



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

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de

Master II : EN SCIENCES DE LA NATURE ET LA VIE

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

Option : BIOCHIMIE

Thème

Recherche des effets antioxydant et pro-oxydant de la
vitamine E chez des rats de souche Wistar, par le dosage de
la catalase, de la lipoperoxydation et l'étude histologique du
tissu cérébrale.

Présenté par :

soutenue le : 21/09/2020

BEKKOUCHE Meriem

BENMOUSSA Iméne

MENAI Selma

Devant les jurys :

M^{me} Bouchekouk C.

Maitre Assistante "B"

USDB1

Présidente

M^{me} Ouahchia C.

Maitre Assistante "B"

USDB1

Examinatrice

M^{me} Rouaki F.

Maitre Conférence "B"

USDB1

Promotrice

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

En premier lieu, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné la volonté, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nos remerciements vont à « Dr Bouchekouk C. », Maitre Assistante "B" à l'université de Blida 1, qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury. On tient à vous exprimer tout notre respect.

Nous adressons nos plus sincères remerciements et le plus grand respect à notre promotrice « M^{me} Rouaki F. », Maitre de conférences "B" à la faculté de S.N.V à l'Université de Blida 1 pour sa compréhension, sa patience et sa disponibilité dont elle a fait preuve à notre égard et son œil critique qui nous a été très précieux pour structurer le travail et pour améliorer la qualité des différentes sections de notre mémoire tout au long de ce travail.

Nous tenons à exprimer nos chaleureux remerciements à « Dr Ouahchia C.» Maitre Assistante "B" à l'université de Blida 1, pour l'honneur qu'elle nous a fait de vouloir examiner ce modeste travail, on lui manifeste notre haute considération.

Nous tenons à exprimer notre profond remerciement à « Dr Boudour H. » Médecin assistant en Anatomie Pathologie à l'hôpital Fares Yahia de Koléa pour son aide lors de la lecture des lames histologiques.

Nous remercions également « Mme Lamroussi M. » chef de service du laboratoire d'Anatomie Pathologie de l'hôpital Fares Yahia de Koléa ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire.

Nous ne n'oublierons pas de remercier « Mr Chader H. » chef de service pharmacotoxicologie, Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques.

Enfin, Nos remerciements s'étendent aussi à tous nos professeurs qui nous ont enseigné et qui par leur compétence nous ont soutenu dans la poursuite de nos études et qui ont contribué à ce couronnement.

Dédicaces

Avant toute chose, je remercie Allah le tout puissant, de m'avoir donné la santé, la patience et le courage pour réaliser ce travail que je dédie :

A ceux qui sont toujours présents dans mon cœur

A mon très cher père et ma très chère mère, pour leur amour, conseils, encouragement et leur soutien dans mes choix

Tous les mots ne puissent exprimer mon amour et mon respect

Que Dieu le tout puissant, vous accorder la santé, le bonheur et une longue vie

A mes belles sœurs, Amel et Meroua

Vous étiez toujours là pour m'encourager le long de mes études et au cours de réalisation de ce travail

Je vous souhaite plein de succès et bonheur

A toute ma famille

A mes ami(e)s et collègues sans exception

A ma très chère amie et sœur, Iméne, pour sa patience et soutien durant toutes ces années.



Dédicaces

A l'aide d'allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie:

A mes très chers parents,

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices pour mon instruction,

Puisse Allah, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé et longue vie.

A mon frère Adel, que j'aime profondément, et à qui je souhaite plus de succès.

A toute ma famille.

A tous mes ami(e)s et collègues,

A ma très chère amie et sœur Selma que j'apprécie pour l'amitié qui nous lie depuis toutes ces années.

Enfin à toutes les mains qui m'ont été tendues.



Iméne

Résumé

Ce travail a pour objectif de déterminer les effets de la supplémentation en alpha-tocophérol (α -T) à différentes doses (500 à 1000 mg/Kg d'aliments) chez des rats mâles de souche Wistar, et ceci sur le taux d'évolution de la croissance pondérale, l'histologie du tissu cérébral et sur quelques paramètres biochimiques du stress oxydatif (protéines, malondialdéhyde et activité de la catalase), ces dernières n'ont malheureusement pas été réalisées.

Au terme de cette étude, les principaux résultats sur le taux d'évolution du poids corporel montrent une diminution non significative des lots 500 à 700mg d' α -T/kg d'aliment, une diminution significative des doses 750 à 850 mg d' α -T/kg d'aliment et hautement significative chez les doses 900 à 1000 mg d' α -T/kg d'aliment, concernant l'examen histologique du tissu cérébral des rats traité avec des doses allant de 500 à 900 mg d' α -T /kg d'aliment, les résultats ont montré un parenchyme cérébral normal d'où l'effet protecteur de l' α -T à l'encontre des espèces réactive de l'oxygène. Cependant chez les lots supplémentés en 950 et 1000 mg α -T / kg d'aliment nous avons obtenu des œdèmes focaux, des cellules nécrotique et également une légère infiltration lymphocytaire, ceci indique que l' α -T a eu pour ces doses un effet pro-oxydant.

Pour les paramètres biochimiques les résultats obtenus lors de l'étude histologique laissent supposer que nous aurions obtenu une baisse ou une invariabilité du taux en MDA et des résultats semblables au témoin pour la catalase et les protéines et ceci pour les doses allant de 500 à 900 mg d' α -T /kg d'aliment, concernant les lots supplémentés avec 950 et 1000 mg d' α -T /kg d'aliment, nous supposons que nous aurions obtenu une diminution de la teneur en protéines et de l'activité de la catalase ainsi qu'une élévation du taux en MDA, pour ces doses on suggère un effet pro-oxydant de α -T.

En finalité, nous pouvons avancer que l'effet antioxydant de l'alpha-tocophérol à basculé en un effet prooxydant à la dose 950 mg pour le tissu cérébral.

Mots clés: Alpha- tocophérol, antioxydant, pro- oxydant, cerveau, rat.

Abstract

This work aims to determine the effects of supplementation of alpha- tocopherol (α -T) at different doses (500 to 1000 mg / Kg of food) in male rats of Wistar strain, and this on the rate of change in weight growth, tissue histology brain and on some biochemical parameters of oxidative stress (proteins, malondialdehyde and catalase activity), the latter have unfortunately not been realized.

At the end of this study, the main results on the rate of change in body weight show a non-significant decrease in batches 500 to 700 mg of α -T / kg of feed, a significantly reduced doses 750 to 850 mg α -T / kg of food and highly significant in doses 900 to 1000 mg α -T / kg of food, concerning the examination histological analysis of brain tissue from rats treated with doses ranging from 500 to 900 mg α -T / kg of food, the results showed a normal brain parenchyma or the effect protective of α -T against reactive oxygen species. However in lots supplemented with 950 and 1000 mg α -T / kg of food we obtained focal edema, necrotic cells and also a slight lymphocyte infiltration, this indicates that α -T had a pro-oxidant effect for these doses.

For the biochemical parameters, the results obtained during the histological study leave suppose that we would have obtained a decrease or an invariability of the rate in MDA and of results similar to the control for catalase and proteins and this for doses ranging from 500 to 900 mg of α -T / kg of food, concerning the batches supplemented with 950 and 1000 mg α -T / kg feed, we assume that we would have obtained a decrease in the content of proteins and catalase activity as well as an increase in the level of MDA, for these doses a pro-oxidant effect of α -T is suggested.

Finally, we can argue that the antioxidant effect of alpha-tocopherol at switched to a prooxidant effect at the 950 mg dose for brain tissue.

Key words: alpha-tocopherol, antioxidant, pro-oxydant, brain, rat.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى تحديد تأثيرات المكملات لألفا - توكوفيرول α -T بجرعات مختلفة (500 الى 1000 مغ/كغ من الغذاء) على ذكور الجرذان من سلالة ويستار Wistar و هذا على مستوى تطور الوزن، أنسجة المخ و كذا على بعض المعايير الكيميائية الحيوية (البروتينات، MDA والكاتالاز). مع العلم أن هذه الأخيرة لم يتم تنفيذها.

في نهاية هذه الدراسة، تظهر النتائج الرئيسية لمعدل التغيير في وزن الجسم انخفاضا غير معتد به في جرعات 500 الى 700 مغ من ألفا-توكوفيرول/كغ من الغذاء، و انخفاض كبير في جرعات 750 الى 900 مغ من الألفا-توكوفيرول/كغ من الغذاء، بالإضافة الى انخفاض ذات أهمية كبيرة في الجرعات من 950 الى 1000 مغ من ألفا-توكوفيرول/كغ من الغذاء، و فيما يتعلق بالفحص النسيجي لمخ الجرذان المعالجة بجرعات تتراوح من 500 الى 900 مغ من ألفا- توكوفيرول /كغ من الغذاء، أظهرت النتائج حمة دماغية طبيعية و هذا راجع الى التأثير الوقائي ل α -T ضد أنواع الأكسجين التفاعلية. إلا أن في الدفعات المكمل ب 950 و 1000 مغ من ألفا- توكوفيرول/كغ من الغذاء، حصلنا على وذمة بؤرية و خلايا نخرية و تسلل طفيف للخلايا اللمفاوية، هذا ما يشير الى أنه كان هناك تأثير كمؤيد للأكسدة بالنسبة لل α -T .

بالنسبة للمعلومات البيوكيميائية، تشير النتائج التي تم الحصول عليها أثناء الدراسة النسيجية الى أننا كنا سنحصل على انخفاض أو ثبات في معدل MDA و كذا نتائج مماثلة للشاهد بالنسبة للبروتينات و الكاتالاز و هذا على جرعات من 500 الى 900 مغ من ألفا -توكوفيرول/كغ من الغذاء، أما بالنسبة للجرعات 950 و 1000 مغ من ألفا - توكوفيرول /كغ من الغذاء، نفترض أننا كنا سنحصل على انخفاض في مستوى البروتين و الكاتالاز بالإضافة الى زيادة على مستوى MDA و من هنا و بالنسبة لهذه الجرعات، نفترض أن لل α -T تأثير كمؤيد للأكسدة.

أخيرًا ، يمكننا القول أن التأثير المضاد للأكسدة لألفا توكوفيرول قد تحول إلى تأثير مؤكسد بجرعة 950 مجم لأنسجة المخ.

الكلمات المفتاحية: ألفا- توكوفيرول، مضادات الأكسدة، المؤيدة للأكسدة، الدماغ، الجرذ.

Glossaire

Alzheimer est une maladie qui atteint exclusivement le cerveau. Il est vraisemblable que l'accumulation extracellulaire de substance Béta-amyloïde dans le cerveau soit le mécanisme central de la pathogénie de la maladie d'Alzheimer. Cette accumulation aboutit à la formation de plaques séniles (Hardy et Selkoe, 2002).

Cytochrome P450 : fait partie de la famille des monooxygénases de l'hème-thiolate, et catalyse la conversion de nombreux médicaments et xénobiotiques en métabolites hydroxylés correspondants (Omura et *al.*, 2010).

La Dégénérescence Maculaire Liée à l'Âge (DMLA) est une maladie dégénérative de la partie centrale de la rétine (la macula) d'évolution chronique qui débute après l'âge de 50 ans. Elle correspond à un vieillissement trop rapide de la macula. Elle conduit à la destruction des cellules neurosensorielles et peut aboutir à la perte de la vision centrale. Les causes de cette maladie sont diverses : génétiques et environnementales (De Jong, 2006).

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative grave et handicapante caractérisée par la dégénérescence des motoneurones corticaux et des motoneurones inférieurs qui se traduit par une paralysie progressive de l'ensemble de la musculature squelettique des membres, du tronc et de l'extrémité céphalique (Boillée et *al.*, 2006).

