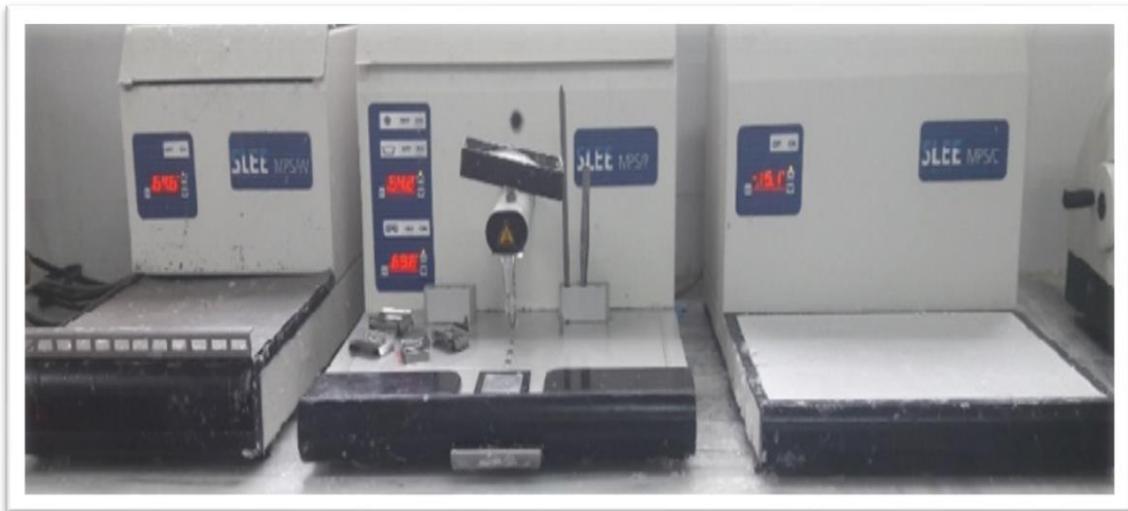


Figure 15: appareil d'enrobage (photo originale, 2020).

- **Confection des coupes et collage des rubans**

Les blocs de paraffine sont faits à l'aide d'un microtome du type «Leica» (figure 16) permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 μm d'épaisseur. Les rubans sont étalés dans un bain- marie (42°C) puis recueillies sur des lames en verre et ensuite séchés dans l'étuve réglée à 80°C pendant 20 à 30 min.



Figure 16: microtome (photo originale, 2020).

- **Déparaffinage et Coloration**

A pour but accentuer les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Ces étapes sont réalisées dans un automate spécial pour coloration, tout d'abord les coupes sont déparaffinées dans un bain de Xylène pendant 20 min puis hydratés dans trois bains d'alcool décroissant : 100° ; 95° ; 70° pendant 1min, 30s, 30s successifs ; ensuite elles sont passées dans un bain d'eau pour pouvoir être colorées.

Pour la coloration, on a utilisé la technique de l'Héματοxyline-Eosine (ou Hématéine Eosine). Cette étape est réalisée avec un automate de coloration (figure 17) où les coupes sont immergées dans un bain de Héματοxyline pendant 2 min c'est un colorant basique, qui se fixe aux acides nucléiques et colore ainsi les noyaux cellulaires et le réticulum endoplasmique rugueux en violet. Après le rinçage à l'eau courante pendant 5 min, elles sont passées dans un bain d'ammoniac pendant 15s; puis dans un bain d'Eosine pendant 5 min c'est un colorant acide, qui se fixe aux protéines et donc colore le cytoplasme en rose ensuite sont rincées une deuxième fois à l'eau courante pendant 10 min. Enfin elles sont passées dans les deux derniers bains : un bain d'alcool à 90% pendant 30s et un bain de xylène pendant 20 min.

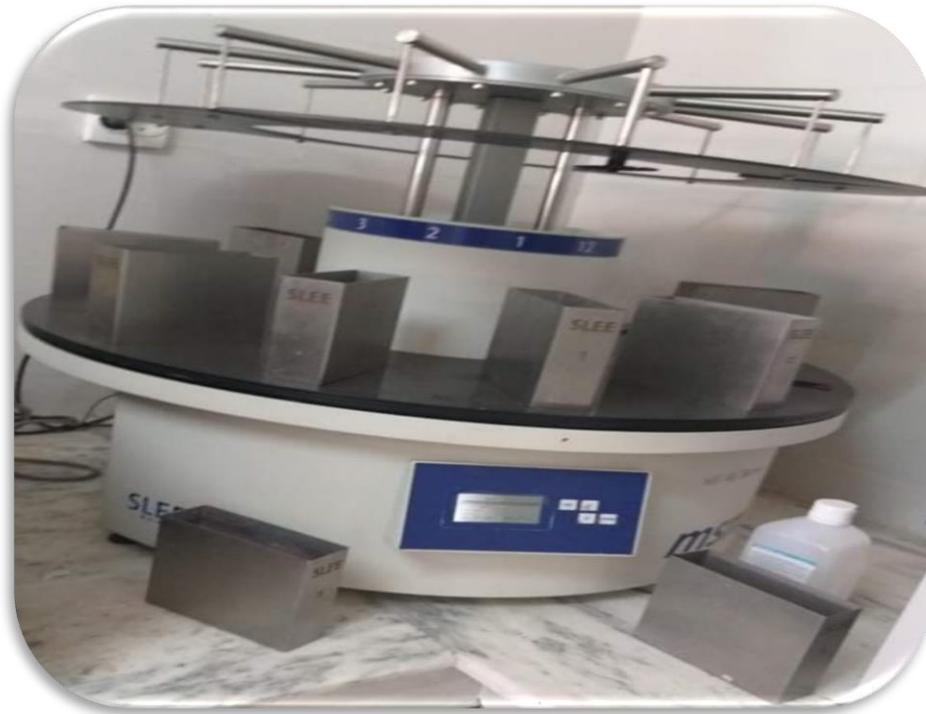


Figure 17: automate de coloration (photo originale, 2020).

- **Le montage et observation**

Une lamelle est fixée sur chaque coupe pour éviter l'oxydation des couleurs. Les lames sont séchées et nettoyées par le xylène.

Les coupes sont ensuite observées à l'aide d'un microscope optique « Leica » (Grossissement X 10 et X40) et prises en photos par un appareil intégré avec le microscope. Les photos sont par la suite analysées et discutées afin d'en tirer les conclusions de notre étude.

I.3. Méthodes

Le dosage de quelques paramètres biochimiques du stress oxydatif (protéine, MDA et l'activité enzymatique de la CAT).

I.3.1. Dosage des protéines

A. Principe

C'est une méthode ancienne mais encore largement utilisée car elle est très sensible et assez constante. Cette méthode a pour principe le fait que dans des conditions alcalines, les ions Cu^{2+} forment un complexe avec les liaisons peptidiques des protéines, ce qui permet la liaison du réactif de Folin-Ciocalteu sur les protéines. Cette liaison est réduite en hétéropolymolybdène par l'oxydation catalysée par le cuivre des acides aromatiques (la tyrosine, le tryptophane et la cystéine) pour donner des complexes colorés: le bleu de molybdène et peut être mesurée par un spectrophotomètre à 750 nm. Ainsi la DO obtenues à cette longueur d'onde permettent de déterminer les concentrations des échantillons analysés en faisant une projection sur une courbe d'étalonnage $\text{DO} = f(\text{C})$ (Solution d'albumine à 1mg/ml) (Lowry et *al.*, 1951).

B. Mode opératoire

a) Extraction des protéines

- Préparer 9 ml d'une solution de triton X-100 (0.5%) qui sont ajoutées à 100mg d'échantillon du foie, l'ensemble est homogénéisé par un broyeur homogénéisateur de Potter Thomas pendant 30 seconds sous glace.
- 1ml de TCA à 1% est mis dans un tube en verre contenant 100 μl de l'homogénat, on centrifuge à 4000 tr/min pendant 15 min.
- Par la suit, le surnageant est éliminé, et le culot est repris dans 1ml de TCA à 1% et centrifugé à 4000tr/min pendant 15min.
- Encore une fois, le surnageant est éliminé, les bords supérieurs des tubes sont séchés avec du papier filtre, le culot est repris dans un mélange d'alcool/éther (v/v) et centrifugé à 4000 tr/min pendant 5min.
- Le surnageant est jeté, les bords supérieurs des tubes sont séchés par la suite avec du papier filtre.
- Lavage avec 1ml d'éther éthylique, et centrifugation à 4000 tr/min pendant 5min, le culot parfaitement séché à l'air chaud, est repris dans 1 ml de NaOH (1M) et conserver au réfrigérateur jusqu'au dosage des protéines.

b) Dosage

- Ajouter 1ml de la solution (A) (Annex4.1) à 200 µl d'homogénat, l'ensemble est agité au vortex.
- Incuber l'échantillon pendant 10 minutes à température ambiante.
- Mettre le mélange en présence de 100 µl de réactif de la solution B (Annexe4.2).
- Après 45 minutes, la densité optique à 750 nm est mesurée au spectrophotomètre contre l'eau bi-distillée (blanc).

c) Préparation de la courbe étalon

Préparer une gamme étalon à partir d'une solution d'albumine sérum bovin (BSA) à 1 mg/ml dans une série de huit (8) tubes contenant des volumes croissant de la solution BSA allant de 0 à 200µl, complété avec de l'eau distillée (tableau VII).

Tableau VII : Préparation du courbe étalon

Les tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
BSA(mg/ml)	0	10	25	50	75	100	150	200
H2O (1ml)	200	190	175	150	125	100	50	0
BSA (1ml)	0	10	25	50	75	100	150	200

I.3.2. Dosage du Malondialdéhyde**A. Principe**

Le malondialdéhyde (MDA) est mesuré selon la méthode de Draper (1993), il représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène est obtenue à une longueur d'onde de 532 nm.

B. Mode Opérateur

La procédure expérimentale du dosage du MDA, est la suivante :

- 1ml de TCA à 10 % est mis dans un tube à essai, contenant 200 µl d'homogénat.
- Les 100 µl de Butyle-hydroxotoluène (BHT) à 500 ppm sont ajouté au mélange.
- Le mélange est mis à ébullition dans un bain- marie à 100°C pendant 30 min.
- Après refroidissement, le mélange est centrifugé à 4000 tr/min pendant 10 min.
- Un volume du surnageant est récupéré, auquel est ajouté un même volume d'une solution aqueuse de TBA saturée.
- Ce mélange est mis à ébullition dans un bain -marie à 100°C pendant 30 min.
- Après refroidissement, la densité optique est mesurée à 532 nm.

C. Expression des résultats

La concentration du MDA est déterminée en utilisant la formule suivante :

$$[\text{MDA}] = \text{DO} \cdot 22 / [\text{X}]$$

[MDA]: concentration en MDA (µmol/min/mg de protéines).

DO: absorbance à 532 nm.

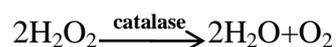
22: facteur de calcul

[X]:concentration en protéines (mg).

I.3.3. Dosage de l'activité de la catalase

A. Principe

L'activité de la catalase consiste à mesurer la disparition de H₂O₂ induite par la catalase contenue dans l'échantillon (Aebi, 1984).Selon la réaction suivante:



En mesurant l'absorbance de H₂O₂ à 240nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible.

B. Mode opératoire

a) Préparation des solutions de dosage (Annexe D)

Tableau VIII: Concentrations et quantités de réactifs nécessaires au dosage de l'activité de la catalase.

	Témoin (Blanc)	Essaie
Tampon phosphate (50mM ;pH=7)	1000 µl	970 µl
H₂O₂ (30mM)	1000 µl	1000 µl
Homogénat	/	31 µl

A. Expression des résultats

L'activité enzymatique de la CAT est calculée en termes d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI/min/g de protéine), selon la formule :

$$\text{L'activité de CAT } (\mu\text{mol/min/mg de protéine}) = \left[\frac{V}{v} \times x \left(\frac{2.3}{\Delta t} \right) \times \log\left(\frac{A_1}{A_2}\right) \right] / x$$

- V: volume de l'échantillon.
- v: volume total.
- Δt: temps de décomposition du H₂O₂ (15s)
- A1: Absorbance de la première minute à t = 0s
- A2: Absorbance de la deuxième minute à t = 30s
- x : mg de protéine

I.3. Etude statistique

Nous avons réalisé une analyse comparative du taux d'évolution entre les lots expérimentaux et lots témoin.

Les données obtenues pour les différentes mesures ont été soumises à l'analyse statistique par le test de T-student par logiciel XLSTAT. En comparant les moyennes des différent Lots expérimentaux. Les résultats sont exprimés comme: moyenne plus ou moins l'écart type et sont considérés comme :

- Significative lorsque (P≤0,05).
- Très significative lorsque (P≤0,01).
- Hautement significative lorsque (P≤0,001).

Avec (P) : seuil de signification.

I. Modifications physiologiques

I.1. Symptomatologie

Dans la présente étude nous avons observé chez les rats nourris avec un régime standard (RS) et supplémenté en doses croissantes d' α -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg d' α -T /1kg d'aliments) et ceci après 12 semaines de traitement, aucun symptôme spécifique (diarrhées, perte de poiles...), l'absence de tels symptômes montre que les doses utilisées dans cette étude n'ont pas influencés le métabolisme du rat. Notons que nos résultats corroborent avec l'étude réalisé par Hanck en 1986, cette dernière n'a montrée aucun changement physiologique de l'administration de doses élevées en vitamine E (2000mg/kg chez le lapin, 5000 mg/kg chez le rat et 50000 mg/kg chez les souris).

En effet, Abdo et *al.* (1986), ont observé des diarrhées, une inappétence et une réduction de la prise alimentaire chez des rats Wistar traité par des doses croissantes de vitamine E(125, 500 ou 2000 mg de vit E/kg de régime), ils ont également signalé la mort de sept des dix rats traités par la dose 2000mg/kg après 9 à 11 semaines.