Lipofuscine: composé terminal de l'oxydation des acides gras polyinsaturés, (Halliwell et Gutteridge, 2015), peut être définie comme un pigment brun jaunâtre, auto fluorescent et contenant des lipides qui s'accumule dans le cytoplasme des cellules pendant le vieillissement (Dolman et MacLeod, 1981).

Parkinson est une affection chronique, neurodégénérative progressive qui touche les personnes âgées généralement entre 45 et 70 ans, et se manifeste par un ensemble de symptômes neurologiques secondaires en grande partie à une atteinte spécifique des cellules dopaminergiques du locus Niger (Jeancolas et *al.*, 2016).

Liste des abréviations

ABCA1: ATP Binding Cassettes.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AGPI : Acide Gras Polyinsaturé.

AMPc: Adénosine Monophosphate cyclique.

ATP: Adénosine Triphosphate.

BHT: Butyl-Hydroxotoluène.

BSA: Bovine Serum Albumin.

CAT: Catalase.

Cu: Cuivre.

DMLA: Dégénérescence Maculaire liée à l'âge.

DO : Densité Optique.

EP2 et EP4 : Récepteurs des Prostaglandines.

ER : Espèces Réactives.

ERA : Espèces Réactives d'Azote.

ERO : Espèces Réactives d'Oxygène.

GPx: Glutathion Peroxydases.

GR : Glutathion Réductase.

GSH: Glutathion.

GSSG: Glutathion- Disulfure.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

HDL: High Density Lipoprotein.

HOCL: Acide Hypochloreux.

L°: Radical Alkyle.

LDL: Low Density Lipoprotein.

LOO°: Radical Peroxyle.

LOOH : Hydroperoxyde.

MDA: Malondialdehyde.

Mn⁺² : Manganèse.

Mn⁺ : Ion métallique.

MPO : Myeloperoxydases.

MTP: Micro omal Triglycerides Transfert Protein.

NaCl: Chlorure de sodium.

NADPH : Nicotinamide Adenine Dinucléotide Phosphate Hydrogène.

NO: Monoxyde d'azote.

NO° : Oxyde Nitrique.

NO₂° : Dioxyde d'azote.

NOS: Nitric oxide synthase.

NPC1L1: Niemann-Pick C1-Like 1.

O₂^{°-} : Anion Superoxyde.

OH°: Radical Hydroxyle.

OH⁻: Anion Hydroxylé.

ONAB: Office National des Aliments de Bétail.

ONOO⁻ : Peroxynitrite .

PFG: Produits Finaux de Glycosylation .

PKc : Protéine Kinase c.

PL : Peroxydation Lipidique.

PLTP : Plasma Lipid Transfer Protein.

PXR: Pre-gnane X Receptor.

RL: Radical Libre.

RO°:Radical alcoxyle.

ROO° : Radical Peroxyle.

RS : Régime Standard.

RSE1000:Régime Standard supplémenté avec 1000mg d' α -tocophérol /Kg d'aliment.

RSE500:Régime Standard supplémenté avec 500mg d' α -tocophérol /Kg d'aliment.

RSE600:Régime Standard supplémenté avec 600mg d' α -tocophérol /Kg d'aliment.

RSE650: Régime Standard supplémenté avec 650mg d' α -tocophérol /Kg d'aliment.

RSE700:Régime Standard supplémenté avec 700mg d' α -tocophérol /Kg d'aliment.

RSE750:Régime Standard supplémenté avec 750mg d' α -tocophérol /Kg d'aliment.

RSE800:Régime Standard supplémenté avec 800mg d' α -tocophérol /Kg d'aliment.

RSE850:Régime Standard supplémenté avec 850mg d' α -tocophérol/Kg d'aliment.

RSE900:Régime Standard supplémenté avec 900mg d' α -tocophérol /Kg d'aliment.

RSE950:Régime Standard supplémenté avec 950mg d' α -tocophérol /Kg d'aliment.

Se : Sélénium.

SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique.

SOD: Superoxyde Dismutases.

SR-B1: Scavenger Receptor type B1.

TBA: Acide Thiobarbiturique

TBA-RS: Thiobarbituric Acid-Reactive Substances.

TCA: Acide Tétrachloroacétique.

TMP: Alpha Tocopherol Mediated Peroxidation.

Vit E: Vitamine E.

VLDL: Very Low Density Lipoprotein.

Zn: Zinc.

α -T°: Radical α -Tocophéroxyl.

α -TTP: α -Tocopherol Transfert Protein.

α -T : α -Tocophérol.

$^1\text{O}_2$: Oxygène Singulet.

Liste des figures

Figure 01 : Phase d'initiation, de propagation et de terminaison de la peroxydation lipidique (Michel et <i>al.</i> , 2008).....	8
Figure 02 : Pathologies liées aux espèces réactives d'oxygène (Lee et <i>al.</i> , 2004).....	10
Figure 03 : Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant (Durand et <i>al.</i> , 2013).....	11
Figure 04 : Structure des différents vitamères de la vitamine E (Landrier, 2011).....	16
Figure 05 : Absorption, transport et distribution de l' α -T (Azzi et Stocker, 2000).....	18
Figure 06 : La régénération de la vitamine E par l'acide ascorbique (Leverve, 2009).....	19
Figure 07 : Expérimentation animal.....	23
Figure 08 : Aliments fournis aux rats sous forme de poudre.....	25
Figure 09 : La vitamine E.....	25
Figures 10 : Automate de traitement des tissus du type Leica.....	26
Figure 11 : Appareils d'enrobages (d'inclusion) du type SLEE.....	27
Figure 12 : Microtome du type Leica.....	27
Figure 13 : Automate de coloration du type SLEE.....	28
Figure 14 : effets de la supplémentation d'un régime standard en α -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 et 1000mg d' α -T/kg d'aliment).....	35
Figure 15 : Variations du poids cérébral (g) chez les rats soumis à différentes doses α -tocophérol.....	37
Figure 16 (RSE500, RSE600, RSE650, RSE700, RSE750, RSE800, RSE850 et RSE900) : Micrographie du parenchyme cérébrale montrant une architecture normale chez les lots RS, RSE500, RSE600, RSE650, RSE700, RSE750, RSE800, RSE850 et RSE900.....	40
Figure 17 (a et b) : Micrographie du parenchyme cérébrale du lot RSE950.....	41
Figure 18 (a et b) : Micrographie du parenchyme cérébrale du lot RSE1000.....	41

Liste des tableaux

Tableau I: Principales Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote (Taibur et <i>al.</i> , 2012)...	3
Tableau II : Sources endogènes et exogènes du stress oxydatif (Small et <i>al.</i> , 2012).....	7
Tableau III : Différents régimes alimentaires.....	24
Tableau IV : Les étapes de la coloration du tissu cérébrale.....	28
Tableau V : Gamme étalon réalisé à partir de la solution BSA.....	30

Tables des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I: Stress oxydatif

I.1.Généralités.....	3
I.2. Différentes espèces réactives.....	3
I.2.1.Espèces Réactives d'Oxygène	4
I.2.1.1.Espèces radicalaires.....	4
I.2.1.2. Espèces non radicalaires.....	5
I.2.2. Espèces Réactives Azotés	6
I.2.2.1. Espèces radicalaires	6
I.2.2.2. Espèce non radicalaire	6
I.3.Sources du stress oxydatif	6
I.4. Les effets du stress oxydant sur les macromolécules biologiques	7
I.4.1.Lipides	7
I.4.2. Protéines	9

I.4.3. L'acide désoxyribonucléique	9
I.4.4. Glucides	9
I.5. Implication du stress oxydatif dans les pathologies	10
Chapitre II: Systèmes antioxydants	
II.1. Généralités	11
II.2. les systèmes antioxydants	11
II.2.1. Systèmes antioxydants endogènes	12
II.2.1.1. Système antioxydant endogène enzymatique	12
II.2.1.2. Système antioxydant endogène non enzymatique	13
II.2.2. Systèmes antioxydants nutritionnels.....	14
II.2.2.1. Système antioxydant nutritionnel lipophile	14
II.2.2.2. Système antioxydant nutritionnel hydrophile	15
Chapitre III: Vitamine E	
III.1. Historique	16
III.2. Généralités	16
III.3. Propriétés physicochimiques	17
III.4. Métabolisme	17
III.5. Source de la vitamine E	18
III.6. Effets anti et pro-oxydant de la vitamine E	19
III.6.1. Effets antioxydants	19
III.6.2. Effets pro-oxydants	21
III.7. Bienfaits et rôles de la vitamine E dans l'organisme	22

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I: Matériel et méthodes

I.1. Matériel	23
I.1.1. Matériel non biologique	23
I.1.2. Matériel biologique	23
I.1.2.1. Animaux étudiés	23
I.1.2.2. Expérimentation	24
I.1.2.3. Préparation de l'aliment	25
I.1.2.4. Sacrifice et prélèvement du cerveau	26
I.2. Méthodes	26
I.2.1. Réalisation des coupes histologiques	26
I.2.2. Dosage des protéines	29
I.2.3. Dosage du Malondialdéhyde	31
I.2.4. Dosage de l'activité de la catalase	32
I.3. Etude statistique	33

Chapitre II: Résultats et discussion

II.1. Modifications physiologiques	34
II.1.1. Symptomatologie	34
II.1.2. Effet de la supplémentation en α -tocophérol sur les paramètres pondéraux	34
II.2. Effet de la supplémentation en α -T à différents doses sur l'histologie du tissu cérébral.....	38

II.3. Effet de la supplémentation en α -T à des doses croissantes (500 à 1000 mg d' α -T/kg) sur la teneur en protéines, le taux en MDA et l'activité de la catalase.....43

III.3.1.Effets de la supplémentation des doses croissantes d' α -T (500 à 900) sur les teneurs en MDA et en protéines ainsi que l'activité de la catalase du tissu cérébral.....43

III.3.2. Effets de la supplémentation de doses croissante d' α -T (950 et 1000mg d' α -T/kg) sur les teneurs en MDA et en protéines ainsi que l'activité de la catalase du tissu cérébral.....44

Conclusion46

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets délétères dans l'organisme via la formation des radicaux libres et d'espèces oxygénées activées. Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisque, vers le milieu des années 50, Gerschman et Hartman avaient déjà évoqué la toxicité de l'oxygène et la «free radical theory» pour expliquer le processus de vieillissement. En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir des globules rouges humains, un système enzymatique antioxydant, la superoxyde dismutase, capable d'éliminer l'anion superoxyde, démontrant ainsi pour la première fois, que notre organisme produit des espèces oxygénées activées. Cette découverte sera le point de départ, dans le monde entier, de nombreuses recherches sur le stress oxydant et les antioxydants.

Cependant, l'excès de la production des espèces réactives d'oxygène et d'azote peut devenir toxique pour les composants majeurs de la cellule: les lipides, les protéines, les acides nucléiques et les sucres. De ce fait les cellules ont développé des systèmes protecteurs efficaces qui contrôlent les effets délétères des radicaux libres. Ces systèmes reposent en particulier sur trois enzymes : la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase. Un défaut d'équilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense constitue un stress oxydant. Le rôle étiologique du stress oxydant dans les mécanismes de mort cellulaire au cours des maladies neurodégénératives est évoqué depuis plusieurs années. Parmi ces affections, la maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale amyotrophique (SLA) et la maladie de Parkinson sont les plus fréquentes (Desport et Couratier, 2002).

La vitamine E (α -tocophérol) est l'antioxydant liposoluble majeur des lipides. Elle protège *in vivo* les structures moléculaires particulièrement sensibles à l'oxydation et les structures condensées riches en lipides, elle protège également de l'oxydation des bases nucléotidiques d'ADN (Léger, 2000). Cependant, l'effet pro-oxydant de l' α -tocophérol consiste à augmenter la peroxydation lipidique, ce processus est bien connu *in vitro*. Des études sur des suspensions micellaires ont montrés que de fortes doses en vitamine E avaient un effet pro-oxydant. La cause de cette activité pro-oxydante et l'interaction du radical tocophéroxyl avec des radicaux peroxydes ou avec des acides gras polyinsaturés dans les lipoprotéines de basse densité. Cette réaction mène à l'accumulation des hydroperoxydes et des diènes conjugués (Mukai, 1993).