I.2. Effets de la supplémentation d'un régime en différentes doses d' α -tocophérol sur les paramètres pondéraux

Un suivie pondéral a été réalisé lors des 12 semaines de traitement et a permis de calculer le taux d'évolution du poids corporel, notons que le poids hépatique a été déterminé juste après sacrifices.

A. Variation du taux d'évolution du poids corporel

Le suivi de la variation du taux d'évolution du poids corporel des différents lots de rats soumis à un RS supplémenté en α -T est représenté figure 18.

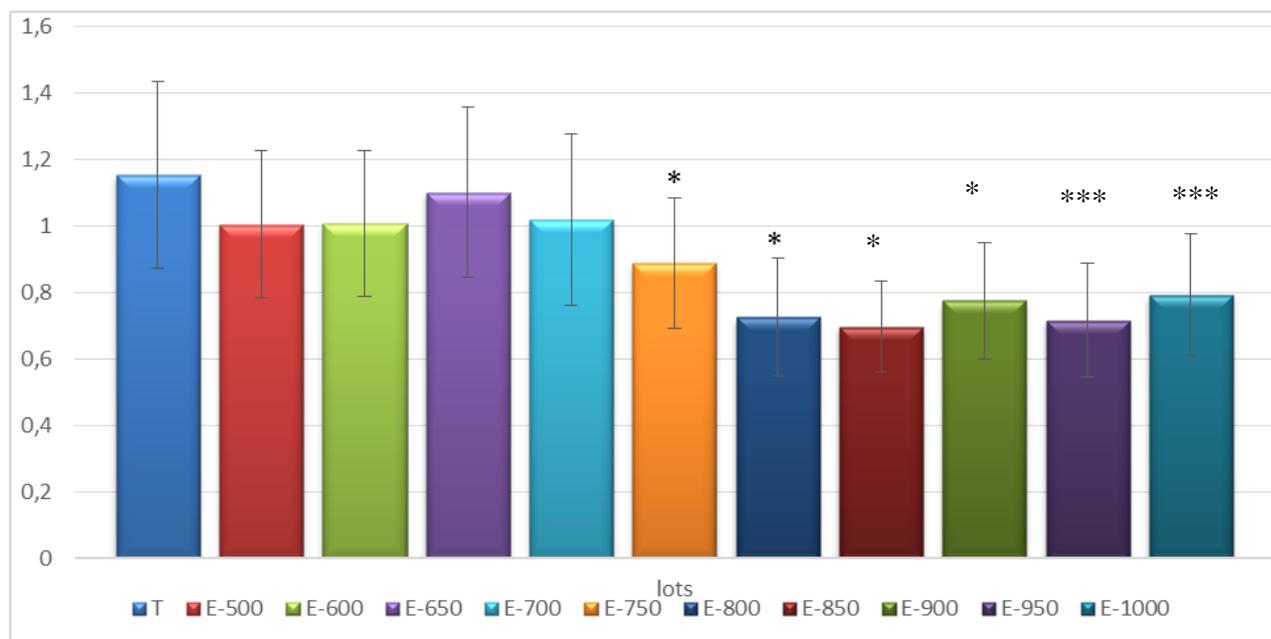


Figure 18: Effets de la supplémentation d'un régime standard en α -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg/kg d'aliments) sur le taux d'évolution du poids corporel des rats. Chaque barre représente le taux d'évolution \pm écart type (* $p < 0.05$: significative; *** $p < 0.001$: hautement significative).

Après 12 semaines de traitement les résultats que nous avons obtenus montrent une variation non significative du taux d'évolution de la croissance chez les lots traités avec des doses de 500, 600, 650, 700 mg d' α -T/kg d'aliments par rapport au témoin. Par contre nous avons noté une baisse significative pour les lots traités avec les doses 750, 800, 850, 900mg d' α -T/kg d'aliments et une baisse hautement significative pour les lots traités par 950 et 1000 mg d' α -T/kg d'aliments toujours par rapport au témoin.

Nous émettons l'hypothèse que cette diminution du taux d'évolution du poids corporel de manière significative peut être due à l'inappétence des rats traités avec des doses élevées en α -T, et qui ont eu un effet néfaste sur la progression du poids, mais également au fait que les acides aminés réagissent avec les produits primaires et secondaires des lipides oxydés ce qui diminue l'utilisation digestive des protéines, des acides aminés et des graisses.

Nos résultats corroborent avec ceux de Garrido-Polonio et *al.* (2004), qui lors de leurs études ont montré que l'administration de 600 mg d' α -T/kg d'aliment, prévient la perte de poids protégeant ainsi les organes contre les dommages causés par les RL, elle inhiberait la peroxydation des lipides membranaires en captant les radicaux pyroxyles lipidiques.

Le taux d'évolution concernant les lots de 750 à 900 mg d' α -T/kg d'aliment a baissé d'une manière significative, par contre celui des lots de 950 et 1000 mg d' α -T/kg d'aliment a baissé d'une manière hautement significative, ces résultats s'accordent avec ceux de Yang et Desai (1977), qui ont observés une diminution de 18% du poids corporel chez des rats femelles de souche Wistar nourris avec un régime supplémenté en 2500 UI d' α -T / kg (1666mg d' α -T/kg d'aliment) sur une période de 8 mois.

Précisons que Dahdouh *et al.* en 2014, ont obtenu une diminution significative du poids corporel chez des souris suisses adultes de souche albinos âgées de 60 jours, traitées avec une dose de 2.7 g de Nickel et supplémenté avec 1g d' α -T/ kg de régime.

Notons que nos résultats ne corroborent pas avec ceux obtenus par Abdo *et al.*, (1986), qui ont montré que lors de l'administration de doses croissantes d' α -T (125, 500 et 2000 mg d' α -T /kg d'aliment) à des rats mâles et ceci pendant 13 semaines n'a eu aucun effet sur le poids corporel, ils ont émis l'hypothèse qu'il n'y avait pas de lien entre les doses élevées en α -T et la croissance pondérale. Eder *et al.* (2002), ont également constaté que la croissance n'a pas été affectée chez des rats mâles Sprague-Dawley en croissance, nourris avec des régimes supplémentés en trois doses différentes de vitamine E (100, 1000 et 10 000 mg d' α -T/ kg d'aliment) et ceci pendant 8 semaines.

Enfin Wheldon *et al.* en 1983, montrent que pendant deux ans, un régime alimentaire quotidien supplémenté à 1000mg d' α -T/kg d'aliments chez des rats Charles River n'affecte pas leurs croissances comparativement aux témoins.

B. Variation du poids du tissu hépatique

La variation du poids du tissu hépatique des rats témoins et traités par différentes doses d' α -T est représentée Figure 19.

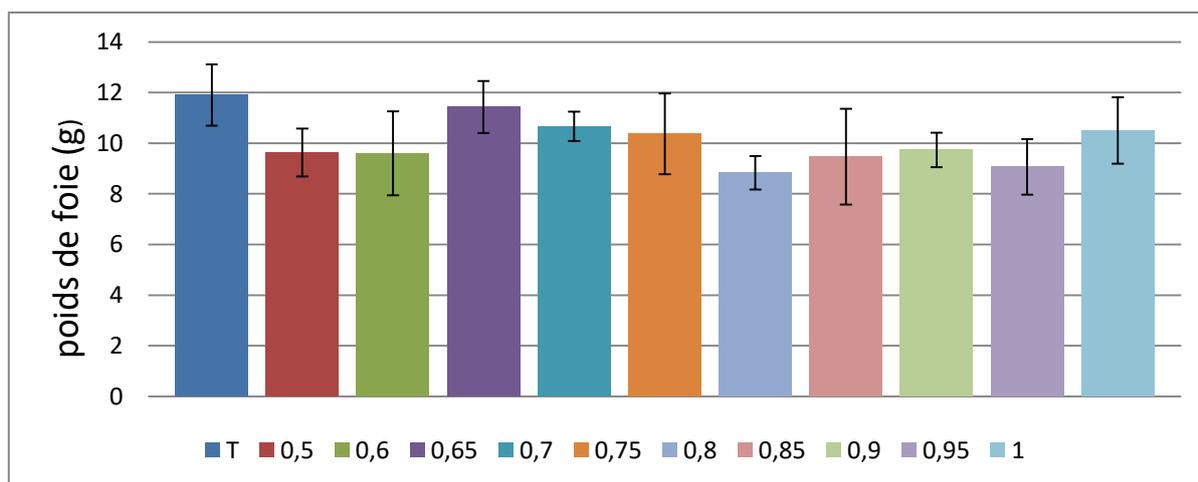


Figure 19 : Effets de la supplémentation d'un régime standard supplémenté en α -T (500,600, 650, 700, 750, 800, 850, 900,950 et 1000 mg/kg d'aliment) sur le poids du tissu hépatique chez les rats. Chaque barre représente la moyenne \pm SE.

Les résultats que nous avons obtenus lors de l'étude de la variation du poids hépatique, ont montré une baisse non significative pour l'ensemble des lots d'aliment et ceci par rapport au lot témoin (figure 19). Nous pouvons avancer que ces doses n'ont pas affecté le poids hépatique, cela est dû peut être au fait que la durée d'expérimentation n'était pas assez longue, mais aussi que les doses administrées n'étaient pas assez élevées et donc ont été bien tolérées par l'animal.

Notons que nos résultats ne corroborent pas avec ceux de Nascimento et *al.* (2010), qui ont réalisé une étude qui avait pour objectif de déterminer l'effet d'une dose pharmacologique de vitamine E sur le tissu cardiaque de rats wistar adultes. Ils ont montré que l'administration de 250 mg d' α -T /Kg de rat/jour sur une période de 7 semaines a entraîné une réduction du poids du tissu cardiaque d'une manière significative comparé à celui du témoin.

En 1977, Yang et Desai ont obtenu une diminution significative des poids du cœur et de la rate chez des rattes Wistar, traitées avec une forte dose de vitamine E 2500UI et sur une durée de 8 mois. Par contre, en 1983, Wheldon et *al.* ont montré que la supplémentation avec une dose de 1000 mg d' α -T kg d'aliment chez des rats femelles, induisait une augmentation significative du poids du foie. Trois ans plus tard une étude menée par Abdo et *al.* (1986), a montré une hypertrophie du foie chez des rats femelles nourris avec un régime supplémenté en 2000 mg d' α -T/ kg d'aliment.

II. Effets de la supplémentation d'un régime en α -T à différentes doses sur l'histologie du tissu hépatique chez les rats

L'histologie du tissu hépatique de rats de souche Wistar, traités par différents régimes (doses croissantes en α -T) et après 12 semaines de traitement a révélé les résultats Figure 20 à 29 :

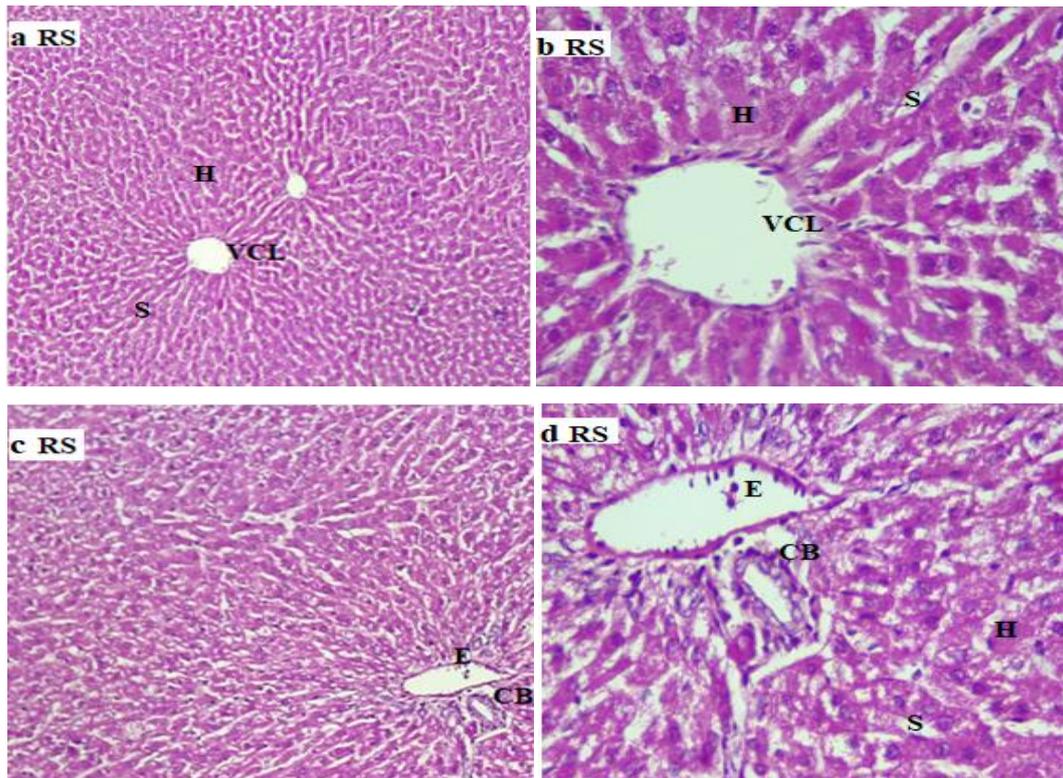


Figure 20(a, b, c et d) : Micrographies du foie des rats du lot RS (a et c: 10 \times , b et d: 40 \times) montrant une architecture normale du parenchyme hépatique (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; E: espace porte; CB: canal biliaire; S: sinusoïde)

Les coupes histologiques du lot témoin, illustrées dans la figure 20(a, b, c et d) ont montré une architecture hépatique normale: le parenchyme hépatique est constitué de lobules, schématiquement hexagonaux, ces derniers sont centrés par une veine centro lobulaire, les hépatocytes sont disposés en travées et séparés par les sinusoides figure 20 (a et b). Un espace présent à chaque sommet de lobule dont chacun contient un petit canal biliaire figure 20 (c et d).

Concernant les lots traités par des doses en α -T allant de 500 à 650 mg d' α -T/ kg d'aliment (Figure 21 a et b, Figure 22a et b) la même structure que celle du témoin est retrouvée, c'est-à-dire une architecture bien conservée des cellules hépatiques, des sinusoides convergent vers la veine centro lobulaire qui est non dilatée.

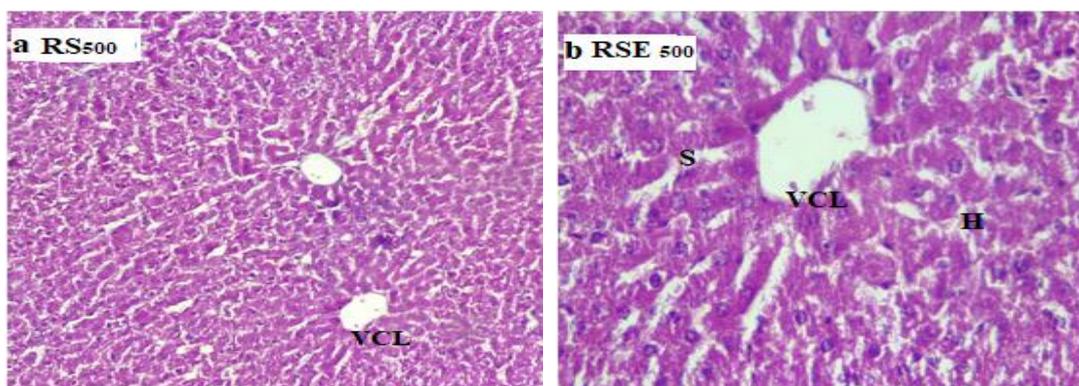


Figure 21(a et b): Micrographies du foie des rats du lot RSE500 (a : 10×, b : 40×) montrant une architecture normale (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; S: sinusoides)

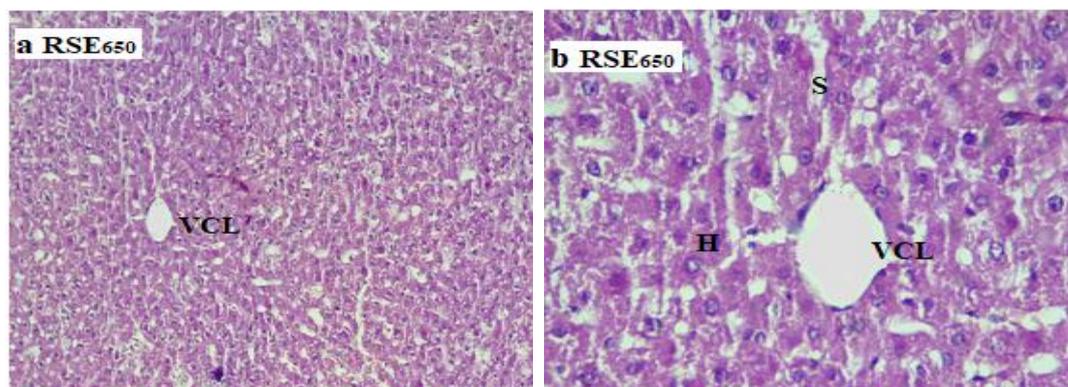


Figure 22 (a et b): Micrographies du foie des rats du lot RSE650 (a: 10×, b: 40×) montrant une architecture normale (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; S: sinusoides).

Ces observations montrent la fonction principale de l' α -T qui a un rôle protecteur contre les effets délétères des RL, elle prévient la peroxydation des phospholipides membranaires ainsi que les dommages membranaires, via l'activité antioxydante et ceci pour des doses modérées (500 à 650 mg d' α -T/ kg de régime).

En effet, selon Ferry et *al.*(2012), la vitamine E est l'un des antioxydants les plus puissants, elle protège les membranes cellulaires des effets de la peroxydation. Elle interrompt le phénomène de peroxydation lipidique en captant les radicaux peroxydes et en prévenant la

propagation du processus de la lipoperoxydation. Ainsi, l'activité antioxydante de la vitamine E a la capacité d'éviter l'apparition de maladies chroniques, particulièrement celles causées par un composant du stress oxydatif, comme les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, le cancer et les maladies neurodégénératives (Stampfer et *al.*, 1993; Nwanguma et *al.*, 1998).

La fonction antioxydante de la vitamine E permet d'éviter l'oxydation des structures auxquelles elle se trouve associée, de protéger ainsi non seulement le caractère essentiel des AGPI, mais aussi l'intégrité de la structure des protéines et des nucléotides (Léger, 2000). De plus elle a un rôle dans la relaxation des vaisseaux sanguins et elle empêche l'agrégation des plaquettes (Verhagen et *al.*, 2006).

Nos résultats corroborent avec ceux de Rouaki et Kanane (2019), qui ont réalisé une étude sur des rats nourris avec un régime contenant 5% d'huile oxydée et supplémenté avec 600 mg d' α -T/kg de régime, et quia montrée une augmentation hautement significative de l' α -T parallèlement à une diminution significative du taux en LPO ce qui laisse penser que la vitamine E a joué un rôle crucial dans la neutralisation des hydroperoxydes de l'huile oxydée.

En 2014, Araoud et *al.* ont réalisé une étude sur un groupe de rats males de 4 semaines, à qui ont administré de l' α -T dissous dans de l'huile de maïs à une dose de 200mg / Kg du rat / jour, les résultats ont montré aucune modification histologique du foie avec un arrangement normal des hépatocytes.

Les Figures 23(a, b, c et d), Figure 24 (a et b) et Figure 25 (a et b) représentant l'histologie hépatique des lots 700, 750 et 800 respectivement, montrent un effet prooxydant modéré de l' α -T, ceci est traduit par la congestion et la dilatation de la veine centro-lobulaire, des congestions sinusoidales, des vacuolisations cytoplasmiques, ainsi que la présence d'infiltration lymphocytaire et des lésions des membranes hépatocytaires.

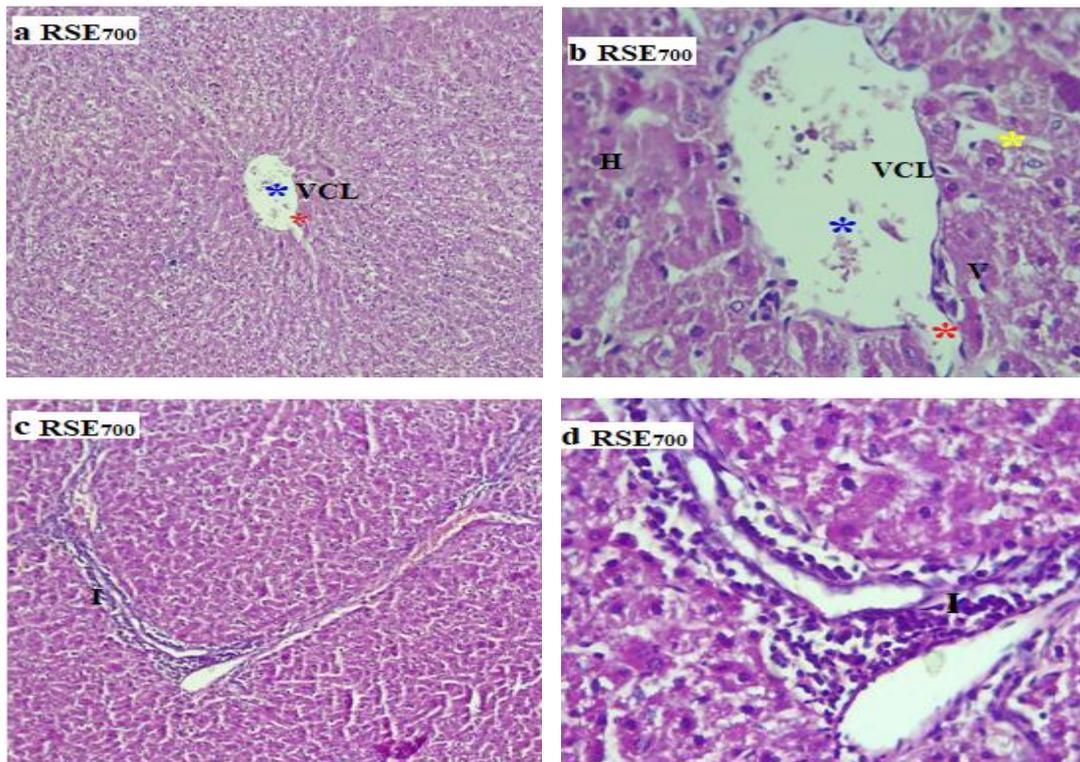


Figure 23 (a, b, c et d) : Micrographies du foie des rats du lot RSE700 (a et c: 10×, b et d: 40×) montrant une architecture désorganisée (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; V: vacuolisations cytoplasmiques; le rouge: dilatations de la veine centro-lobulaire; le bleu: congestions de la veine centro-lobulaire; le jaune: congestions sinusoidales; I: infiltration lymphocytaire)

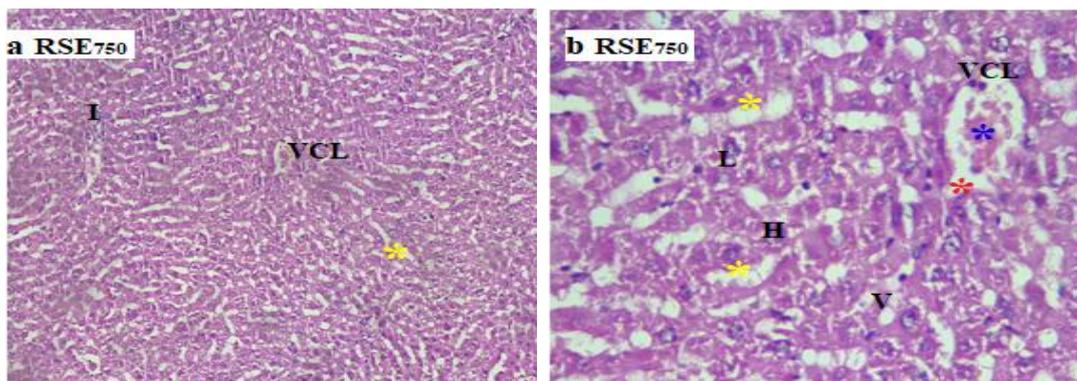


Figure 24 (a et b): Micrographies du foie des rats du lot RSE750 (a: 10×, b: 40×) montrant une architecture désorganisée (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; V: vacuolisations cytoplasmiques; I: infiltration lymphocytaire; L: lésion de la membrane hépatocytaire; le rouge: dilatations de la veine centro-lobulaire; le bleu: congestions de la veine Centro-lobulaire; le jaune: congestions sinusoidales)

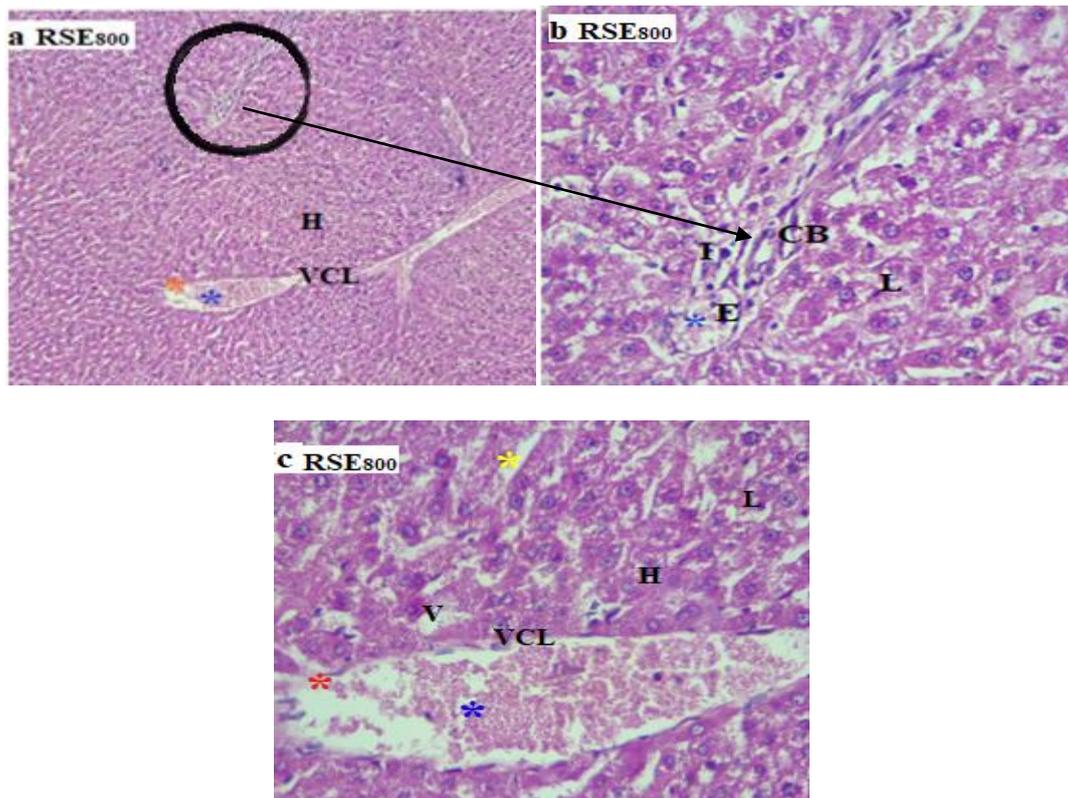


Figure 25 (a, b et c): Micrographies du foie des rats du lot RSE800 (a: 10×, b et c: 40×) montrant une architecture désorganisée (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; V : vacuolisations cytoplasmiques; I: infiltration lymphocytaire; L: lésion de la membrane hépatocytaire; E: espace porte; CB: canal biliaire; le rouge: dilatations de la veine Centro-lobulaire; le bleu: congestions de la veine centro-lobulair; le jaune: congestions sinusoidales)

L'ensemble des figures 26 à 29, montrent une augmentation de la sévérité de l'effet prooxydant de l' α -T pour les doses allant de 850 à 1000mg d' α -T/kg d'aliment, Nous avons observé la présence de nombreuses congestions et dilatations de la veine centro lobulaire, de multiples congestion sinusoidales, la présence d'œdèmes, également des vacuolisations cytoplasmiques, des infiltrations lymphocytaires ainsi que des lésions des membranes hépatocytaires.