Actuellement, il existe très peu d'études *in vivo* sur le potentiel pro-oxydant de fortes doses de vitamine E. C'est la raison pour laquelle nous avons axé notre recherche, dont l'objectif est d'étudier l'effet de la supplémentation d' α -T à différentes doses (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 et 1000 mg/Kg d'aliments) sur quelques paramètres biochimiques du stress oxydatif et sur l'histologie du tissu cérébral chez des rats Wistar.

Le présent travail est subdivisé en deux parties, la première partie présente une étude bibliographique dans laquelle nous apportons un premier chapitre qui consiste à étudier des généralités sur le stress oxydant, un second chapitre concerne les systèmes de défense antioxydants et le dernier qui est consacré à l'étude de la vitamine E. La deuxième partie, l'étude expérimentale, répartie en deux chapitres : le premier chapitre, matériel et méthodes qui inclut les différents matériaux et les techniques utilisées, le second chapitre, résultats et discussion qui inclut les résultats obtenus et leurs discussions ; et enfin une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus en ouvrant sur quelques perspectives.

Partie I

Etude

bibliographique

Chapitre I : Stress oxydatif

I.1. Généralités

Dans les conditions physiologiques, un équilibre existe entre les espèces réactives (ER) : l'ensemble d'entités moléculaires chimiquement et structuralement identiques, qui sont présentes à l'état basal en faible concentration, et le système antioxydant qui est un moyen de défense en cas de production excessive d'ER (Delattre et *al.*, 2005).

Cependant, de nombreuses causes peuvent rompre cet équilibre, la perturbation de ce dernier provoque des effets délétères dus, soit à une défense anti-oxydante défailante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant ou stress oxydatif (Berger, 2006). Donc un stress oxydant est le résultat d'un déséquilibre entre les capacités de défense antioxydante de l'organisme et la production de radicaux libres (RL), qui sont des substances chimiques possédant un électron non apparié, produites par le métabolisme cellulaire qui peuvent être toxiques pour les tissus biologiques et source de lésions de l'ADN, des lipides, des membranes cellulaires et des protéines (Christen, 2000 ; Pincemail et *al.*, 2002).

I.2. Différentes espèces réactives

Selon Adelheid et Andrey (2015), les ER comportent deux classes de molécules : les espèces réactives d'oxygène (ERO) et les espèces réactives d'azote (ERA).

D'après Sen et *al.*, (2010), les ERO et les ERA décrivent les RL et autres dérivés réactifs non radicalaires représentés tableau I:

Tableau I: Principales Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote.

	Espèces Réactives d'Oxygène (ERO)	Espèces Réactives d'Azote (ERA)
Espèces radicalaires	$O_2^{\cdot -}$: Anion superoxyde OH^{\cdot} : Radical hydroxyle ROO^{\cdot} : Radical peroxyde RO^{\cdot} : Radical alcoxyde	NO^{\cdot} : Oxyde nitrique NO_2^{\cdot} : Dioxyde d'azote
Espèces non radicalaires	H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène $HOCl$: Acide hypochloreux 1O_2 : Oxygène singulet	$ONOO^-$: Peroxynitrite

(Taibur et *al.*, 2012).

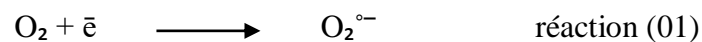
I.2.1.Espèces Réactives d'Oxygène

Les ERO sont générées soit par réduction incomplète de l'oxygène (O₂) au niveau de la mitochondrie (principalement lors de situation entraînant une sur-activation de la chaîne respiratoire comme dans le cas de l'effort physique) ou par différents systèmes enzymatiques (Durand et *al.*, 2013). Elles sont produites dans les organismes vivants dans des conditions physiopathologiques et comprennent les espèces radicalaires et non radicalaires (Mario et *al.*, 2016).

I.2.1.1.Espèces radicalaires

a. Anion superoxyde

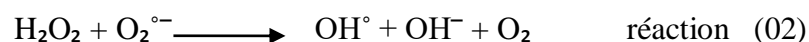
Selon Phaniendra et *al.*, (2015), l'anion superoxyde (O₂^{•-}) est issu de la réduction mono électrique d'une molécule de dioxygène. Il est donc la première ERO produite dans une situation de stress oxydant. L'addition d'un électron au dioxygène forme l'O₂^{•-} selon la réaction (01) :



D'après Weidinger et Kozlov (2015), l'O₂^{•-} est libéré comme sous produit de la respiration mitochondriale et de l'activité mono-oxygénase du cytochrome p450.

b. Radical hydroxyle

Selon Lee et *al.*, (2004), l'O₂^{•-} génère d'autre ER en participant à la réaction d'Haber-Weiss, pour former un radical hydroxyle (OH[•]) et un anion hydroxylé (OH⁻), selon la réaction (02) :

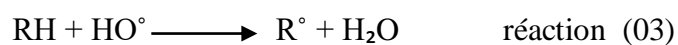


L'OH[•] est un puissant agent oxydant qui peut réagir à un rythme élevé avec la plupart des molécules organiques et inorganiques de la cellule (Kohen et Nyska, 2002).

c.Radical peroxyde et alcoxyde

Les radicaux peroxyde (ROO[•]) et alcoxyde (RO[•]) sont de bons agents oxydants, ayant plus de 1000mV de potentiel de réduction standard (Ozcan et Ogun, 2015). La partie « R » correspond à un acide gras polyinsaturé (AGPI). Leur formation comprend 2 étapes principales : la première (réaction 03) correspond à la perte d'un atome d'hydrogène causée

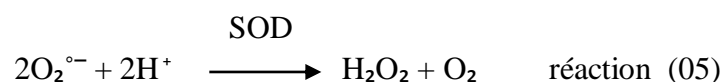
notamment par un OH° , et la seconde (réaction 04) à la liaison avec une molécule d' O_2 (McMichael, 2007; Powers et Jackson, 2008).



I.2.1.2. Espèces non radicalaires

a. Peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est un intermédiaire réduit de l' O_2 qui est relativement toxique (Gardés-Albert *et al.*, 2003). Il est produit par une réaction catalysée par la SOD selon la réaction (05) (Das et Roychoudhury, 2014):



b. Acide hypochloreux

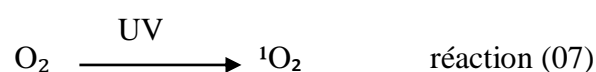
L'acide hypochloreux (HOCL) produit essentiellement par les myeloperoxydases (MPO) leucocytaires à partir d' H_2O_2 et d'ion chlorure, selon la réaction (06) (Olivier, 2004) :



L'HOCL passe facilement à travers les membranes biologiques, et peut altérer les constituants protéiques de la cellule à cause de son fort pouvoir oxydant (Powers et Jackson, 2008).

c. Oxygène singulet

Selon Sorg (2004), l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) correspond à une forme excitée de l' O_2 , il possède la même structure électronique que l' O_2 mais « agencée » différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. C'est une molécule mise en état d'excitation par activation photochimique de l' O_2 selon la réaction (07):



I.2.2. Espèces Réactives Azotés

Les ERA ont été définies comme sous groupe d'oxydants dérivés de monoxyde d'azote (NO) ou d'oxyde nitrique (NO°) (Piechota-Polanczyk et Fichna, 2014).

I.2.2.1. Espèces radicalaires

a. Oxyde nitrique

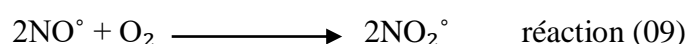
Le NO° est généré lors de la dégradation de l'arginine en citrulline par une famille d'enzymes dépendantes du NADPH appelée oxyde nitrique synthase (NOS) selon la réaction (08) (Drew et Leeuwenburgh, 2002) :



Le NO° n'est vraiment délétère pour la cellule que lorsqu'il est présent en quantité importante et qu'il génère ainsi une autre ERO (Bonfont-Rousselot et *al.*, 2003).

b. Dioxyde d'azote

Le NO₂° peut être formé par réaction de NO° avec l'O₂, Il agit comme radical oxydant comme le montre la réaction (09) (Jungbluth, 2008) :



I.2.2.2. Espèce non radicalaire

a. Peroxynitrite

La réaction entre NO° et O₂°⁻ conduit à la production de peroxynitrite (ONOO⁻) selon la réaction (10), celui-ci est un agent oxydant agressif qui peut provoquer la fragmentation de l'ADN et l'oxydation des lipides (Piechota-Polanczyk et Fichna, 2014).



I.3.Sources du stress oxydatif

Selon Sies (2018), les sources du stress oxydatif peuvent être divisées en sites endogènes et exogènes selon le tableau II :

Tableau II : Sources endogènes et exogènes du stress oxydatif.

Sources endogènes	Sources exogènes
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Phosphorylation oxydative mitochondriale ▪ La xanthine oxydase, NADPH oxydase ▪ Dégradation lysosomale et endosomale ▪ angiotensine II ▪ réticulum endoplasmique et peroxyosomes ▪ fibroblastes ▪ Cellules inflammatoires 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Polluants et toxines environnementales ▪ La fumée de cigarette ▪ Hypoxie ▪ Hyperoxie ▪ Radiation (rayonnements UV) ▪ Microbes infectieux ▪ Régime riche en calories ▪ Glucotoxicité

(Small et *al.*, 2012).

I.4. Les effets du stress oxydant sur les macromolécules biologiques

D'après Denisov et Afanas'ev (2005), certaines ERO et ERA, lorsqu'elles sont en excès, provoquent des lésions directes sur les molécules biologiques entraînant des oxydations des lipides, des protéines, de l'ADN et des glucides.

I.4.1.Lipides

Les ERO/ERA peuvent attaquer les lipides, et plus particulièrement AGPI qui sont facilement oxydables (Sharma, 2014), ceci conduit à une réaction en chaîne de peroxydation lipidique (PL), qui modifie la fluidité et la perméabilité de la membrane et peut aussi altérer le fonctionnement des protéines membranaires (Ré et *al.*, 2005).

L'oxydation des lipides polyinsaturés, en présence d'O₂, est un processus radicalaire complexe allant de la formation des produits primaires (hydroperoxydes) jusqu'à celle des produits terminaux (aldéhydes, isoprostanes), connue sous le nom de PL, qui se décompose en trois étapes (figure 01): l'initiation, la propagation et la terminaison (Michel et *al.*, 2008).