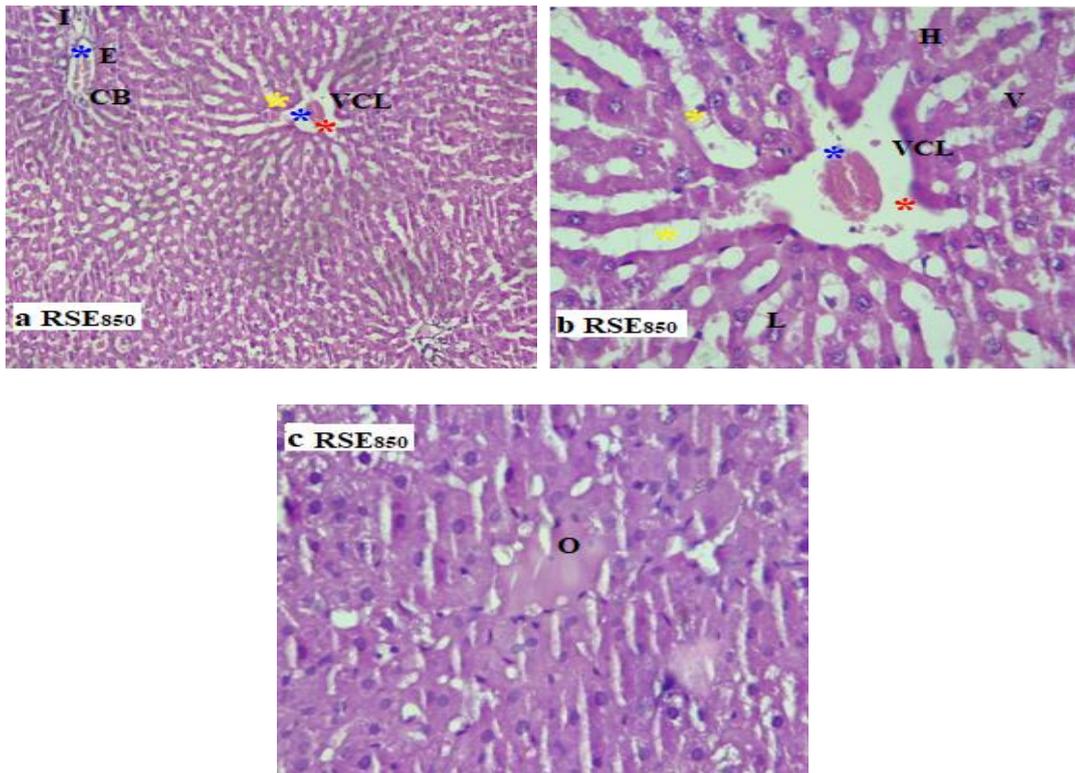


Figure 26 (a, b et c): Micrographies du foie des rats du lot RSE850 (a: 10×, b et c: 40×) montrant une désorganisation plus importante de l'architecture du foie (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; V: vacuolisations cytoplasmiques; I: infiltration lymphocytaire; L: lésion de la membrane hépatocytaire; E: espace porte; CB: canal biliaire; O: œdème; le rouge: dilatations de la veine Centro-lobulaire; le bleu: congestions de la veine centro-lobulaire; le jaune : dilatations sinusoïdales)

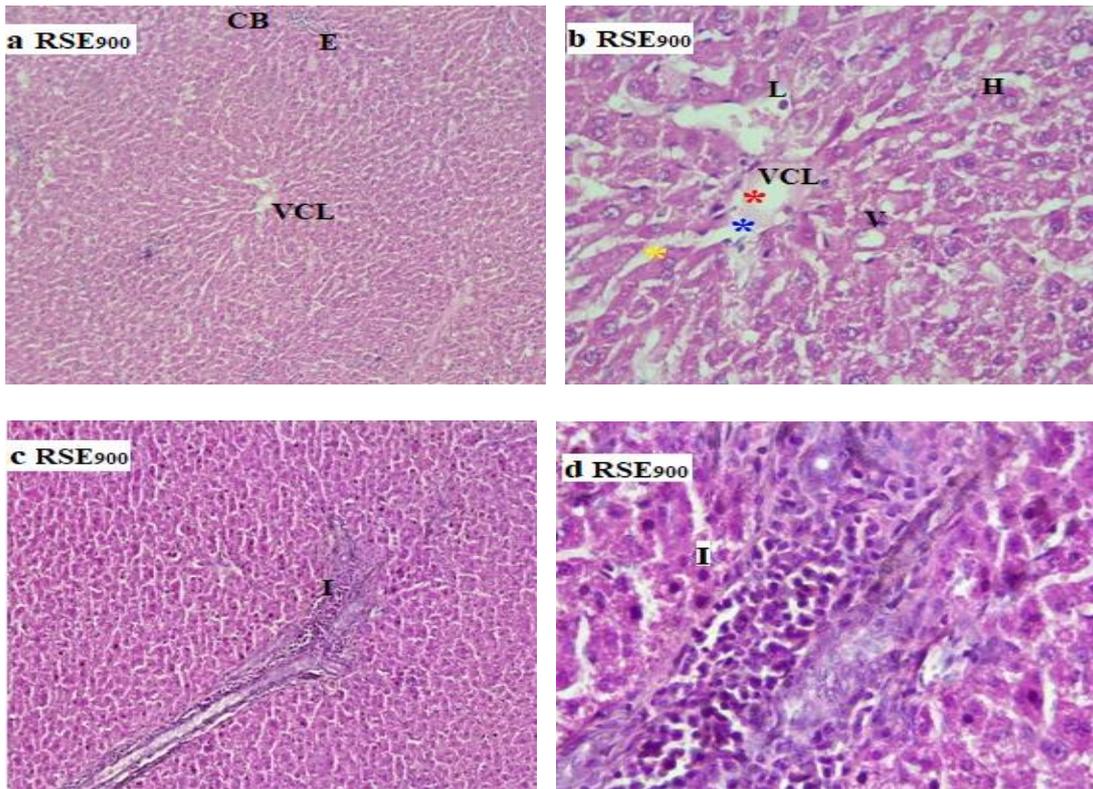


Figure 27 (a, b, c et d): Micrographies du foie des rats du lot RSE900 (a et c: 10×, b et d: 40×) montrant une désorganisation plus importante de l'architecture du foie (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; V: vacuolisations cytoplasmiques; I: infiltration lymphocytaire; L: lésion de la membrane hépatocytaire; E: espace porte; CB: canal biliaire; le rouge: dilatations de la veine centro-lobulaire; le bleu: congestions de la veine Centro-lobulaire; le jaune: congestions sinusoidales)

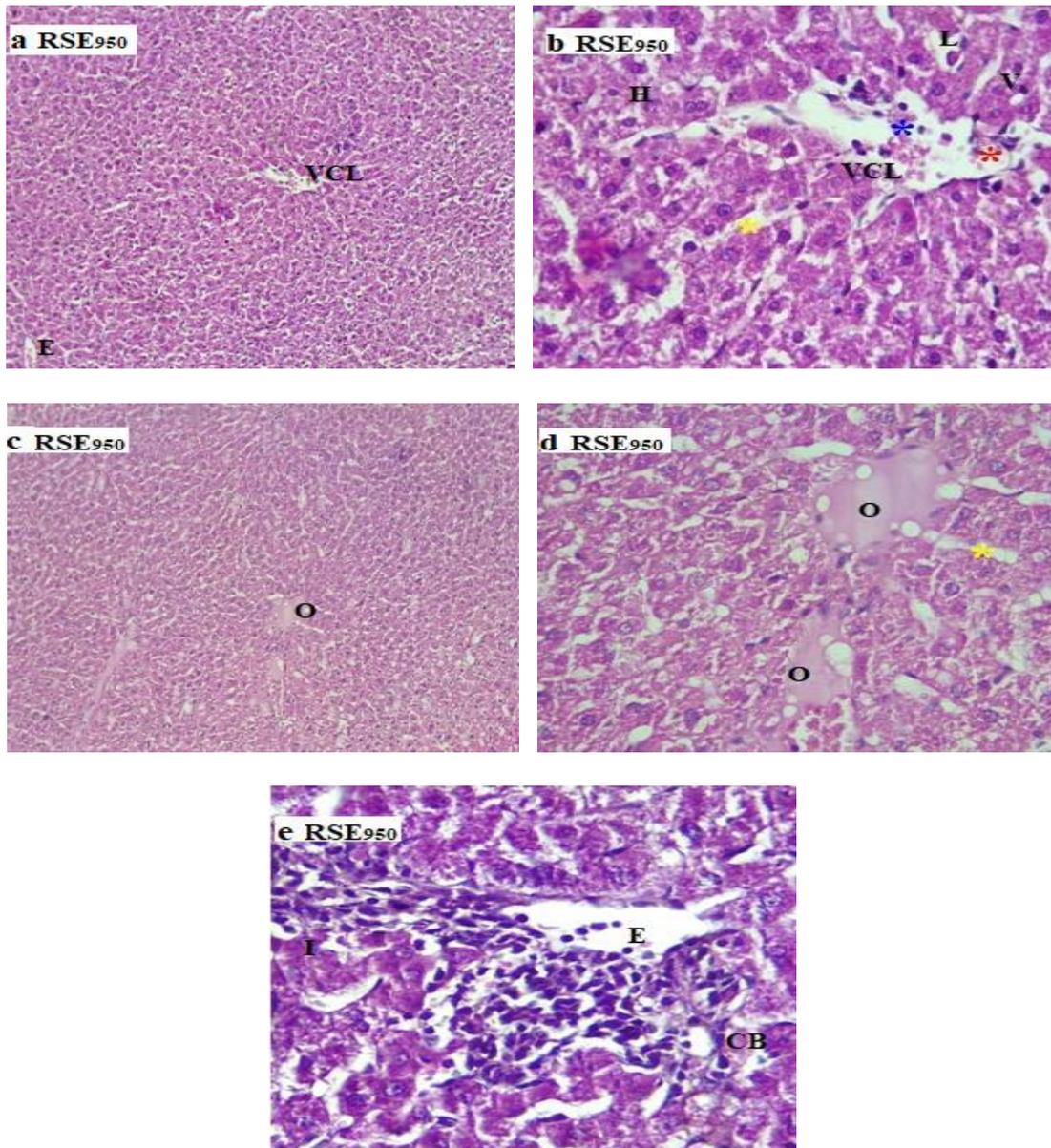


Figure 28 (a, b, c, d et e): Micrographies du foie des rats du lot RSE950 (a et c: 10×, b, d et e: 40×) montrant une désorganisation plus importante de l'architecture du foie (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; V: vacuolisations cytoplasmiques; I: infiltration lymphocytaire; L: lésion de la membrane hépatocytaire; E: espace porte; CB: canal biliaire; O: œdème; le rouge: dilatations de la veine centro-lobulaire; le bleu: congestions de la veine Centro-lobulaire; le jaune: congestions sinusoidales)

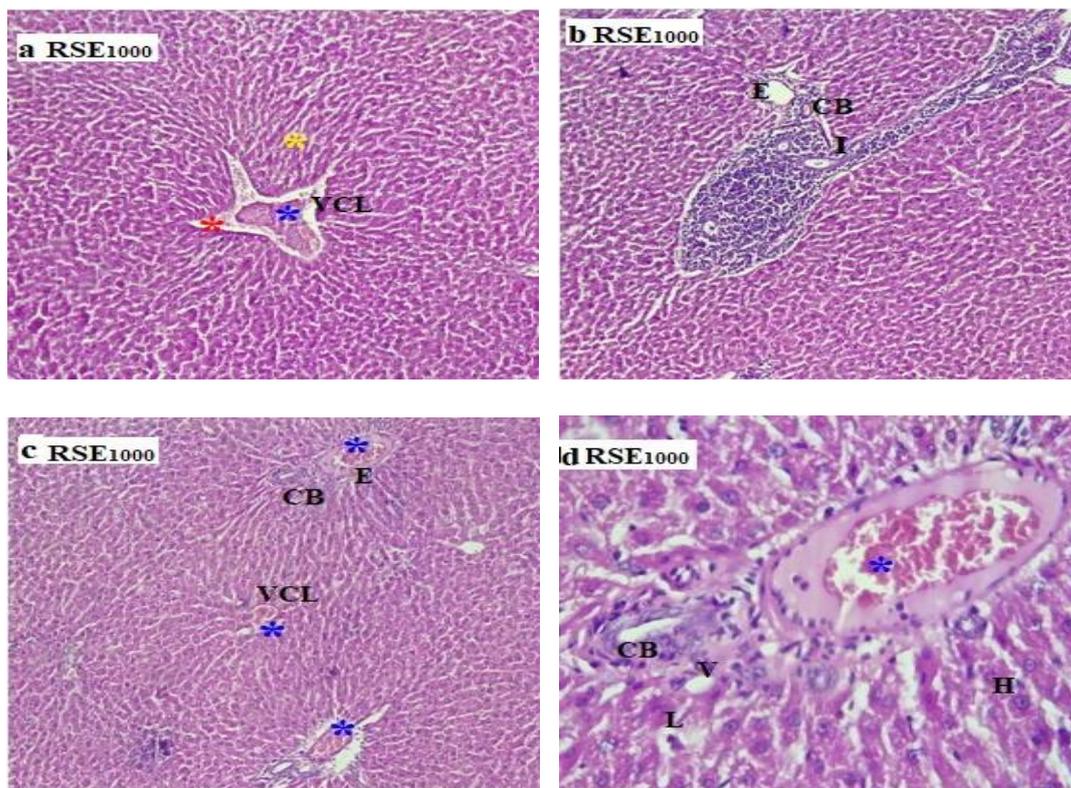


Figure 29 (a, b, c et d): Micrographies du foie des rats du lot RSE1000 (a, b et c: 10×, d: 40×) montrant une désorganisation plus importante de l'architecture du foie (VCL: veine centro lobulaire; H: hépatocyte; V: vacuolisations cytoplasmiques; I: infiltration lymphocytaire; L: lésion de la membrane hépatocyttaire; E : espace porte; CB : canal biliaire; le rouge : dilatations de la veine centro-lobulaire; le bleu: congestions de la veine Centro-lobulaire; le jaune: congestions sinusoidales)

L'histologie du foie des lots traités par des doses élevées en α -T allant de 700 à 1000 mg d' α -T /kg d'aliment, a révélé des altérations histologiques et une désorganisation de l'architecture du foie, cette désorganisation indique que l' α -T a eu des effets néfastes à doses élevées, ce qui a affecté les lipides des membranes cellulaires en dilatant les veines. Nous émettons l'hypothèse que ces altérations peuvent affecter la fonction hépatique et contribuer à un dysfonctionnement cellulaire de cet organe.