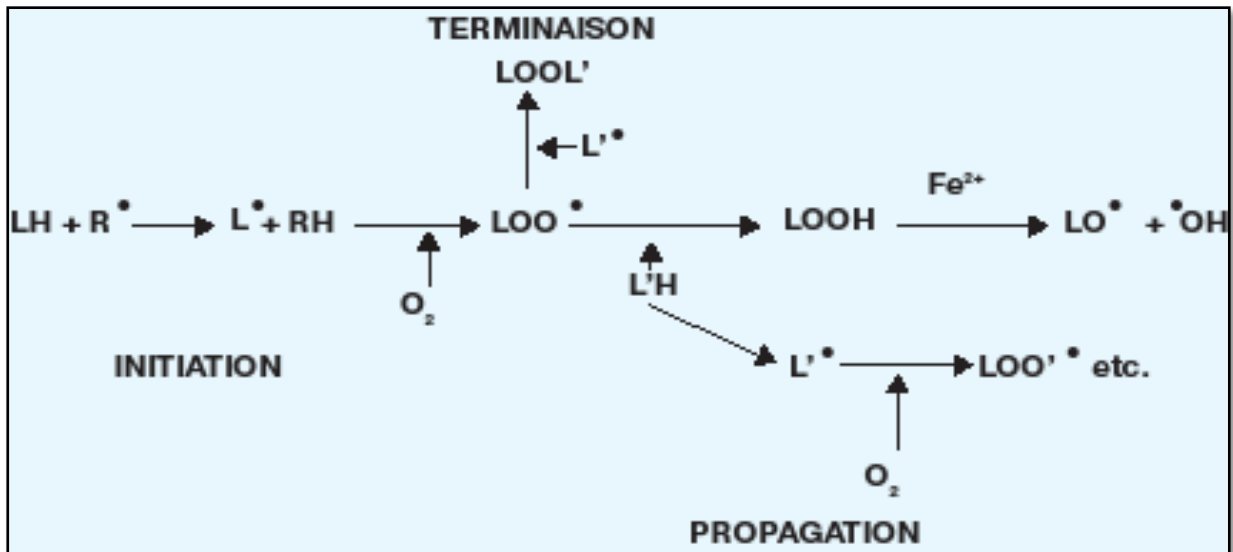


Figure 01 : Phase d'initiation, de propagation et de terminaison de la peroxydation lipidique (Michel et *al.*, 2008).

a. Phase d'initiation : aboutit à la formation d'un radical d'acide gras ou radical alkyle (L^\bullet) dont l'instabilité va rapidement induire des remaniements électroniques conduisant à la formation d'un diène conjugué (ou radical diényl) (kohen et Nyska, 2002) caractérisé par la présence de deux doubles liaisons conjuguées (Durand et *al.*, 2013).

b. Phase de propagation : Où le radical diényl (L^\bullet) se combine avec l' O_2 pour former un radical peroxyde (LOO^\bullet). Ce dernier est capable de réagir avec une molécule lipidique voisine entraînant la formation d'un hydroperoxyde ($LOOH$) et d'un nouveau radical alkyle qui assure la propagation de la réaction (Michel et *al.*, 2008 ; Durand et *al.*, 2013).

c. Phase de terminaison : la réaction de PL se termine lorsque deux radicaux lipidiques se rencontrent ou lorsque le radical lipidique interagit avec un antioxydant liposoluble tel que la vitamine E (vit E) (Ré et *al.*, 2005). Donc, la phase de terminaison consiste en la formation de composés issus de l'association de deux espèces radicalaires. Le radical (L^\bullet) réagit avec un autre RL (LOO^\bullet) ou (L^\bullet) permettant la neutralisation des RL, aboutissant ainsi à la terminaison de la chaîne de PL (Durand et *al.*, 2013).

I.4.2. Protéines

Les modifications des protéines par les ER provoquent l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine (Levine et *al.*, 1990). 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 PL. Ces modifications conduisent à une altération structurale des protéines dont les conséquences sont majeures : perte de fonction catalytique, augmentation de la sensibilité aux protéases (Stadtman et Levine, 2000).

Les acides aminés les plus sensibles à l'action des ERO sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, sur lesquels le radical OH° s'additionne, modifiant la conformation de la protéine (Kœchlin-Ramonatxo, 2006).

I.4.3. L'acide désoxyribonucléique

L'acide désoxyribonucléique (ADN), qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ERO. Les radicaux $\text{O}_2^{\circ-}$ et OH° provoquent des lésions de l'ADN, ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques (Grandjean, 2005 ; Kœchlin-Ramonatxo, 2006).

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l' O_2 . Au bas mot, cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par OH° peuvent être générées (Favier, 2003), parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines (Lobo et *al.*, 2010).

I.4.4. Glucides

Selon Halliwell et Gutteridge (2007), les ERO/ERA agissent essentiellement sur le glucose et sur les protéoglycanes, l'oxydation au sens large du glucose est aussi appelée « glycosoxydation » et regroupe en fait 2 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 » ou PFG.
- Soit formation d'une liaison covalente entre un ose et les groupements aminés 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 ONOO⁻ pour former des PFG.

I.5. Implication du stress oxydatif dans les pathologies

Le stress oxydatif a été impliqué dans diverses conditions pathologiques (figure 02) impliquant les troubles neurologiques, les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète, problèmes gastriques, vieillissement, et d'autres maladies (Valko et al., 2007; Sen et al., 2010).

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Favier, 2003).

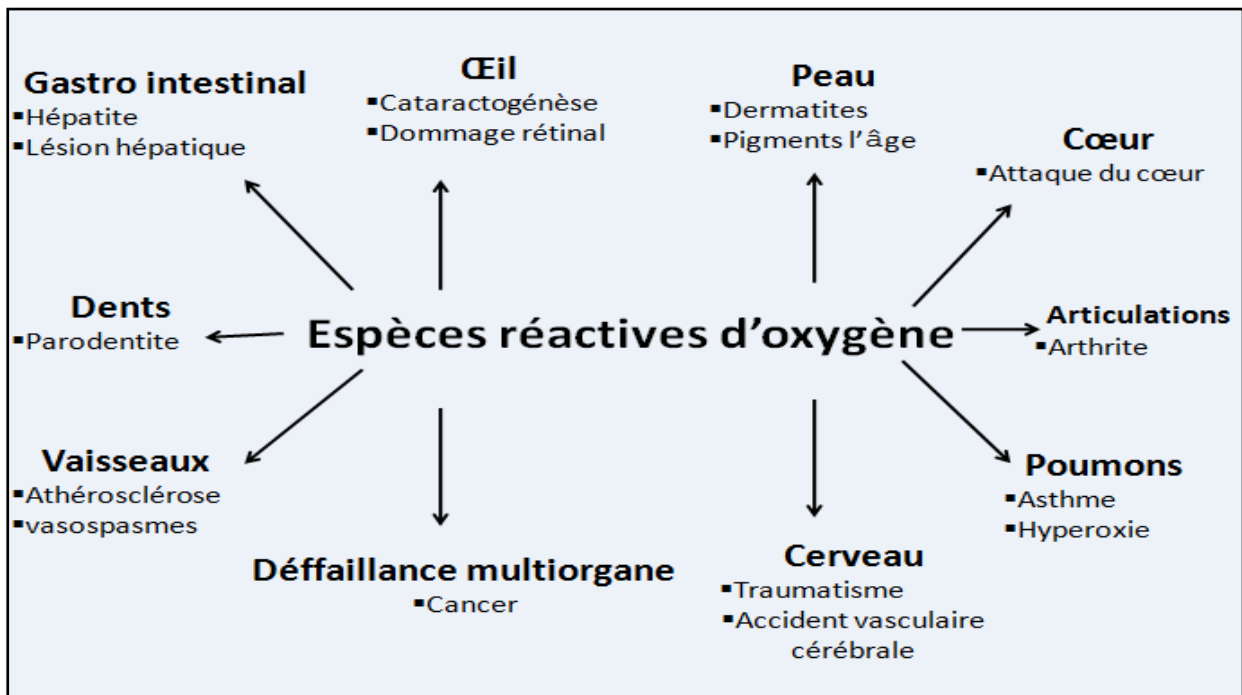


Figure 02: Pathologies liées aux espèces réactives d'oxygène (Lee et al., 2004).

Chapitre II : Systèmes antioxydants

II.1. Généralités

Pour lutter efficacement contre les dommages oxydants, l'organisme est équipé de plusieurs systèmes de défense comme les systèmes de réparation ou d'élimination de molécules endommagées par les ERO. Les systèmes dits de prévention empêchent la formation des RL. Une grande variété de molécules, désignées sous le terme d'antioxydants, assurent une protection des sites biologiques, du fait d'une élimination directe des molécules pro-oxydantes (Berge, 2006; Droge, 2002).

Cependant, un antioxydant peut être défini comme une substance qui, présente à de faibles concentrations comparées à celles des substrats oxydables, prévient significativement ou retarde l'initiation du processus d'oxydation (Guerby et *al.*, 2015). Les antioxydants sont donc des régulateurs du taux de pro-oxydants dans l'organisme. Ainsi, un antioxydant peut augmenter la durée de vie d'un aliment, réduire les pertes en vitamines ou en résidus d'acides gras essentiels, mais de fortes concentrations pourraient être responsables d'un effet pro-oxydant (Herrera et *al.*, 2001).

II.2. les systèmes antioxydants

Selon (Halliwell et Gutteridge, 1990), notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire, ainsi d'un apport nutritionnel externe (figure 03).

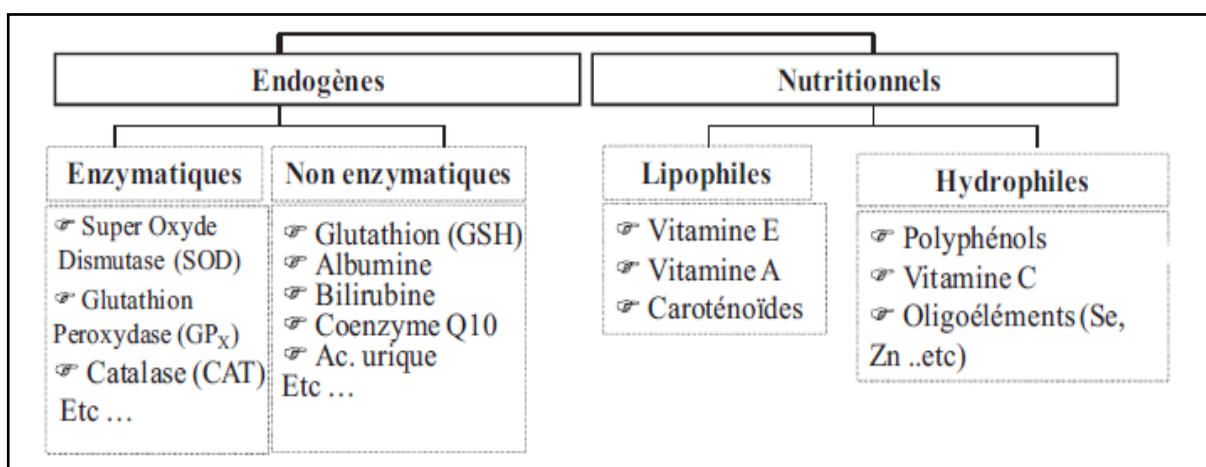


Figure 03 : Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant (Durand et *al.*, 2013).

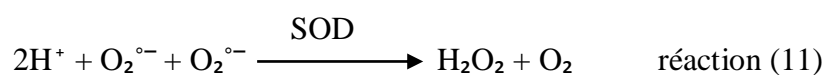
II.2.1.Systèmes antioxydants endogènes

La production physiologique d'ERO est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes : superoxyde dismutases (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydases (GPx) (Pincemail et *al.*, 2002) ou par des systèmes non enzymatique : glutathion réduit (GSH), albumine, bilirubine, coenzyme Q10 et l'acide urique (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

II.2.1.1.Système antioxydant endogène enzymatique

a. Superoxydes dismutases

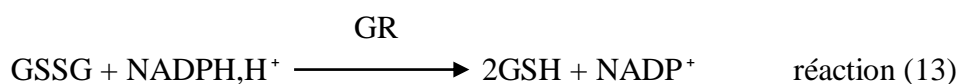
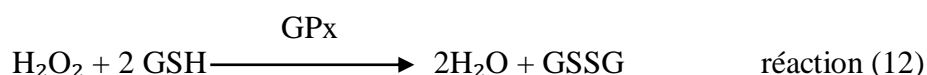
La SOD catalyse la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ en O_2 et H_2O_2 selon la réaction (11) :



Chez les mammifères, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. La Cu/Zn-SOD ou SOD1 cytosolique, et la ECSOD ou SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre (Cu) et le zinc (Zn) comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, alors que la SOD2, mitochondriale, utilise le manganèse (Mn) (Johnson et Giulivi, 2005 ; McCord et Edeas, 2005).

c. Glutathion peroxydase et glutathion réductase

La GPx est une enzyme séléno-dépendante. Elle catalyse la réaction de transformation des H_2O_2 (réaction 12). Cette réaction met en jeu une molécule antioxydante non enzymatique, le glutathion, sous sa forme réduite GSH. En réalité, 2 molécules de GSH sont nécessaires pour former la forme oxydée du glutathion à savoir le glutathion disulfide (GSSG) (Raman et Berry, 2011). La glutathion réductase (GR) a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons selon la réaction (13) (Maddipati et Marnett, 1987) :



b. Catalase

La CAT est une enzyme commune dans presque tous les organismes vivants exposés à l'O₂. Elle joue un rôle très important dans la protection de la cellule contre les dommages oxydatifs par des ERS et possède l'un des nombres les plus élevés de turnover de toutes les enzymes; une molécule de CAT peut convertir des millions de molécules d'H₂O₂ en eau et O₂ chaque seconde (réaction 14) (Switala et Loewen, 2002).



La CAT est une enzyme héminique, c'est à dire qu'elle possède un atome de fer qui participe à la fabrication de l'hème, elle est majoritairement retrouvée dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. Le rôle cellulaire de la CAT est de convertir rapidement l'H₂O₂ en d'autres substances moins dangereuses afin d'éviter d'endommager les cellules et les tissus (Valko et *al.*, 2006). La CAT se trouve généralement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol (Matés, 2000).

II.2.1.2. Système antioxydant endogène non enzymatique

a. Glutathion réduit

Le GSH peut agir directement avec les RL mais il est essentiellement utilisé comme substrat par la GPx pour l'élimination des H₂O₂. Lors d'un stress oxydant, le taux de GSH généralement diminue. Pour cela, il est important d'évaluer le glutathion oxydé (GSSG) et le rapport GSH/GSSG afin d'avoir une idée plus précise sur le fonctionnement de cet antioxydant (Hellsten et *al.*, 2001).

b. Albumine

L'albumine possède des propriétés antioxydants. Elle est considérée comme la principale molécule antioxydante dans le plasma mais aussi la plus abondante (Halliwell, 1988). Le plasma est un compartiment en constante exposition au stress oxydant, ce qui rend important ce rôle d'antioxydant (Roche et *al.*, 2008).

c. Bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales (Defraigne, 2005).

La bilirubine est capable de piéger ROO° et $^1\text{O}_2$, et protège ainsi l'albumine et les acides gras, des attaques radicalaires (Théron et Bonnefont-Rousselot, 2005).

d. Coenzyme Q10

Le coenzyme Q10, appelé ubiquinone, joue un rôle essentiel dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et est un puissant inhibiteur de PL, en synergie avec la vit E (Langsjoen et Langsjoen, 2003).

e. Acide urique

L'acide urique est issu du catabolisme des bases puriques (Johnson et *al.*, 2009). En cas de stress oxydant, la concentration de l'acide urique augmente (Glantzounis et *al.*, 2005). Il agit comme un donneur d'électron capable de stabiliser les radicaux OH° , ROO° et $^1\text{O}_2$ (Powers et Jackson, 2008).

II.2.2. Systèmes antioxydants nutritionnels

Certains composés antioxydants comme la vit E, C, et les caroténoïdes apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables (Kinsky, 1989).

II.2.2.1. Système antioxydant nutritionnel lipophile

a. Vitamine E

Selon Vertuani et *al.*, (2004), la vit E est la molécule antioxydante liposoluble la plus abondante de notre organisme. Elle est chargée de neutraliser les RL en excès, et agit de deux façons différentes, soit en piégeant directement les ERO, soit en régulant à la hausse les enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la GPx, la CAT du foie, la glutathion-transférase et la NADPH réductase.

b. Vitamine A

La vitamine A (ou rétinol) est un micronutriment liposoluble impliqué dans de nombreuses fonctions biologiques telles que le développement embryonnaire, les processus de croissance cellulaire, la vision ou encore l'immunité (Maden et Hind, 2003). Il est nécessaire de bien contrôler les apports en vitamine A car un apport insuffisant (hypovitaminose) ou excessif (hypervitaminose) peut entraîner des effets néfastes à long terme et ainsi être la cause de diverses pathologies (Lane et Bailey, 2005).

c. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des substances naturelles jouant le rôle de pigments dont le plus connu est le β -carotène. Tout comme la vit E, ce sont des antioxydants présents dans les compartiments lipidiques (Krinsky, 2001). Ils captent l' OH° et ROO° , ce qui les rend susceptibles d'inhiber la PL. Ils captent également l' $^1\text{O}_2$, permettant de protéger ainsi contre les rayons UV (Gardès-Albert et *al.*, 2003).

II.2.2.2. Système antioxydant nutritionnel hydrophile

a. Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des ERO et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le Cu (Vincent et Taylor, 2006).

b. Vitamines C

La vitamine C ou ascorbate est un piègeur d'ERO. Il est capable de régénérer la vit E, ce qui permet de déplacer les ERO de la membrane vers le cytosol et de prévenir la PL (Rice, 2000). L'ascorbate est également capable de réduire les métaux de transition et donc d'avoir des effets pro-oxydants. Ses principales sources alimentaires sont les fruits (agrumes, kiwi, cerises, melon) et les légumes (tomates, légumes verts, brocoli et chou) (Carr et Frei, 1999).

c. Les oligo-éléments

Le Cu, le Zn, le sélénium (Se) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant (Buldak et *al.*, 2014). Ils sont indispensables pour l'activité des enzymes antioxydantes (Cu, Zn-SOD, MnSOD, SeGPx) (Coyle et *al.*, 2002).

Chapitre III : Vitamine E

III.1. Historique

La vitamine E fût découverte en 1922 par Evans et Bishop comme un composé nécessaire à la reproduction des rats. Les propriétés antioxydantes de la vit E sont découvertes plus tard et sont à l'origine d'un grand nombre de travaux depuis la première publication en 1952. Elle est reconnue comme constituant essentiel dans la nutrition de l'homme en 1968. C'est au début des années 1980 que seront révélées les propriétés cellulo-régulatrices de la vit E (Corwin et Shloss, 1980), et l'idée s'est fait jour progressivement, que ces propriétés (ou certaines d'entre elles) ne relevaient pas des propriétés antioxydantes de la vitamine (Chatelain et *al.*, 1993). De plus, il est intéressant de noter que les tocophérols et tocotriénols ont été récemment impliqués dans l'induction de l'expression de certains gènes (Landes et *al.*, 2003). Ainsi que l' α -tocopherol (α -T) est la forme prédominante de la vit E dans les tissus et le plasma humain, elle est considérée comme l'antioxydant le plus effectif (Sánchez-Sevilla et *al.*, 2016).

III.2. Généralités

La vit E est un micronutriment lipidique essentiel pour la santé humaine (Desmarchelier et *al.*, 2014). Il est le principal antioxydant liposoluble. Le terme vit E englobe différents isomères (Peh et *al.*, 2015) (figure 04), l' α -T étant l'antioxydant le plus efficace, notamment dans la détoxification des radicaux ROO° et RO° et donc dans la prévention des réactions en chaîne de la PL. Le radical α -tocophéroxyde ($\alpha\text{-T}^\circ$) formé doit être réduit pour régénérer le tocophérol et cette réduction est réalisée par d'autres antioxydants, dont la vitamine C et le GSH (Ré et *al.*, 2005).

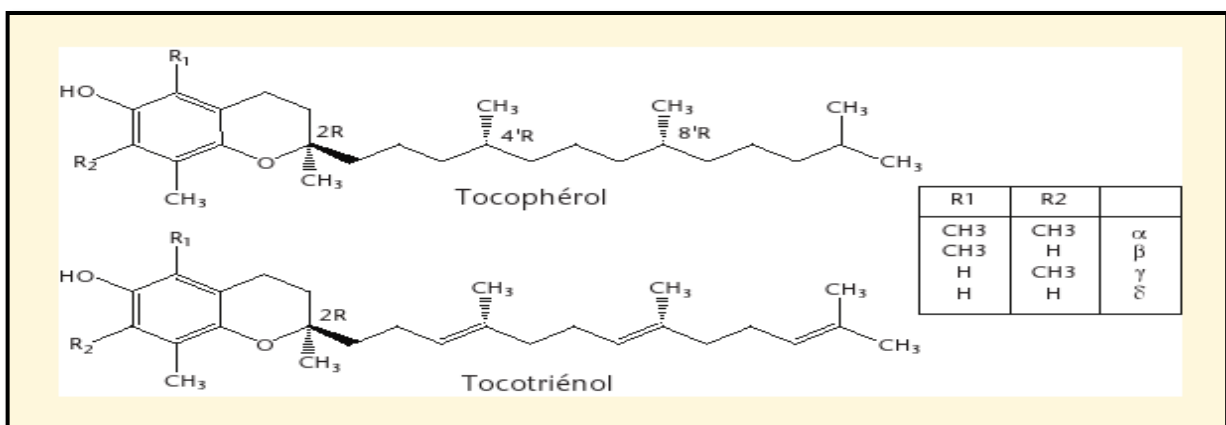


Figure 04: Structure des différents vitamères de la vitamine E (Landrier, 2011).

III.3. Propriétés physicochimiques

La vit E se présente, à température ambiante, sous la forme d'une huile visqueuse d'une couleur jaune pâle qui s'oxyde facilement lorsqu'elle est exposée à la lumière, à l'O₂ et aux métaux de transition. Elle est peu sensible à la chaleur et aux acides, mais très sensible à l'oxydation et aux bases (Claude, 2003). Elle agit en synergie avec la vitamine C, le Se et le Zn (Peh et *al.*, 2015).

En agro alimentaire, la vit E est aussi utilisée comme additif alimentaire (E306) pour ses vertus anti-oxydantes (Azzi et Socker, 2000).

III.4. Métabolisme

La vit E n'est pas dégradée dans le haut du tube digestif humain (Borel et *al.*, 2001). Seule une partie de la vit E contenue dans les aliments est absorbée. La digestion de la vit E suit celle des lipides alimentaires. Elle est incorporée dans les micelles mixtes issues de la digestion des lipides et est absorbée dans le duodénum. Les transporteurs scavenger receptor type B1 (SR-B1) (Reboul et *al.*, 2006) et Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) (Narushima et *al.*, 2008) sont impliqués dans cette absorption. Il est admis que la vit E est incorporée sous forme libre dans les chylomicrons. Ce processus implique la MTP (micro-somal triglycerides transfert protein) (Anwar et *al.*, 2007). En cas de faible apport alimentaire de lipides ne permettant pas la sécrétion de chylomicrons, une partie de la vit E semble être excrétée dans les HDL d'origine intestinale par un transporteur de la famille des ATP binding cassettes: ABCA1 (Anwar et *al.*, 2006, Reboul, 2011). La vit E restant dans les chylomicrons résiduels, c'est-à-dire celle qui n'a pas été échangée avec d'autres lipoprotéines ou distribuée aux tissus périphériques lors de la lipolyse par les lipases endothéliales, est captée par le foie. L' α -T est incorporé dans les VLDL selon un mécanisme non élucidé, ce qui va permettre sa distribution aux tissus périphériques (Traber, 2007).

La vit E se répartie entre les différentes classes des lipoprotéines par des échanges dépendants du plasma phospholipid transfer protein (PLTP) (Lemaire-Ewing et *al.*, 2010). La captation de la vit E au niveau tissulaire pourrait faire intervenir soit le catabolisme des lipoprotéines sous l'action de la lipase endothéliale, soit un captage direct après endocytose des LDL ou les HDL (figure 05). Le rôle du transporteur lipidique SR-B1 a été mis en évidence dans le captage cellulaire de la vit E par différents tissus (Mardones et *al.*, 2002).