D'après, Kontush et *al.* (1996), les états d'oxydations modérées et en absence d'autres co-antioxydants tels que l'ascorbate, l' α -T se comporte comme un prooxydant en favorisant le taux de peroxydation des lipides dans le plasma humain et l'oxydation des LDL *in vitro*. Ils ont postulé que dans les circonstances mentionnées ci - dessus, le radical α -T \cdot ne pouvait pas former des composés stables en se combinant avec un autre radical libre ou en faisant don

d'un électron libre à un autre antioxydant. Par conséquent, elle interagit avec d'autres macromolécules telles que des lipides, ce qui génère plus de RL. Ainsi la fonction antioxydante de l' α -T dépend des conditions du stress (modérées ou fortes) et la présence de co - antioxydants. En effet Upston et *al.* (1999), ont montré que l'augmentation de la concentration en α - T aboutit à l'augmentation des radicaux α - T• qui peuvent amorcer la cascade de peroxydation lipidique. Quand le système antioxydant est équilibré, cette action prooxydante de l' α -T• est inhibée par les co-antioxydants. Cependant, les concentrations élevées d' α - T•, ne peuvent plus être efficacement désintoxiquées par les co-antioxydants (Stocker, 1999).

En 2010, Nascimento et *al.* ont étudié l'effet d'une dose pharmacologique d' α -T sur le tissu cardiaque de rats Wistar adultes. Deux groupes ont été constitué un groupe témoin et un autre qui recevait par gavage 250 mg d' α 'T/kg de poids de rat/jour, pour des rats dont le poids variait de 350 à 400 g, soit environ une quantité d' α -T variant de 87.5 à 100 mg/rat/jour et ceci pendant 7 semaines. Les coupes histologiques n'ont montré aucun changement cellulaire chez le lot témoin par contre pour le lot supplémenté en α -T, des dommages cellulaires importants sont apparents et montrant une désorganisation morphologique des myocytes ainsi que la présence d'œdèmes. Ces auteurs déduisent qu'une telle dose d' α -T induit une cardiotoxicité chez les rats Wistar sains, traduit par des changements au niveau du tissu cardiaque accompagnés de la nécrose des cardiomyocytes. Ils rapportent également que les effets néfastes obtenus dans cette étude sont dus à des doses non physiologiques d' α -T. Ainsi la fonction antioxydant de l' α -T dépend des conditions du stress (modérées ou fortes) et la présence de co-antioxydants.

Une étude menée par Henrotin et *al.* en 2005, avait pour objectif l'évaluation de l'activité prooxydante du radical l' α -T•; pour sa réalisation des microsomes hépatiques de rats mâles adultes de souche Sprague-Dawley, ont été incubé avec 100 μ M d' α -T, les résultats de cette étude ont montré la présence de peroxydation lipidique des microsomes.

III. Effets de la supplémentation d'un régime en différentes doses d' α -T sur quelques paramètres biochimiques de stress oxydatif

Il a été prévu au départ de la présente étude que le dosage de paramètres biochimiques liés au stress oxydatif (les protéines, LPO, Catalase) soit réalisé, mais malheureusement cela n'a pas pu se faire en raison de l'épidémie du COVID et du confinement imposé par l'Etat. Néanmoins, nous essayerons en se basant sur des études faites et se rapprochant à la nôtre de prévoir l'évolution de ces paramètres biochimiques :

III.1. Effets de la supplémentation d'un régime en doses différents d' α -T (500-600-650 mg α -T /kg d'aliment) sur la teneur en LPO et l'activité de la catalase du tissu hépatique

Les résultats obtenus lors de l'étude histologique laissent supposer une baisse du taux en LPO, sachant que c'est un produit issu de la peroxydation des acides gras polyinsaturés, cette baisse peut être due aux doses modérées d' α -T (500 – 600 - 650 mg) administrés aux rats ; cette vitamine pour ces doses a eu pour effet un scavengers, protégeant ainsi le foie contre les attaques des RL. Concernant la catalase nous aurions obtenu une stabilité de son activité par rapport au lot RS, vue l'absence d'un stress oxydatif et ceci modulé par la présence de doses adéquates en α -T.

Les résultats que nous nous attendions à obtenir auraient corroboré avec ceux de Hajiani et *al.* (2008), qui ont étudié l'effet prooxydant de la vitamine E chez des rats males de souche Sprague-Dawley, auxquels ils ont administré par voie intramusculaire bihebdomadaire des doses croissantes d' α -T (100,300 et 600 mg/kg d' α -T) et sur une période de 2,4 et 6 semaines. Ils ont obtenu un effet antioxydant de cette vitamine et ont déduit qu'elle pouvait aidée à l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes (CAT, SOD et GPx).

Selon Bowry et Stocker (1993), la vitamine E doit son effet biologique à sa fonction comme antioxydant liposoluble, prenant en charge la majorité des RL.

De nombreuses études viennent confirmer le rôle antioxydant puissant de cette vitamine, nous en citerons quelques-unes :

En 1999, Barja et *al.* ont observé chez des cobayes nourris avec un régime dont le taux en vitamine E variait de faibles à fortes doses (15, 150 et 1500 mg de α -T / kg d'aliments), et sur durée de 5 semaines, une élévation significative des LPO hépatiques pour le lot nourris avec 1500 mg α -T / kg d'aliment), par contre pour les deux autres lots (15 et 150 mg d' α -T / kg d'aliment), ils ont obtenu une diminution considérable des LPO.

Dans une étude, réalisée en 2003 par Flora et *al.* ces derniers ont rapporté des taux réduits en LPO chez des rats exposés à 0,1% d'acétate de plomb par voie orale pendant 3 mois et puis traités 5 jours consécutifs avec l' α -T administré par voie intramusculaire à une dose de 5 mg / kg de poids corporel par jour, des années plus tard et en 2015, dans une étude menée par Das et *al.* il a été également montré une diminution des LPO érythrocytaire suite à l'administration de l' α -T (10 mg / 100 g de poids corporel) par voie intramusculaire à des rats intoxiqués par l'acétate de plomb (25 mg / kg poids corporel).

En 2008, Polat et *al.* révèlent que l'administration de 10 mg d' α -T / kg et par voie intrapéritonéale chez un groupe de rats mâles Sprague-Dawley ischémiques à entraîner des réductions significatives des taux de MDA mais une augmentation significative des niveaux de la CAT hépatique par rapport au groupe de contrôle.

Nous pouvons conclure que la vitamine E a un rôle antioxydant puissant, elle protège les membranes cellulaires des effets de la peroxydation et on peut la considérer comme un stabilisateur des membranes.

III.2. Effets de la supplémentation d'un régime en doses croissantes d' α -T (700-750-800 mg α -T /kg d'aliments) sur le taux de la LPO et l'activité de la catalase au niveau du tissu hépatique

Concernant les lots supplémentés en 700, 750 et 800 mg d' α -T/Kg d'aliment, nous aurions obtenu une diminution de l'activité enzymatique de la CAT, et une élévation du taux en LPO d'une manière modérée; ce qui nous pousse à avancer qu'on est en présence d'un stress oxydatif modéré et ceci bien sûr en s'appuyant sur les résultats histologiques; sur ceux, nous pouvons émettre l'hypothèse d'un déséquilibre de la balance antioxydant/prooxydant en faveur des oxydants. Il est connu que les ERO à concentration élevée ont des effets

endommageants au niveau foie, du fait de leur action négative sur l'activité des enzymes antioxydantes comme la catalase.

Déjà, en 1997, Neuzil et *al* ont énoncé que l'activité prooxydante de la vitamine E se produit lorsque les co-antioxydants, tels que l'ubiquinol-10 et la vitamine C ne sont pas disponible pour interagir avec le radical vitaminé.

Palozza et Krinsky en 1992, ont énoncé que les niveaux accrus d' α -T induisent une augmentation de la concentration des radicaux α -T•, qui ne peuvent pas être efficacement désintoxiqué par les co-antioxydants (acide ascorbique) ce qui peut initier le processus de peroxydation lipidique. Cela offre la possibilité de la toxicité prooxydante.

En finalité l'ensemble des suppositions émises concernant les deux paramètres biochimique cités à savoir les LPO et la catalase sont fondées sur les observations faites lors de l'étude des coupes histologiques.

III.3. Effets de la supplémentation d'un régime en doses différentes en α -T (850-900-950-1000 mg α -T /kg d'aliments) sur le taux en LPO et l'activité de la catalase au niveau du tissu hépatique

Concernant les lots supplémentés en 850,900, 950 et 1000 mg d' α -T/Kg d'aliment, nous aurions obtenu une diminution importante de l'activité enzymatique de la CAT, et une élévation accrue du taux en LPO; ce qui nous pousse à avancer qu'on est en présence d'un stress oxydatif sévère et ceci bien sûr en s'appuyant toujours sur les résultats histologiques ; ce qui nous permet d'émettre l'hypothèse du déséquilibre de la balance antioxydant/prooxydant en faveur des oxydants.

Nombreux sont les auteurs ayant signalé l'effet prooxydant de l' α -T, nous citerons dans la présente étude quelques-uns ainsi que leur étude :

Wissam et *al.* (1997), ont montré que la vitamine E a un effet significatif sur les niveaux hépatiques de produits d'oxydation chez les souris Swiss-Webster, le foie de groupe alimenté avec de l'huile de poisson et ne recevant pas la vitamine E avait des niveaux significativement plus élevés en LPO, de diènes conjuguées et de protéines carbonylées que ceux du groupe supplémenté avec 1g d' α -T, mais qu'en présence de la vitamine E et en une concentration

adéquate, celle-ci permettait la prévention de la production de RL et donc protégera ces enzymes antioxydantes.

Eder et *al.* (2002), ont étudié l'effet de la supplémentation de 1000 mg d' α -T/kg d'aliments chez des rats et ceci pendant 8 semaines. Ils ont obtenu une baisse des activités de la CAT et de la GPx. Ils concluent qu'une forte dose de vitamine E peut affecter les enzymes antioxydantes.

En 2019, Rouaki et Kanane ont étudié l'incidence de l'ingestion de l'huile de tournesol oxydée incorporée à 5% dans un régime alipidique supplémenté ou non d' α -T, sur le système enzymatique antioxydant ainsi que l'étude histologique du tissu hépatique de rats de souche Wistar en croissance. Ces auteurs ont trouvé une diminution très significative de la CAT et ont conclu que la dose de 1200 mg/kg d' α -T a fait basculer l'effet antioxydant en un effet prooxydant de cette vitamine.

En finalité, nous citerons deux études très intéressantes réalisées sur un autre modèle animal :

Kiron et *al.* (2004), ont étudié la truite arc en ciel « *Oncorhynchus mykiss* » traité par 1000 mg α -T /kg d'aliment, pendant 9 semaines, ces auteurs ont conclu que l' α -T n'a pas servi en tant qu'antioxydant, mais comme prooxydant; en 2007, Fu et *al.* ont étudié l'effet de la vitamine E sur les activités enzymatiques antioxydantes (CAT, SOD et GPx) de l'ormeau *Haliotis discushannai*, et ont déduit eux aussi que la vitamine E (5,000 mg/kg) n'a pas servi comme antioxydant, mais apparaît plutôt comme un prooxydant.

III.4.Effets de la supplémentation d'un régime standard en doses différents d' α -T sur la teneur en protéine du tissu hépatique

Les observations effectuées lors de notre étude histologique, nous permettent d'émettre l'hypothèse que la teneur en protéines des lots RES500 à RES650 est comparable au témoin, vu qu'aucune altération n'a affectée le tissu hépatique des rats soumis à ces doses, sachant que la vit E a un effet protecteur vis-à-vis des protéines qui sont connues comme étant des molécules très sensibles aux attaques radicalaires, de nombreuses études ont montrées cet effet, nous en citerons quelques-unes :

En 1954, Tappel a montré des changements *in vivo* des protéines catalytiques et structurales dus à une carence en vitamine E, ces changements résultent directement de la réaction des produits d'oxydation des AGPI avec les protéines.

Des années plus tard et en 1977, Csallany et *al.* ont observé qu'après 8 semaines de régime carencé en Vitamine E chez des souris, le taux en lipofuscine hépatique est significativement plus élevé chez les témoins que chez les lots supplémentés en vitamine E, déduisant que cette vitamine a un rôle protecteur vis-à-vis des RL lors d'un stress oxydatif.