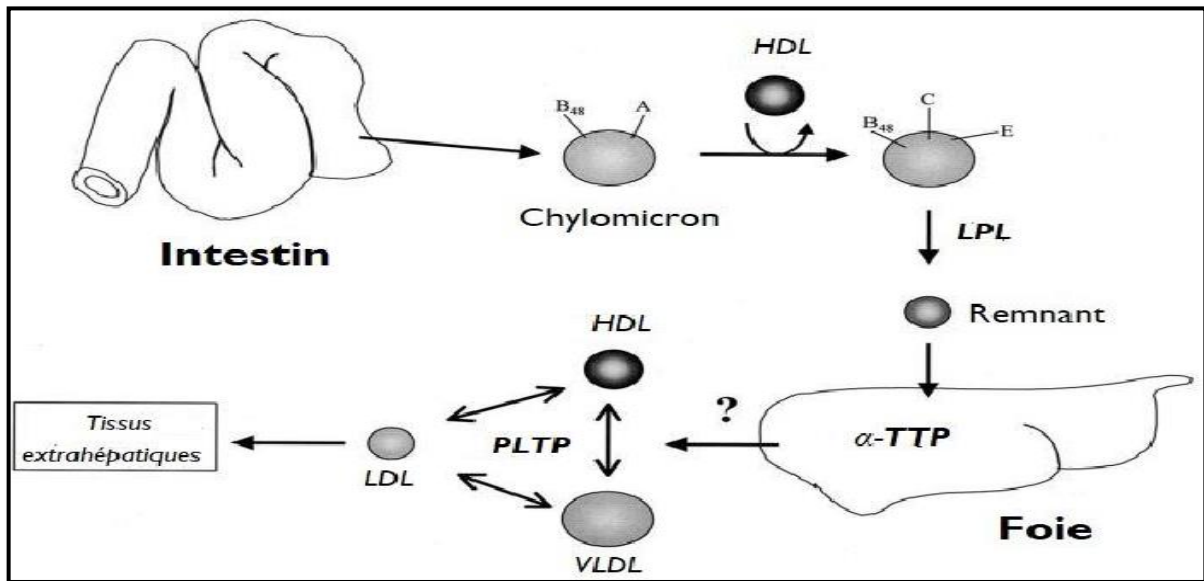


Figure 05 : Absorption, transport et distribution de l' α -T (Azzi et Stocker, 2000).

Le transport intracellulaire de la vit E pourrait faire intervenir des transporteurs spécifiques appelés TAP, toutefois leurs propriétés et leurs fonctions restent à élucider (Zingg *et al.*, 2008).

Toutes les formes de vit E sont dégradées au niveau hépatique par un mécanisme commun d'hydroxylation catalysée par des enzymes cytochrome P450 suivie d'une β -oxydation (Brigelius-Flohe et Galli, 2010).

III.5. Source de la vitamine E

La vit E est synthétisé uniquement par les organismes photosynthétiques. L' α -T est contenu dans les chloroplastes des cellules végétales alors que les β , γ et δ se trouvent généralement en dehors des parties vertes (Gerald et Combs, 2012). Il est bien connu que la vit E est présente dans une large gamme d'aliments, y compris les légumes à feuilles vertes, les aliments gras (huiles, noix, graines et jaune d'œuf) (Olatunya *et al.*, 2019).

Selon Landrier *et al.*, (2011), la vit E se trouve majoritairement dans les huiles végétales et les oléagineux. Pour assurer un bon apport quotidien en vit E, il est fortement recommandé de varier les huiles végétales et de les consommer à chaque repas. Kodad et Alonso, (2018) présentent les résultats d'une des espèces de noix les plus importantes au monde, l'amandier. Les amandes présentent les taux les plus élevés de tocophérols parmi toutes les noix, en fonction du génotype et de l'environnement. Les autres sources comprennent le seigle, l'amarante, la noix, la noisette, le pavot, le carthame, le maïs et les

pépins de raisin et de citrouille. La vit E dérivative a également été détectée dans le lait maternel, les dattes de palme, le son de riz et l'huile d'annatto (Nehdi et *al.*, 2010).

III.6. Effets anti et pro-oxydants de la vitamine E

III.6.1. Effets antioxydants

La vit E est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme située dans les lipoprotéines et dans les membranes, l' α -T est capable de piéger les radicaux $O_2^{\circ-}$ et HO° , et de stabiliser le 1O_2 . Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux ROO° pour former un radical tocophéryle, elle joue donc un rôle protecteur en empêchant la propagation de la PL induite par un stress oxydant (Traber et Atkinson, 2007). Par la suite la vit E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C, mais également par d'autres composés comme le GSH, la vitamine A et l'ubiquinol selon la figure (07) (Delattre et *al.*, 2005).

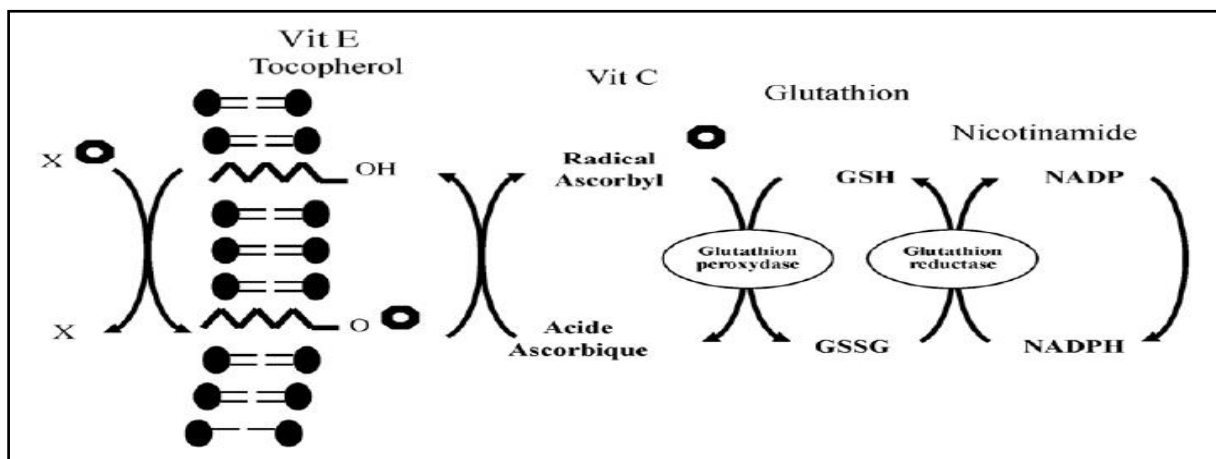


Figure 06: La régénération de la vitamine E par l'acide ascorbique (Leverve, 2009).

La vit E agit indirectement sur le métabolisme des cellules endothéliales dans un sens qui favorise le statut anti-athérogénique de l'endothélium. Ainsi, elle s'oppose de la même façon à la différenciation des monocytes en macrophages et à l'expression de récepteurs des monocytes intervenant dans l'adhésion (Weber et *al.*, 1995). De plus, elle modifie la synthèse des eicosanoïdes, et diminue la fibrinolyse (Jialal et Devaraj, 1996).

Il existe une littérature abondante sur les études animales qui démontrent l'importance de l' α -T pour le bon fonctionnement du cerveau, y compris la protection contre la PL (Nishida et *al.*, 2009), la perte de neurones (Bostanci et *al.*, 2010), le dépôt de β -amyloïde (Yang et

al., 2010), les dommages à l'ADN (Crouzin et *al.*, 2010), le dysfonctionnement mitochondrial (Navarro et *al.*, 2011) et le déclin de la mémoire et de l'apprentissage (Conte et *al.*, 2004).

En parallèle de ces travaux sur les effets antioxydants, d'autres études ont montré que la vit E est capable de moduler l'expression de gènes via un certain nombre de voies de signalisation et de récepteurs nucléaires (Azzi, 2007). En effet, il a été décrit que l' α - et le γ -tocotrienol, ainsi que l' α - et le γ -tocophérol dans une moindre mesure, sont des ligands de PXR (pre-gnane X receptor), un récepteur nucléaire implique dans le métabolisme de xénobiotiques ainsi que dans le catabolisme de la vit E (Landes et *al.*, 2003).

L' α -T inhibe l'activité de la PKc dans divers types de cellules avec une inhibition de l'agrégation des plaquettes et de la production de NO° dans les neutrophiles et les macrophages, démontrant ainsi un rôle de l' α -T dans la modification de la signalisation cellulaire (Azzi et *al.*, 2002). Par conséquent, le rôle d' α -T dans la prévention des maladies ne semble pas être simplement un piège de radical (Lee et *al.*, 2006).

Globalement, à l'échelle moléculaire, les tocophérols jouent de nombreux rôles. Ils neutralisent en particulier les formes actives et toxiques de l'O₂, ils annihilent les RL; c'est-à-dire qu'ils protègent les acides gras insaturés contre les peroxydations, et contribuent ainsi à maintenir l'intégrité et la stabilité des structures cellulaires cérébrales. Ils agissent en phase lipidique et à très faible concentration et s'intègrent dans un vaste système protecteur complexe et interactif, en coopération avec le β -carotène, la vitamine A, la vitamine C et diverses enzymes fonctionnant avec le Se, le Cu, le Zn et le Mn (Bourre, 2004).

D'après Salinthonne et *al.*, (2013), l' α -T, présente à la fois des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Contrairement à d'autres antioxydants, l' α -T stimule la production d'AMPc. Des études sur les inhibiteurs démontrent que les récepteurs des prostaglandines EP2 et EP4 et les adényl cyclases médient l'effet de l' α -T sur la production d'AMPc. De plus, l' α -T atténue la production de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires. Cette étude fournit de nouvelles preuves que l' α -T stimule la signalisation d'AMPc, suggérant un mécanisme d'action pour les effets immunomodulateurs de la vit E.

Le tocophérol est utilisé comme agent bioactif car il possède de fortes activités antioxydantes et anticancéreuses (Saldanha do Carmo et *al.*, 2017), ce qui le rend largement utilisé pour réduire le risque de maladies cardiovasculaires (Wongsasulak et *al.*, 2014). Ainsi,

il est essentielle au développement de tissus et d'organes tels que le cerveau, les nerfs, la peau, les muscles, les os, la moelle osseuse et le sang (Galli et *al.*, 2017).

III.6.2. Effets pro-oxydants

En l'absence de systèmes de régénération, la vit E peut avoir des effets pro-oxydants (Brigelius-Floche et Traber, 1999). Plusieurs chercheurs ont montré que l' α -T à forte concentration peut avoir des effets néfastes et qu'elle agissait comme un pro-oxydant en absence de réducteurs de radical α -T° (Landrier et *al.*, 2010).

Des études ultérieures sur l'oxydation des LDL *in vitro* ont montré que dans certaines conditions, l' α -T pourrait agir comme agent pro-oxydant, augmenter le taux d'oxydation (Krillov et *al.*, 2014). Ce processus a été appelé la peroxydation médiée de l' α -T (TMP) et suggérée au départ par Stocker et son groupe (Bowry et Stocker, 1993).

Selon Sayre et *al.*, (2005), les tocophérols peuvent aussi *in vitro* réduire les ions métalliques (Mn^+) en ions (Mn^{+2}) capables d'exercer une action pro-oxydante. Dans ce cas les tocophérols ne sont pas directement des pro-oxydants, ils réagissent plutôt de façon synergique en présence de pro-oxydants reconnus comme les métaux de transition sous forme ioniques, les lipides peroxydés. C'est pour cela qu'ils sont appelés co-pro-oxydants.

D'après Zingg et Azzi (2004), il a également été démontré d'autres effets pro-oxydants de la vit E : la modulation de l'expression des gènes (Zingg, 2015), inhibition de la prolifération cellulaire (Jiang et *al.*, 2004) et la régulation de la masse osseuse (Fujita et *al.*, 2012). De plus, elle est impliquée dans l'étiologie de plusieurs maladies, par exemple, maladies cardiovasculaires et cancers. De nombreuses études épidémiologiques ont étudié l'association entre l'apport ou le statut alimentaire vit E (généralement α -T) et l'incidence de ces maladies et les associations négatives signalées (Negis et *al.*, 2009).