En 1992, Abraham et *al.* ont montré que la vitamine E prévient l'oxydation des protéines, induite par l'exercice physique chez des rats femelles Sprague-Dawley.

Léger (2000), a confirmé que la fonction antioxydante de la vitamine E permet d'éviter l'oxydation des structures, auxquelles elle se trouve associée, et de protéger ainsi non seulement le caractère essentiel des AGPI, mais aussi l'intégrité de la structure des protéines et des nucléotides.

Concernant le reste des lots c'est-à-dire les lots dans les doses en vit E varient de 700 à 1000 mg d' α -T/ Kg de régime, nous supposons toujours selon les résultats histologiques que la teneur en protéines aurait été affectée par de telles doses, car pour ces cas, la vit E joue un rôle prooxydant et non antioxydant, du fait que l'accumulation du radical α -T \cdot n'a pu être régénérée suite à l'épuisement des agents réducteurs comme la vitamine C.

Dymsza et Park (1975), ont obtenu une baisse significative de la teneur en protéines chez des rats traités avec un régime supplémenté en 35000 mg d' α -T/ kg d'aliment pendant huit semaines. Vingt-cinq ans plus tard, Stadtman et Levine (2000) ont énoncé que les résultats les plus fréquents de modifications oxydatives des protéines sont: une diminution de l'activité enzymatique, une stabilité plus faible face à la chaleur, une hydrophobicité augmentée et une susceptibilité plus forte à la dégradation protéolytique.

D'après Favier (2003), la diminution de la teneur en protéines est due au faite de leur sensibilité aux attaques radicalaires, surtout celles qui comportent le groupement sulfhydryle (SH), c'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire, les protéines peuvent alors subir des réticulations par formation des ponts bi-tyrosine détectables par fluorescence, soit subir des coupures en

cas d'agression forte, soit des modifications de certains acides aminés en cas d'agression modérée.

En 2003, Ponkory énonce que les protéines réagissent avec les RL lipidiques pour former des molécules protéiques radicalaires qui peuvent à leur tour interagir pour générer soit des lipoprotéines soit des oligomères protéiques, principalement sous forme de dimère mais également à des degrés de polymérisation très élevés. Durant la dimérisation la solubilité et la biodisponibilité des protéines diminuent.

En effet, en 2005, Tezelet al. ont quand eux réalise l'étude sur les modifications oxydatives importantes au niveau des protéines de la rétine, et ont déduit que ces modifications étaient l'une des conséquences de la génération de RL dans le modèle de glaucome chez le rat. De même une recherche réalisée par Kadiam et al. (2015), sur le foie et le cerveau des poulets, montre que la supplémentation en vitamine E à une certaine dose, pourrait inverser significativement les dommages oxydatifs, en diminuant les dommages des protéines, telles que la carbonylation, ainsi que la coupure des brins d'ADN.

En finalité, toutes ces propositions révèlent qu'il y a un déséquilibre de la balance oxydante/ antioxydante due à la présence des ROS à une concentration importante au niveau hépatique, ces ROS peuvent endommager les protéines et induire une diminution ou bien une inactivation de certaines enzymes antioxydantes, ce qui confirme que l' α -T à fortes doses n'a pas agie en tant que piègeur des RL (effet antioxydant) mais a eu plutôt tendance à agir en tant que prooxydant.

Conclusion et perspective

Conclusion

L'étude que nous avons menée, à portée sur les effets de la supplémentation de l' α -T à des doses différents (500,600,650,700,750,800,850,900,950 et 1000 mg/kg d'aliments) sur les poids corporel et hépatique, l'histologie du tissu hépatique ainsi que sur certains paramètres du stress oxydatif chez des rats Wistar traités pendant 12 semaines ; il est a noté que les paramètres du stress n'ont pas été dosés à cause de l'épidémie "Covid 19 ".

A la lumière des résultats obtenus on peut conclure que:

Sur le plan de la croissance corporelle

Les résultats ne montrent aucune variation significative du taux d'évolution du poids corporel des rats traités aux doses 500 à 700 mg d' α -T/kg d'aliments, par contre une baisse significative a été obtenu pour les rats traités avec des doses de 750 à 900 mg d' α -T/kg d'aliments, enfin concernant les deux derniers lots dont les doses sont de 950 et 1000 mg d' α -T/kg d'aliments nous avons obtenu une baisse hautement significative ; de ces résultats nous pouvons conclure que l' α -T a eu un effet sur l'évolution du poids corporel pour les lots RSE500 à RSE700 en protégeant les organes contre les dommages causés par les RL, elle inhiberait la peroxydation des lipides membranaires en captant les radicaux pyroxyles lipidiques ; en revanche, pour les lots RSE750 à RSE1000 l' α -T a eu un effet néfaste sur la progression du poids en l'abaissant, la raison est probablement dû à l'interaction des lipides oxydés avec les acides aminés, ce qui diminue l'utilisation digestive des protéines, des acides aminés et des graisses.

Sur le plan du poids du foie

Les résultats montrent des variations non significatives du poids du tissu hépatique chez les lots supplémenté 500 à 1000 mg d' α -T/ kg d'aliments, les doses administrées n'ont pas affecté le poids hépatique, ceci peut être dû au fait que la durée d'expérimentation n'était pas assez longue.

Sur le plan cellulaire

L'examen histologique des lots RS à RSE650 montre une architecture bien conservée des cellules hépatiques. Il a été montré dans ce cas que les doses en vitamine E allant de 500 à 650 mg d' α -T incorporés dans 1 kg de régime ont protégé les rats contre les effets délétères des RL ; cependant, l'histologie des lots RSE700, RSE750 et RSE800 a montré des effets délétères de la structure tissulaire de l'organe, les mêmes effets mais de manière beaucoup plus importantes sont retrouvés chez les autres lots RSE850 à RSE1000, ces lésions correspondent à une désorganisation de l'architecture hépatique, ainsi que la présence de congestions et de dilatations des veines centro-lobulaires, un élargissement des espaces sinusoïdales, des vacuolisations cytoplasmiques, la présence d'infiltration lymphocytaire et des œdèmes ainsi que des lésions de la membrane hépatocytaire. Ces observations montrent l'effet prooxydant de l' α -T qui débute d'une manière modérée et continu sévèrement pour les doses plus importantes.

Sur le plan métabolique du tissu hépatique

Les résultats que nous nous attendions à obtenir devrait montre une baisse du taux en LPO et en parallèle une stabilité de la teneur en protéine ainsi que l'activité de la catalase pour les lots supplémentés en 500-600-650 mg d' α -T/ Kg d'aliment. Concernant les lots supplémentés en 700,750 et 800 mg/Kg d'aliment, nous aurions obtenu une diminution de teneur en protéine et de l'activité de la CAT, et une élévation du taux en LPO d'une manière modérée. En effet, pour les lots supplémentés en 850, 900, 950 et 1000 mg/Kg d'aliment, nous aurions obtenu une diminution importante de la teneur en protéine et de l'activité de la CAT, et une élévation accrue du taux en LPO, ceci bien sûr en s'appuyant toujours sur les résultats histologiques ; ce qui nous permet de poser l'hypothèse du déséquilibre de la balance antioxydant/prooxydant en faveur des oxydants.

L'ensemble de ces résultats suggèrent un effet prooxydant à 700 mg d' α -T/ kg d'aliments, de nombreuses études réalisées *in vivo* et *in vitro* ont montré qu'une supplémentation élevée en α -T a une activité prooxydant (Bowry et al., 1993; Kontush,1996). Il est connu que lors de l'oxydation de l' α -T est transformé en radical α -T•, si ce dernier n'est pas éliminé, il y a augmentation des LPO processus connu sous le nom « tocophérol médiateur de peroxydation ».

À l'avenir, il serait intéressant de développer ce travail en dosant :

- ✓ le taux en MDA, le teneur en protéine et l'activité enzymatique de la catalase,
- ✓ Les biomarqueurs du stress oxydatif (le rapport GSH/GSSG, SOD, GPx, la Vitamine C).
- ✓ L' α -T au niveau hépatique par chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC.
- ✓ Étudié de la génotoxicité de la vitamine E par le dosage du suppresseur de tumeur comme la p53 ou des anti-apoptotique (Bcl-2), pour évaluer l'effet cancérigène de l' α -T vu qu'il induit des altérations au niveau de l'ADN.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Abdo, K. M., Rao, G., Montgomery, C. A., Dinowitz, M., & Kanagalingam, K. (1986). Thirteen-week toxicity study of d- α -tocopheryl acetate (vitamin E) in Fischer 344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 24(10-11), 1043-1050.

Abreu I, A., Cabelli D, E. (2010). Superoxide dismutases-a review of the associated mechanistic variations. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1804, 263-274.

Aebi, H. (1984). Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*, 105 (1), 121-126.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Revue du Rhumatisme*, 74, 636–643.

Albahrani, A. A., Ronda, F. G. (2016). Fat-Soluble Vitamins: Clinical Indications and Current Challenges for Chromatographic Measurement. *Clin Biochem Rev*, 37(1), 27-47.

Alessi, M., Paul, T., Scaiano, J. C., & Ingold, K. U. (2002). The Contrasting Kinetics of Peroxidation of Vitamin E-Containing Phospholipid Unilamellar Vesicles and Human Low-Density Lipoprotein. *J. Am. Chem. Soc*, 124(24), 6957–6965.

Ali, A. A., Coulter, J. A., Ogle, C. H., Hirst, D. G., McCarthy, H. O., Robson, T., McCarthy, H. O. (2015). The contribution of N₂O₃ to the cytotoxicity of the nitric oxide donor DETA/NO: an emerging role for S-nitrosylation. *Biosci Rep*, 33(2).

Annaházi, A., Mracskó, E., Süle, Z., Karg, E., Penke, B., Bari, F. (2007). Pre-treatment and post treatment with α -tocopherol attenuates hippocampal neuronal damage in experimental cerebral hypoperfusion. *European journal of pharmacology*, 571(2-3), 120-128.

Araoud, M., Neffeti, F., Douki, W., Khaled, L., Najjar, M.N., Kenzani, A., Houas, Z. (2014). Effets toxiques de méthamidophos sur l'activité rénale et hépatique de rat, et d'améliorer les effets de l'alpha-Tocopherol, 31,842-854.

B

Bandt, J. P. (2013). Vitamine E. Cahier de formation biochimie : assurance de qualité, paris: BIOPHARMA.

Barjat, G. (1999). Mitochondrial Oxygen Radical Generation and Leak: Sites of Production in States 4 and 3, Organ Specificity, and Relation to Aging and Longevity. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 31, 347–366.

Behrend, L., Henderson, G., Zwacka, R. M. (2003). Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *BiochemSocTrans*, 31(6): 1441-1444.

Bentinger, M., Tekle, M., Dallner, G. (2010). Coenzyme Q-biosynthesis and functions. *BiochemBiophys Res*, 396(1): 74-79.

Bjelakovic, G., Nikolova, D., Simonett, R. G., Gluud, C. (2007). Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 297, 842-857.

Blanc, M., Moinard, C., Cynober, L. (2005). "Monoxyde d'azote." Radicaux libres et stress oxydant. Lavoisier, 25-43.

Bonnefont-Rousselot, D. (2013). Obesity and oxidative stress. Rousselot © Springer-Verlag, 9, 8-13.

Boubali, Z. (2017). Biomarqueurs du stress oxydatif. Thèse de doctorat; Pharmacie. Université Mohamed V –Rabat, 116.

Bourgeois, C.F. (2003). Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Dans T. Doc.Paris.

Bowry VM, Ingold, S Stocker, R (1992). Vitamin E in human low-density lipoprotein When and how this antioxidant becomes a prooxidant. *Biochem. J.* 288: 341-344.

Bowry, V.W., 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, 6029-6044.

C

Carrière, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M.-C., Pénicaud, L., Casteilla, L. (2006). Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. *Medecine science*, 22, 47-53.

Close, G., Ashton, T., ClMcArdle, A., &Maclaren, D. (2005). The emerging role of free radicals in delayed onset muscle soreness and contraction-induced muscle injury. *Comp BiochemPhysiol A MolIntegrPhysiol*, 142, 257-66.

Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*, 17, 1195-214.

Cook-Mills, J. M., McCary, C. A. (2010). Isoforms of vitamin E differentially regulate inflammation. *EndocrMetab Immune Disord Drug Targets*, 10(4), 348–366.

Csallany, A.S., Ayaz, K.L., Su, L. C. (1977). Effect of dietary vitamin E and aging on Tissue lipofuscine pigment concentration in mice. *J. Nutr.* 107 : 1792-1799.

Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L. (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét.*, 147, 315-324.

Cyrne, L., Oliveira-Marques, V., Marinho, H., & Antunes, F. (2013). H₂O₂ in the induction of NF-κB-dependent selective gene expression. *Methods Enzymol*, 528, 173-88.

D

Dahdouh, F., Djbar, M.R., Kechrid, Z. (2014). Vitamins C and E Combination Potentially Prevented Oxidative Stress Mediated Liver Injury in Nickel Intoxicated Mice. *Global veterinaria*, 13(6), 938-946.

Das, K.K., Jargar, J.G, Saha, S., Yendigeri, S.M, Singh, S.B.(2015). α -tocopherol supplementation prevents lead acetate and hypoxia-induced hepatic dysfunction. *Indian J Pharmacol* , 47(3), 285-91.

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

Defraigne, J. O., Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.

Delattre, J., Beaudoux, J. L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Paris: Lavoisier.

Delbosc, S., Cristoll, J., Decomps, B., Chénard, J., Sirois, P. (2001). De l'oxygène à l'anion superoxyde. Peut-on moduler la NADPH oxydase ? *Journal de la Société de Biologie*, 195(4), 401-411.

Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 44.

Dietrich, M., Traber, M. G., Jacques, P. F., Cross, C., Hu, Y., Block, G. (2006). Does α -tocopherol play a role in the primary prevention of heart disease and cancer? A review, 25, 292-9.