III.7. Bienfaits et rôles de la vitamine E dans l'organisme

Selon Leger (2000), la vit E peut contribuer à maintenir en santé le système immunitaire et à protéger des maladies chroniques comme les maladies du cœur et le cancer.

- **Protection contre la dégénérescence maculaire liée à l'âge et les maladies neurodégénératives**

La vit E pourrait avoir des effets prometteurs sur les fonctions cognitives et l'acuité visuelle. À ce titre, des études soulignent l'effet positif de cette vitamine sur diverses affections telles que la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), la cataracte, et la maladie d'Alzheimer (Leger, 2000).

- **Prévention des maladies cardiovasculaires**

L' α -T constitue et préserve les lipides membranaires. Il a un effet protecteur sur le système cardiovasculaire. De plus, son effet anti-inflammatoire limite le processus d'athérosclérose, facteur de risque d'accidents cardiovasculaires. Une consommation suffisante de vit E pourrait, à ce titre, réduire la mortalité par accidents cardiovasculaires (Lobo et *al.*, 2010).

- **Protection contre les cancers**

Dans les études d'intervention, les personnes traitées à la vit E ont eu moins d'incidents de cancer de la prostate et du cancer colorectal par rapport au groupe ne recevant pas de protection à la vit E. la protection par l' α -T semble également se produire pour certains types de cancers du sein (Hartman et *al.*, 1998).

Partie II
Etude
expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

Notre étude qui s'est étalée entre le mois de mars et le mois de septembre et qui a consistée à réaliser une expérimentation animale au niveau de l'animalerie de l'Institut Pasteur (Dely Brahim / Alger), et une étude histologique au niveau du laboratoire d'Anatomie et Pathologie de l'hôpital professeur Fares Yahia (Koléa/Tipaza), afin de mettre en évidence les effets de la supplémentation de l' α -T à différentes doses sur l'histologie du tissu cérébral chez des rats mâles de souche Wistar et ceci sur une période de 12 semaines, ainsi que sur la teneur en protéines, le taux en MDA et l'activité enzymatique de la catalase. Il est à noter que les paramètres du stress n'ont pas été dosés à cause de l'épidémie "Covid 19".

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel non biologique (Annexe 01)

I.1.2. Matériel biologique

I.1.2.1. Animaux étudiés

L'expérimentation a été réalisée sur 33 rats mâles de souche Wistar, dont le poids corporel varie entre 70 et 81g, fournis par l'Institut Pasteur de Ruisseaux / Alger.

Les rats sont mis dans des cages individuelles en polyéthylène tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois munies d'une porte étiquette où est mentionné le nom du lot, le traitement subi et les dates des expérimentations. Les cages sont nettoyées et la litière changée une fois tout les trois jours jusqu'à la fin de l'expérimentation (figure 07). L'eau de boisson est donnée *ad libitum* dans des biberons adaptés aux cages.



Figure 07 : Expérimentation animal (photo original).

La température de l'animalerie était de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, un éclairage selon un rythme circadien 12h jour/12h nuit et une hygrométrie de 35%.

Les rats ont été soumis à une phase d'adaptation d'une semaine, durant laquelle ils ont été nourris avec un régime standard sous forme de poudre. Tous les 3 ou 4 jours les rats étaient pesés.

I.1.2.2. Expérimentation

La vit E (α -T) a été administrée pendant 11 semaines à 11 lots de 3 rats chacun (Tableau III).

Tableau III : Différents régimes alimentaires.

Lots	Régime consommé
Lot1	Un régime standard (RS).
Lot2	RS supplémenté avec 500mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE500).
Lot3	RS supplémenté avec 600mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE600).
Lot4	RS supplémenté avec 650mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE650).
Lot5	RS supplémenté avec 700mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE700).
Lot6	RS supplémenté avec 750mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE750).
Lot7	RS supplémenté avec 800mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE800).
Lot8	RS supplémenté avec 850mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE850).
Lot9	RS supplémenté avec 900mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE900).
Lot10	RS supplémenté avec 950mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE950).
Lot11	RS supplémenté avec 1000mg d' α -T/Kg d'aliment (RSE1000).

I.1.2.3. Préparation de l'aliment

La nourriture a été fournie par l'Office National des Aliments de Bétail (ONAB), est apportée aux rats sous forme de poudre dans des boîtes de Pétri (figure 08 a et b) à raison de 25g d'aliment/jour/rat, quantité recommandée (Jadot, 1981), et changée chaque jour.

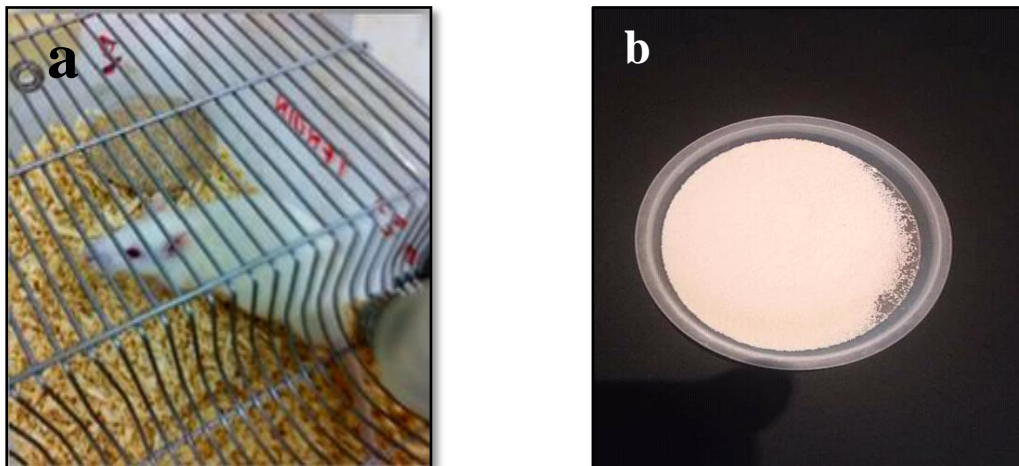


Figure 08 (a et b): Aliments fournis aux rats sous forme de poudre (photo originale).

La teneur de l'aliment en différents constituants excepté l' α -T est semblable pour les 11 lots de rats (Annexe 02).

La vitamine E est achetée sous le nom « VITAMINE E POUDRE » de 250g sous forme de poudre (figure 09) :



Figure 09 : La vitamine E (photo originale).

I.1.2.4. Sacrifice et prélèvement du cerveau

Après 12 semaines (une (01) semaine d'adaptation et onze (11) semaines d'expérimentation), les rats de chaque lot sont pesés puis anesthésiés par du chloroforme après 12 heures de jeunes. Le rat est placé sur sa partie ventrale dans la cuve à dissection. On coupe la peau à partir du nez jusqu'à l'arrière du cou, on tire sur la peau pour voir le crâne et on tient la tête par la peau avec le pouce et les doigts et à l'aide du scalpel placé horizontalement, on coupe lentement les os du crâne pour exposer le cerveau et on utilise les pinces pour retirer les petits fragments d'os. Après la dissection, le cerveau est soigneusement prélevé et rincé avec une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9 %, il est ensuite pesé.

Un premier fragment du cerveau de chaque rats est conservé dans du formol à 10 %, pour la réalisation des coupes histologiques. Les autres fragments du cerveau sont maintenus à -20°C pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (MDA, les protéines cérébraux et l'activité enzymatique de la CAT).

I.2. Méthodes

I.2.1. Réalisation des coupes histologiques

Les coupes histologiques du tissu cérébral des différents lots ont été réalisées au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital professeur Fares Yahia (Koléa-Tipaza). La technique utilisée est celle proposée par Martoja, (1967) à l'hématoxyline/éosine.

Les fragments du cerveau de chaque rat sont retirés du liquide fixateur, Formol 10% pour conserver le tissu prélevé dans un état proche du vivant et sont mis dans des cassettes d'inclusions spéciales.

❖ Déshydratation

Les échantillons sont ensuite déshydratés par l'agitation rapide d'un automate spécial de traitement des tissus (circulation) (figure 10), afin d'éliminer l'eau des tissus, en faisant passer le tissu dans des bains successifs d'alcool de concentration croissante (70%, 80%, 95% et 100%), puis dans 3 bains successifs de xylène pour l'éclaircissement et enfin dans 2 bains de paraffine liquide qui occupera tous les espaces vide et laver les excès de solvant (Annexe 03).



Figure 10 : Automate de traitement des tissus du type Leica (photo originale).

❖ Inclusion/enrobage

Dans un moule métallique on met au fond quelques gouttes de paraffine liquide , ensuite, les fragments sont maintenus par des pinces en veillant au centre des moules et imbibé de paraffine de nouveau (portée à 56-58°C), ces derniers sont mis sur une plaque réfrigérée, ce qui provoque leur durcissement (figure 11). Notons que les moules sont met au congélateur pour faciliter le démoulage.



Figure 11 : Appareils d'enrobage (d'inclusion) du type SLEE (photo original).

❖ Les coupes

Après le refroidissement, on isole des rubans des coupes à partir des blocs d'inclusion, qui sont collés sur un porte d'échantillon à l'aide d'un microtome (l'épaisseur est de 4 à 7 microns) (figure 12), ces rubans sont étalés dans un bain- marie (42°C) puis récupérés et fixés sur des lames en verre et ensuite doit être séchés avant la coloration à l'étuve réglée à 80°C pendant 20 à 30min.



Figure 12 : Microtome du type Leica (photo originale).

❖ Coloration

Pour la coloration on a utilisé la technique de l'hématoxyline-Eosine (ou Hématéine Eosine), c'est une coloration universelle de routine pour tout examen microscopique histologique qui permet de mettre en évidence les principaux éléments morphologiques des pièces (noyaux, cytoplasme, collagène) en associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Mayer (colorant basique) qui colore le noyau en bleu et l'éosine (colorant acide) colore le cytoplasme en rose. Ces étapes sont réalisées dans un automate spécial (figure 13) pour coloration.



Figure 13 : Automate de coloration du type SLEE (photo originale).

Tout d'abord les coupes sont déparaffinées pour les colorants puissent le pénétrer puis hydratés pour pouvoir être colorées (tableau IV).

Tableau IV : Les étapes de la coloration du tissu cérébrale.

Étapes	Bains utilisés
1. Déparaffinage	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Xylène (20 min).
2. Réhydratation	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Alcool 100% (1 min). ▪ Alcool 95% (30 sec). ▪ Alcool 70% (30 sec). ▪ Eau de rinçage (10 min).
3. Coloration	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hématoxyline de Groot ou Mayer (2 min). ▪ Eau de rinçage (5 min). ▪ Ammoniac (15 sec). ▪ Eau de rinçage (5 min) ▪ Eosine (5 min). ▪ Eau de rinçage (10min).
4. Déshydratation	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Alcool 90% (30 sec). ▪ Xylène (20min).

❖ Montage et observation

La dernière étape de l'histologie est le montage c'est-à-dire mise en contact lame-lamelle, elle se déroule par le passage des lames dans un bain d'éthanol, suivi d'un bain contenant un mélange d'éthanol/xylène, et pour finir dans deux bains successifs de xylène. Quelques gouttes d'Eukit (colle biologique), ont été déposées sur des lamelles avant d'être placées sur lames. L'ensemble de ces dernières ont été par la suite séchées à l'air libre.

Une fois l'histologie terminée, les lames ont été observées à l'aide d'un microscope optique (Grossissement X10 et X 40), prise de photos micrographiques.