Draper, H. H., Squires, E. J., Mahmoodi, H., Wu, J., Agarwal, S., Hadley, M. (1993). A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radical Biology and Medicine*, 15(4), 353-363.

Durand, D., Damon, M., Gobert, M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218-224.

Dymysa, H. A., & Park, J. (1975). Excess dietary vitamin in rats. *Infederation proceedings*, 34(3), 912-912.

E

Eder, K., Flader, D., Hirche, F., Brandsch, C. (2002). Excess Dietary Vitamin E Lowers the Activities of Antioxidative Enzymes in Erythrocytes of Rats Fed Salmon Oil. *J. Nutr.* 132: 3400–3404.

F

Favero, T.G, Zable A.C, Abramson, J.J.(1995). Hydrogen peroxide stimulates the Ca²⁺ release channel from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem*, 27, 25557-63.

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.

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises*, 64(6), 390-396.

Ferry, M., Mischlich, D., Alix, E., Brocker, P., Constans, T., Lesourd, B., Pfitzenmeyer, P., Vellas B. (2012). *Nutrition de la personne âgée*. Elsevier Masson. 368.

Flora, S.J., Pande, M., Mehta, A. (2003). Beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiolchelators in the treatment of chronic lead intoxication. *ChemBiolInteract.* 145(3), 267-80.

Fontaine.F. (2007). Traité de nutrition artificielle de l'adulte, 3^{ème}éd ,Paris, France,1189.

Francesco, S., Witko-Sarsat, V., Tilman, D., Beatrice Descamps, L. (2004).Restoring glutathione as a therapeutic strategy in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 19 , 1951–1955.

Fu, J., Zhang, Hang, W., Mai, K., Feng, X., Xu, W., Liu fu, Z., Ma, M., Ai, A. (2007).Effets de la vitamine E sur l'activité des enzymes antioxydantes et des compositions d'acides gras, 26 ,809-814.

Fusco, D., Colloca, G., Monaco, M. R., Cesari, M. (2007).Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clinical interventions in aging*, 2(3), 377.

G

Gardès-Alber, M., Bonnefont-Rousselot, D., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualitéChim*, 91.

Garrido-Polonio, C, Garcia-Linares, M.C., Garcia-Arias, M.T, Lopez-Varela, S., Garcia-Fernandez, MC., Terpstra, AH, Sanchez-Muniz, F.J. (2004). Thermally oxidized sunflower seed oil increases liver and serum peroxidation and modifies lipoprotein composition in rats. *Br. J. Nutr*, 92, 257-265.

Girotti, A. W. (1990). Photodynamic lipid peroxidation in biological systems.*Photochem Photobiol*, 51, 497-509.gras, 26,809–814.

Guillard's , J. C. (2011). Les interactions entre les vitamines A, D, E et K : synergie et/ou compétition. *OCL - Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 18(2), 59-67.

Guillouty, A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de doctorat: Sciences pharmaceutiques.Université de toulouse III paul sabatier, 80.

Gulcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol*, 86(3),345-391.

H

Hajiani, M., Golestani, A., Shariftabrizi, A., Rastegar, R., Payabvash, S., Salmasi, A.H., Dehpour, A.R., Pasalar, P. (2008). Dose-dependent modulation of systemic lipid peroxidation and activity of anti-oxidant enzymes by vitamin E in the rat. *Redox Rep*, 13, 60-66.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant 2007. *Rev Med Liege*, 62(10), 628-638.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219: 1–14. *Biochem.J*, 219, 1-14.

Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, 52, 253-265.

Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants and human diseases: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, 344, 721-724.

Halliwell, B. (1996a). Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr*, 16, 33-50.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine* (éd. 3). *Radical Biology and Medicine*, 22(1-2), 57-71.

Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141 (2), 312-322. 69.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine* (éd. 4ème). USA: Oxford University Press.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (2014). Role of free radicals and catalytic metals ions in human diseases: an overview. In *Methods in enzymology*. Academic Press, San Diego, 186(45), 1-85.

Hanck, A. (1986). Sepktrum vitamin, vitamine E. In : *Arzeimitteltherapie heute band*, 42, 36-42.

Harrison, R. (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? Free. Free RadicBiol Med, 33(6), 774-797.

Henrotin Y., Kurz B. and Aigner T. (2005). Oxygen and reactive oxygen species in cartilage degradation: friends or foes? Osteoarthritis Cartilage, 13 (8), 643-54.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, 2(1), 3-6.

Hermes-Lima, M. (2004). Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. Functional metabolism: Regulation and adaptation, 319-66.

Hermes-Lima, M. (2005). Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals. Dans Functional Metabolism: Regulation and Adaptation. Canada: Kenneth B Storey. 319-368.

Heunks, L. M., Viña, J., van Herwaarden, C. L., Folgering, H. T., Gimeno, A. (1999). Xanthine oxidase is involved in exercise-induced oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Am J Physiol, 277, 1697-704.

Hubert, D. (2005). Mucoviscidose. ELSEVIER, 2(1), 34-41.

I

Ingold, K. U., Bowry, V. W., Stocker, R., Walling, C. (1993). Autoxidation of lipids and antioxidation by alpha-tocopherol and ubiquinol in homogeneous solution and in aqueous dispersions of lipids: unrecognized consequences of lipid particle size as exemplified by oxidation of human low density lipoprotein, 90(1), 45-49.

J

Jennifer, B. V., Philippe, R., & Emmanuel, B. (2014). *Le Diabète*-altération d'une protéine à fonction multiples.

K

Kadium, C., Venkata, S., Lokanatha, V., Wudayagiri, R, Chiteti, R, Chinnasamy, T., Rajagopal, S. (2015). Newcastle disease virus (NDV) induces protein oxidation and nitration in brain and liver of chicken: Ameliorative effect of vitamin E. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biolom* ,64, 07-106.

Kalam, S., Singh, R., Patel, J., Naem, K., pandey, A. (2012).antioxydant : elixir of life. *International multidisciplinary research journal*, 1, 18-34.

Kiron, V., Puangkaew, J., Ishizaka, K., Satoh, S. and Watanabe, T. (2004).Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with, three lipid sources. *Aquaculture*, 234,361-379.

Kontush, A., Finckh, B., Karten, B., Kohlschütter, A., Beisiegel, U.(1996).Antioxidant and prooxidant activity of alpha-tocopherol in human plasma and low-density lipoprotein.*Journal of Lipid Research*, 37(7), 1436-1448.

Kryston, T. B., Georgiev, A. B., Pissis, P., Georgakilas, A. G., Marnett, L. J. (1999).Chemistry and biology of DNA damage by malondialdehyde. *IARC Sci Pub*, 150, 17-27.

Kumar, K., &Pandey, A. K. (2013).Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The ScientificWorldJournal*, 16.

Kusano, C. & Ferrari, B. (2008). Total Antioxidant Capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 7(1), 1-15.

L

Labbé A, Boureau C. (2007).Cataracte.*La Revue du Praticien*, 17, 1929-34.

Laguerre M., López-giraldo L.J., Lecomte J., Pina M., Villeneuve P. (2007). Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante/OCL,14(5) ,278.

Lagrost, L, Masson, D (2002). La protéine plasmatique de transfert des phospholipides (PLTP) un nouveau facteur athérogène.Med Sci (Paris),18(4), 398- 400.

Lamprecht, M., Greilberger, J., &Oetl, K. (2004). Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. Nutrition, 20(7-8). 728-730.

Landrier, J. F. (2011). Vitamine E et physiologie du tissu adipeux. Oléagineux, Corps Gras, Lipides, 18(2),83–87.

Landrier, J. F., Gouranton, E., Reboul, E., Cardinault, N., El Yazidi, C., Malezet- Desmoulin, C. (2010).Vitamin E decreases endogenous cholesterol synthesis and apo-AI-mediated cholesterol secretion in Caco-2 cells. J NutrBiochem, 21, 1207–121.

Lareal.(2011).Vitamine E et tocophérols.Note scientifique N°1.

Lavoie, M. E. (2012). Inflammation, stress oxydant, profil métabolique : influence des apports alimentaires et de la dépense énergétique. Thèse de doctorat: Medecine. Université de Montréal, Canada, 221.

Leger, C.-L. (2000). La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardio-vasculaire, biodisponibilité. OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids, 7, 258–265.

Lesgards J.F., Durand P., Lassarre M., Stocker. P., Lesgards G., Lanteaume A., Prost M. and LehucherMichel M.P. (2002).Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. Environmental Health Perspectives, 110, 479-486.

Leverve, X. (2006). Stress oxydant et regulation de la glycémie : implications pour le syndrome métabolique. Obes, 1, 11–15.

Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G.(2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. Am J Med, 108: 652-659.

Li, J., O, W., Li, W., Jiang, Z., Ghanbari, H. (2013). Oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Int J MolSci*, 14(12), 24438-75.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193, 265-275.

Lyn Patrick N. D. (2006). Toxicité du Plomb Partie II Le rôle des dommages des radicaux libres et l'unlisation des antioxydants dans la pathologie et le traitement de la toxicité du plomb *Altem Med Rev*. 11(2), 114-127.

M

Maestre, p. (1991). Radical hydroxyle et métaux redox : application à la toxicité des quinones. Toulouse, France.

Maghzal, G., Krause, K., Stocker, R., Jaquet, V. (2012). Detection of reactive oxygen species derived from the family of NOX NADPH oxidases. *Free Radic Biol Med*. 53, 1903-1918.

Margaritis, L, Palazzetti, S., Rousseau, A. S., Richard, MJ., Favier, A. (2003). La supplémentation en antioxydants et l'exercice rétrécissant améliorent la réponse induite exercice. *J Am Coll Nutr*. 22(2), 147-156.

Marnett, L. J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *MutatRes*, 424, 83-95.

Masson, A., Bouaziz, J.-D., Battistella, M., Bagot, M., bensussan, A. (2016). Immunopathology of psoriasis: from bench to bedside. *Medicine/sciences*, 32(3), 253-259.

Mena, S., Ortega, A., & Estrela, J. M. (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutation Research*. 674, 36-44.

Migdal, C., Serres, M. (2011). Reactive oxygen species and oxidative stress. *Med Sc*, 27(4), 405-412.

Miguel, F. M., Schemitt, E., Colares, J., Hartmann, R. M. (2017). Action of vitamin E on experimental severe acute liver failure. *Arquivos de gastroenterologia*, 54 (2), 123-129.

Moller, P., Wallin, H., & Knudsen, L. E. (1996). Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chemico-Biological Interaction*, 102, 17-36.

Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Dominguez, J. M., Sineiro, J., Dominguez, H. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem* , 72,145-171.

Mukai , K (1993). Synthesis and kinetic study of antioxidant and prooxidant actions of vitamin E derivatives .*Vitamin E in health and disease*. Marcel Dekker, New York. 97-119.

N

Nascimento, M.C.MO., Matsubara, B.B., Matsubara, L.S., Correa, C.R., Pereira, E. J., Moreira, P.L., Carvalho, F. A, Burini, C. H, Padovani, C. R, Yeum, K J., Ferreira, A.L.A. (2010). Pharmacological dose of α -tocopherol induces cardiotoxicity in Wistar rats determined by echocardiography and histology. *Human and Experimental Toxicology*. 30 (10), 1540–1548

Neelam, A., & Krishnan, A. (2014). Espèces réactives de l'oxygène (ROS) et lésions d'ischémie cardiaque et de reperfusion, 113-135.

Neužil, J., Thomas, S. R., & Stocker, R. (1997). Requirement for, promotion, or inhibition by α -tocopherol of radical-induced initiation of plasma lipoprotein lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(1-2), 57-71.

Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Advances*, 5(35), 27986-28006.

Nitta, Y., Kamiya, K., Tanimoto, M., Sadamoto, S., Niwa, O., Yokoro, K. (1991). Induction of transplantable tumors by repeated subcutaneous injections of natural and synthetic vitamin E in mice and rats. *Jpn J Cancer Res*, 82(5), 511-7.

Nwanguma, B.C, Achebe, A.C., Ezeanyika, L.U. and Eze, LC. (1998) . Toxicity of oxidized fats II: tissue levels of lipid peroxides in rats fed a thermally oxidized oil det. *Food Chem. Toxicol.* 3: 413-416.

O

Oleinick, N. L., Chiu , S. M., Ramakrishnan, N., Xue, L. Y. (1987). The formation, identification, and significance of DNA-protein cross-links in mammalian cells. *Br J Cancer Suppl*, 8, 135-40.

P

Palozza, P., Krinsky, N. I. (1992). β -Carotene and α -tocopherol are synergistic antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 297(1), 184–187.

Pascal,G., Coiffier, G., Chalès, G., Brissot, P.,Loréal, O. (2011). Hémochromatose génétique : le rhumatologue en première ligne Hereditary hemochromatosis: Rheumatologistat the fore front. *ELSEVIER*, 78(4), 216-223.

Pham-Huy, L., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J BiomedSci*, 4(2), 89–96.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources,targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*,30(1), 11-26.

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

Pincemail, J., Defraigne, J. O., Meurisse, M., Lim, R. (1998). Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires 2ème partie: la vitamine E. Medi-Sphere.

Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F., Limet, R., Defraigne, J. O. (2001). Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Act. Méd. Int. - Métabolismes - Hormones - Nutrition, 4, 158-164.

Pincemail, J., Karine, B., Karine, C., & Jean-Olivier, D. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. Nutrition clinique et métabolisme, 16, 233–239.

Pincemail, J., Degruene, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., Defraigne, J. O. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux Edasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatif. Nutr. Clin Métabol, 21,66-75.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J. O. (2012). Physiological action of antioxidant defences. Nutrition clinique et métabolisme, 16(6), 233–239.

Poisson, C. (2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat: innovation thérapeutique du fondamental à l'appliqué. Université paris-sud 11 .France,317.

Polat, KY, Aydinli, B., Polat, O., Aydin, UL, Yazici, P., Ozturk, G., Gundogdu, C., Kiziltunc, A. (2008). The protective effect of aprotinin and a - tocopherol on ischemia reperfusion injury of the rat liver. Transplant Proc, 40, 63-68.

Ponkory. (2003). Lipides et corps gras alimentaires. Paris : Tec et Doc. 61.

Porter, N. A., Caldwell, S. E., & Millis, K. F.(1995). Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. Lipids, 30, 277-290.

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

Pradat, P. F., Bruneteau, G. (2006). Quels sont les critères cliniques de la sclérose latérale amyotrophique en fonction des formes cliniques? Clinical characteristics of ALS subsets. *ELSEVIER*, 162(2), 29-33.

Pryor, W. A. (2000). Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trais. *Free Rad BiolMed* , 28 ,141-64.

R

Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A., Mamidi, S. (2011). Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants. 1(4) ,2-7.

Rochette, J., Charbit, y. (1990). Deux maladies génétiques : la drépanocytose et les thalassémies. Enquêtes en région parisienne. *Revue Européene des Migrations Internationales*, 6(3), 145-160.

Rouaki, F., Kanane, A. (2019). Modifications biochimiques et histologiques du foie de rat. *Revue Agrobiologia*, 9(1), 1188-1199.

Ruiz, J. A., Guerrero, L., Arnau, J., Guardia, M. D.,Esteve-Garcia, E. (2001).Descriptive sensory analysis of meat from broilers fed diets containing vitamin E or beta-carotene as antioxidants and different supplemental fats. *PoultSci*, 80(7), 976-82.

S

Sakouhi, F., Harrabi, S., Absalon, C., Sbei, K., Boukhchina, S., Kallel, H. (2008). α -Tocopherol and fatty acids contents of some Tunisian table olives: Changes in their composition during ripening and processing. *Food Chemistry*, 108, 833-839.

Sanz, A., Stefanatos, R. (2008).The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. *Curr Aging Sci*, 1(1), 10–21.

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

Slaughter, R. L., Edwards, D. J. (1995). Recent Advances: The Cytochrome P450 Enzymes. *Annals of Pharmacotherapy*, 29(6), 619.

Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2000). Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci*, 899, 191-208.
Stampfer, M., Hennekens, C., Manson, J., Colditz, G., Rosner, B. and Willett, W. (1993) . Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women .*N.Engl . J. Med* .328: 1444 – 1449.

Stocker, R., Keaney, J.F. (2004). Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol. Rev.* 84: 1381-1478.

Stoker, R. (1999). The ambivalence of vitamine E in atherogenesis. *Trends Biochem Sci*, 24(6), 219-23.

Suzuki, K., Ito, Y., Inoue, T., Hamajima, N. (2011). Inverse association of serum carotenoids with prevalence of metabolic syndrome among Japanese. *Clin Nutr*, 30(3), 369-75.

Szarka , A., Tomasskovics, B., Bánhegyi, G. (2012). The ascorbate-glutathione - α -tocopherol triad in abiotic stress response. *Int J Mol Sci*, 13(4), 4458-83.

T

Tappel, AL, (1954). Studies of the mechanism of vitamin E action. II Inhibition of unsaturated fatty acid oxidation catalyzed by hematin compounds. *Arch Biochem Biophys*, 50(2),473-85.

Tezel, G., Yang, X, Cai, J. (2005). Proteomic identification of oxidatively modified retinal proteins in a chronic pressure-induced rat model of glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 46(9) , 3177-3187. 146.

Thomas, S. R, Neuzil, J. Stocker, R. (1996). Complémentation avec la coenzyme Q empêche l'effet pro-oxydant de l' α -tocophérol et augmente la résistance du LDL à la transition d'initiation de l'oxydation de métal-dépendantie *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol* 16, 687-696.

Traber, M. G. (2007). Vitamin E regulatory mechanisms. *Annu Rev Nutr*, 27, 347-62.

U

Uchida, K., Ushiraishi, M., Naito, Y., Torii, Y., Nakamura, Y., 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, 2234-42.

Upston, J. M., Terentis, A. C., Stocker, R. (1999). Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement. *The FASEB Journal*, 13(9), 977-994.

V

Valko, M., Morris, H., Conin, M. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 1161-1208.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J. (2006). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84.

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 160, 1-40.

Verhagen, H., Buijsse, B., Jansen, E., Bueno-de-Mesquita, B. (2006). The state of antioxidant affairs. *Nutrition Today*, 41(6), 244-250.

W

Wages, P. A., Silbajoris, R., Speen, A., Brighton, L., Henriquez, A., Tong, H. (2014). Role of H₂O₂ in the oxidative effects of zinc exposure in human airway epithelial cells. *Redox Biology*, 3, 47-55.

Wassmann, S., Wassmann, K., Nickening, G. (2004). Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*, 44, 381-6.

Wheldon, G. H., Bhatt, A., Keller, P., Hummler, H. (1983). d'alpha-Tocopheryl acetate (vitamin E): A long term toxicity and carcinogenicity study in rats. *International journal for vitamin and nutrition research.*, 53(3), 287-296.

Wissam, I, Ung - Soo, L., Che - Chung, Yeh., Joseph, S., Geza B., Ching -K C. (1997). Stress oxydatif et le statut antioxydant du foie de souris : Effets de la diététique Lipid, la vitamine E et de fer . *J. Nutr* , 127 (7), 1401-1406.

Wolyniec, K., Haupt, S., Haupt, Y. (2009). P53 and Cell Death. In: *Encyclopedia of Life*, 94(16), 92-5.

Y

Yang, N. J., Desai, I. D. (1977). Effect of high levels of dietary vitamin E on liver and plasma lipids and fat-soluble vitamins in rats. *The Journal of nutrition*, 107(8), 1418-142.

Z

Zafrilla P., Ferreres F. and Tomás-Barberán F.A. (2001). Effect of processing and storage on the antioxidant ellagic acid derivatives and flavonoids of red raspberry (*Rubus idaeus*) jams. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3651-365.

Anonyme: **Vitamine E** [WWW.organostate .educ](http://WWW.organostate.educ).

ANNEXES

Annexe A : différents ERO existants

Tableau I: Principales ERO et leurs propriétés

Catégorie	Espèce	Caractéristiques	ERO Secondaire(s) Produite(s)	Cibles biologiques	Demi-vie
ERO radicalaires	$O_2^{\bullet-}$ Anion superoxyde	Peu dangereux en soi car peu diffusible	H_2O_2 , NO_3^-	Acides gras polyinsaturés	Quelques secs
	HO^{\bullet} Radical hydroxyle	ERO la plus dangereuse	ROO^{\bullet}	Acides gras polyinsaturés, ADN, protéines	10^{-9} secs
	NO^{\bullet} Oxydenitrique	Gaz donc diffuse bien Peu dangereux en soi	NO_3^-		Quelques secs
	ROO^{\bullet} Radicaux peroxy		ERO de la «2ème Vague»	Acides gras polyinsaturé voisin	10^{-1} secs
ERO non radicalaires	1O_2 Oxygène singulet	Très réactif	$O_2^{\bullet-}$		10^{-6} secs
	H_2O_2 Peroxyde d'hydrogène	Antiseptique	HO^{\bullet} , $HOCl$		Dizaines de seconds
	NO_3^- peroxydite	Très agressif		Protéines	
	$HOCl$ acide hypochlorite	Diffuse bien		Protéines	
Métaux de transition	Fe, Cu, Mn fer, cuivre, manganèse	Si forme libre caractère radicalaire Catalysent certaines réactions de formation d'ERO <i>Mais</i> propriétés anti oxydantes importantes si forme liée	HO^{\bullet}		

(Boubali, 2017)

Annexe B : le régime alimentaire

Tableau II : Constituants de régime alimentaire

Ingrédient (%)	RS	RSE 500	RSE 600	RSE 650	RSE 700	RSE 750	RSE 800	RSE 850	RSE 900	RSE 950	RSE 1000
Mais	50.8	50.8	50.8	50.8	50.8	50.8	50.8	50.8	50.8	50.8	50.8
Son	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8
Soja	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1
Calcaire	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Phosphate	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
C.M.V(Complément Minéralo Vitaminique)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
α-T	0	0.05	0.060	0.065	0.07	0.075	0.08	0.085	0.09	0.095	0.1

- **Mélange minéral contenu dans 100 g d'aliment:** KH₂PO₄ 20,0 mg; CaCO₃ 34,6 mg; CaHPO₄ 26,55 mg; 13,70 mg de NaCl; 3,42 mg MgSO₄·7H₂O; CuSO₄·5H₂O 0,042 mg; MnSO₄·H₂O 0,27 mg; 7H₂O 1,02 mg FeSO₄; ZnSO₄·H₂O 0,15 mg; CaCO₃ 0,0008 mg; KI 0,0016 mg.
- **Mélange vitaminique contenu dans 100g d'aliment:** vitamine A 19.800 UI; D₃ 2.500 mg; B₁ 20 mg; B₂ 15 mg; B₃ 70 mg; B₆ 10 mg; B₇ 150 mg; B₁₂ 0,05 mg; C 800 mg; E (dl-α-tocophérol acétate) 170 mg; K₃ 40 mg; PP 100 mg; chlorure de choline 1.360 mg; acide folique 5 mg; AcPAB 50 mg; 0,3 mg de biotine

Annexe C : Matériel non biologique

Verrerie et autres :

- Tubes en verre
- Becher de 100ml et de 250ml
- Eprouvette
- Erlenmeyer de 250ml
- Pipettes graduées (2ml, 5ml, 10ml)
- Flacons
- Entonnoir
- Lames et lamelles.
- Boites de Pétri.
- Eppendorf
- Portoirs
- Micropipettes (de 10 μ l à 1000 μ l)
- Embouts de contenance 1000 μ l
- Embouts de contenance 200 μ l
- Spatule
- Ciseaux
- Pince
- lame de bistouri
- Cassettes d'inclusion
- Parafilm
- Papier absorbant
- Papier aluminium
- Pissettes
- Papier absorbant
- Cassettes inclusion.

Réactifs et solution

- Ether Ethylique.
- Eau distillée.
- Formol.

Appareillages :

- Bain-marie (PRECISTERM)
- Microscope

- Réfrigérateur
- Automates de traitement des tissus (Leica)
- Appareil de l'enrobage des tissus (SLEE)
- Module de refroidissement de paraffine (SLEE)
- Appareil de coloration de tissus (SLEE)
- Microtome (Leica).
- bain de flottaison de paillasse (SLEE)
- Appareil de coloration de tissus (SLEE)
- Plaque chauffante (Stuart)
- Etuve
- Distillateur.
- Microscope optique
- Appareil photo

Annexe D : solutions de dosage de protéine

Préparation de solution de dosage de protéine

Solution A : préparée par mélange des trois solutions suivantes :

- 0,5 ml de la solution de tartrate de Na^+ K^+ à 2% (P/V).
- 0,5 ml de la solution de sulfate de cuivre CuSO_4 à 1%.
- 50 ml de la solution de sulfate de carbonate de sodium Na_2CO_3 dans du NaOH (0.1M).

Solution B : folin-ciocalteu 1N est préparé par dilution au un demi (1/2) dans l'eau distillée.

Préparation des solutions de dosage de l'activité de la catalase

Solution I : Tampon phosphate (50 mM ; pH=7)

- dissoudre 6,81 g de KH_2PO_4 dans de l'eau distillée est compléter à 1000ml (a),
- dissoudre 8,82 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$ dans de l'eau distillée est compléter à 1000ml (b),
- mélanger 1 ml de la solution (a) avec 1,5 ml de la solution (b),
- ajuster le pH=7.

Solution II: Peroxyde d'hydrogène (30mM)

- dilué 0,34 ml de H_2O_2 à 30% avec la solution I jusqu'à 100ml.

Annexe E : données statistiques

Tableau III: Variations du taux d'évolution du poids corporel et du poids du foie chez les rats en croissance.

Lots	Paramètre Moyenne \pm Ecart type	
	Taux d'évolution de poids corporels %	Poids de foie
RSE_T	115 \pm 28	11,9 \pm 1.21
RSE₅₀₀	100 \pm 22	9.63 \pm 0.95
RSE₆₀₀	101 \pm 22	9.6 \pm 1.65
RSE₆₅₀	110 \pm 26	11.43 \pm 1.02
RSE₇₀₀	102 \pm 26	10.66 \pm 0.57
RSE₇₅₀	89 \pm 20	10.33 \pm 1.56
RSE₈₀₀	73 \pm 18	8.33 \pm 0.66
RSE₈₅₀	70 \pm 14	9.46 \pm 1.89
RSE₉₀₀	77 \pm 18	9.7 \pm 0.68
RSE₉₅₀	72 \pm 17	9.06 \pm 1.10
RSE₁₀₀₀	79 \pm 18	10.5 \pm 1.31

Annexe F :

Tableau IV: les altérations histologies apparus dans le tissu hépatique

Altération histologique	Congestion de la VCL	Congestion sinusoidal	Vacuolisation	Infiltration lymphocytaire	Cedème	Lésion de la membrane hépatocytaire
Lot1 RS	-	-	-	-	-	-
Lot 2₅₀₀	-	-	-	-	-	-
Lot 3₆₀₀	-	-	-	-	-	-
Lot 4₆₅₀	-	-	-	-	-	-
Lot 5₇₀₀	++	++	+	++	-	+
Lot 6₇₅₀	++	++	++	++	-	+
Lot 7₈₀₀	++	++	++	++	-	+
Lot 8₈₅₀	+++	+++	++	+++	+	++
Lot 9₉₀₀	+++	+++	++	+++	+	++
Lot 10₉₅₀	+++	+++	++	+++	+	++
Lot 11₁₀₀₀	+++	+++	++	+++	+	++

(+) présence ; (-) Absence