I.2.2. Dosage des protéines

A. Principe

Le dosage des protéines totales est déterminé par la méthode de Lowry et *al.*, (1951). C'est une mesure colorimétrique où l'addition d'un sel de cuivre en milieu alcalin puis du réactif de Folin-Ciocalteu à une solution protéique donne une coloration bleue foncée. Cette

coloration résulte de la réaction du cuivre avec les liaisons peptidiques et la réduction de l'acide phospho-tungsto-molybdique par la tyrosine, le tryptophane et la cystéine.

B. Mode opératoire

a. Extraction des protéines

- 9ml d'une solution de triton X-100 (0.5%) sont mis dans un tube Potter en présence de 100mg de l'échantillon du cerveau,
- l'échantillon est broyé avec un broyeur homogénéisateur : Potter Thomas pendant 1min,
- 1ml de TCA à 1% est mis dans un tube en verre contenant 100 μ l de l'homogénat,
- centrifugation à 4000tr/min pendant 15min,
- le surnageant est éliminé, et le culot est repris dans 1ml de TCA à 1% et centrifugé à 4000tr/min pendant 15min,
- le surnageant est éliminé une deuxième fois, les bords supérieurs des tubes sont séchés par la suite 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,
- centrifugation à 4000 tr/min pendant 5min,
- le culot parfaitement séché à l'air chaud, est repris dans 1ml de NaOH (1M) pour la conservation.

b. Dosage

- 1ml de la solution A (Annexe 04) est ajouté à 200 μ l d'homogénat, l'ensemble est agité au vortex,
- l'échantillon est incubé 10 minutes à température ambiante,
- le mélange est alors mis en présence de 100 μ l de réactif de la solution B (Annexe 04),
- Après 45 minutes, la densité optique à 750 nm est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre contre l'eau bi-distillée (blanc).

c. Préparation de la courbe étalon :

En parallèle des échantillons à doser, une gamme étalon est réalisée à partir d'une solution protéique BSA à 1 mg/ml dans huit tubes contenant des volumes croissants de solution BSA (0-200 μ l), complétés avec de l'eau distillée (tableau V).

Tableau V : Gamme étalon réalisée à partir de la solution BSA.

	1	2	3	4	5	6	7	8
BSA μ g/ μ l	0	10	25	50	75	100	150	200
H ₂ O μ l	200	190	175	150	125	100	50	0
BSA μ l	0	10	25	50	75	100	150	200

I.2.3. Dosage du Malondialdéhyde

A. Principe

La peroxydation lipidique est mesurée par la méthode de Draper (1993), qui est basée sur la formation d'un complexe chromogène de couleur rose absorbant à 532 nm entre une molécule de MDA produite lors de la peroxydation lipidique et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) avec l'élimination de deux molécules d'eau.

B. Mode Opérateur

- 1ml de TCA à 10 % est mis dans un tube à essai, contenant 200 μ l d'homogénat,
- 100 μ l de Butyle-hydroxotoluène (BHT) à 500 ppm sont ajoutés 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 calculée comme suit :

$$[MDA] = \frac{DO \times 22}{[Protéines]}$$

Avec :

[MDA] : la concentration en MDA (nmol/mg de protéines).

DO : absorbance à 532 nm.

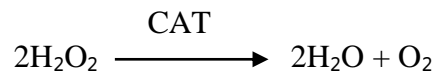
22 : facteur calcule.

[Protéine] : la concentration en protéines (mg/ml).

I.2.4. Dosage de l'activité de la catalase

A. Principe

Le dosage de l'activité enzymatique de la CAT a été réalisé selon la méthode de l'Aebi (1984). Cette enzyme dégrade l'H₂O₂ en eau et en O₂ selon la réaction suivante :



B. Mode Opérateur

a. Dosage

- 9ml d'une solution de Triton X-100 (1%) sont mis dans un tube Potter en présence de 100mg d'échantillon de cerveau,
- l'échantillon est broyé par homogénéisateur de Potter Thomas pendant 30 à 45 secondes sous glace,
- déposer 30µl d'échantillon, et 970µl tampon phosphate (Annexe 05),
- déclencher la réaction avec 1000µl d'H₂O₂ (Annexe 05),
- lire la densité optique à 240nm au début et après 3 min.

b. Expression des résultats

L'activité de la CAT est calculée comme suit:

$$\text{Activité de la CAT } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/mg prot}) = \frac{\frac{V}{v} \times \frac{2,3}{\Delta t} \times \log \frac{A_1}{A_2}}{X}$$

Avec :

- V : volume de l'échantillon.
- v : volume totale.
- Δt : temps de décomposition d' H_2O_2 .
- A_1 : absorbance à t_0 .
- A_2 : absorbance à $t_3\text{min}$.
- X : quantité des protéines (mg/ml).

I.3. Etude statistique

L'analyse statistique des résultats est réalisée par le test t-student, ce test permet de comparer les moyennes des différents lots des expériences. Nous avons également réalisé une analyse comparative du taux d'évolution entre le lot témoins et les lots expérimentaux.

Les résultats sont exprimés sous forme : moyenne \pm écart type, et sont considérés comme suit :

- Significative lorsque ($P \leq 0,05$).
- Très significative lorsque ($P \leq 0,01$).
- Hautement significative lorsque ($P \leq 0,001$).
- Non significative lorsque ($P > 0,05$).

Avec (P) : égale le seuil de signification.

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Modifications physiologiques

II.1.1. Symptomatologie

Nous n'avons observé aucun symptôme spécifique (diarrhées, inappétence...), chez les rats mâles de souche Wistar soumis à un régime standard supplémenté avec des doses croissantes en vit E (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 et 1000 mg d' α -T/ kg d'aliments), cette absence de symptômes montre que les doses utilisées dans cette étude n'ont pas influencés le métabolisme du rat; il est intéressant de citer l'étude réalisée par Hanck en 1986, qui a obtenu lors de son étude une absence de changement physiologique après 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). Par contre nos résultats ne corroborent pas avec ceux de Abdo et *al.*, (1986) qui ont observé des diarrhées, une inappétence et une réduction de la prise alimentaire lors de l'administration d'une dose importante de vit E (2000mg/ kg d'aliment) à des rats mâles.

II.1.2. Effets de la supplémentation de doses croissantes en α -tocophérol sur les paramètres pondéraux

A. Variation du poids corporel

Le suivi du taux d'évolution du poids corporel des rats témoins et ceux traités par différentes doses d' α -T a été réalisé tous les 3 à 4 jours, les résultats sont portés figure 14 (Annexe 06).

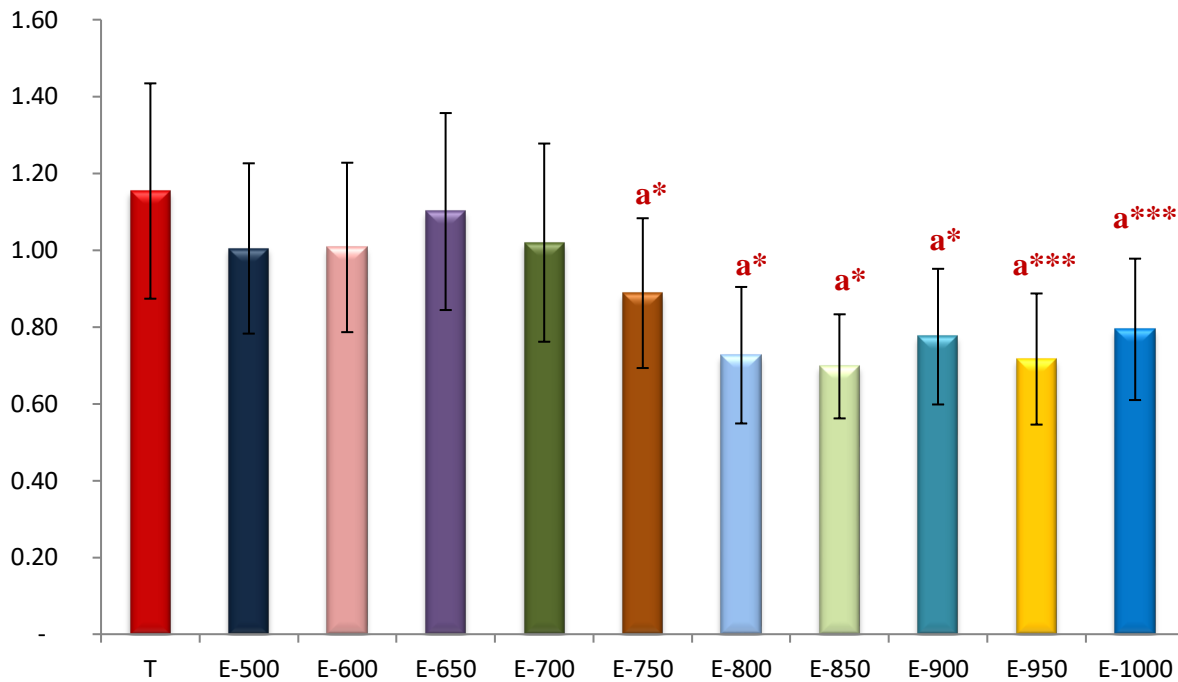


Figure 14: Effets de la supplémentation d'un régime standard en α -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 et 1000 mg d' α -T/kg d'aliment). Chaque barre représente le taux d'évolution du poids corporel \pm écart type (* $P \leq 0.05$; **** $P \leq 0.001$ entre Témoins (RS) et groupe traités (RSE) ; **a**: comparaison avec le lot RS).

Les résultats que nous avons obtenus lors du suivi du poids corporel des rats montrent une diminution non significative ($P > 0.05$) de la croissance chez les lots traités avec les doses de 500 à 700 mg d' α -T/kg d'aliments, comparés au lot RS ; nous supposons que de telles doses, n'ont eu aucun effet sur le poids corporel.

Nos résultats corroborent avec de nombreuses études, nous en citerons quelques unes :

Déjà en 1983, Wheldon et *al.*, avaient obtenu des résultats similaires aux nôtres, ces auteurs ont montré que pendant 2 ans, un régime alimentaire quotidien supplémenté à 500, 1000 ou 2000 mg d' α -T / kg d'aliment, chez des rats Charles River n'affecte pas leurs croissance comparativement aux témoins ; trois années plus tard une autre recherche réalisée par Abdo et *al.*, a montré que le poids corporel moyen chez les rats mâles traités par la vit E à une dose de 500 mg α -T /kg étaient semblables à ceux du groupes témoins.

En 2004, Garrido-Polonio et *al.*, rapportent que l'administration de 600 mg d' α -T/kg d'aliment à des rats mâles Wistar en croissance, prévient la perte de poids, protégeant ainsi les organes contre les dommages causés par les RL, en outre, l' α -T inhiberait la peroxydation des

lipides membranaires en captant les radicaux peroxydes lipidiques et par conséquent, elle est converti en radical α -T°.

D'après Ortuño et *al.*, (2000), aucune différence significative du taux en croissance n'a été observée chez la daurade royale (*Sparus aurata* L) après 45 jours entre les différents lots nourris d'un régime équilibré et supplémenté en 600mg de vit E/ kg du régime.

En 2016, Zainal et *al.*, ont montrés que l'administration de 600 mg d' α -T/kg d'aliment n'a pas eu d'effet significatif sur les performances de croissance des poissons *Tor tambra* pendant 60 jours.

Par contre, nous avons obtenus une diminution significative ($P \leq 0.05$) chez les lots traités avec les doses allant de 750 à 850 mg d' α -T/kg d'aliments, et une diminution hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les lots traités avec des doses de 900, 950 et 1000 mg d' α -T/kg d'aliments; de ces résultats, on peut déduire que ces doses d' α -T ont eu un effet néfaste sur l'évolution de la croissance corporelle, mais aussi au fait que les acides aminés réagissent avec des lipides oxydés induisant une mauvaise digestion des protéines ; d'ailleurs Nielsen et *al.*, (1985), ont rapporté que la plupart des acides aminés réagissent avec des produits primaires et secondaires des lipides oxydés, ceci diminue l'utilisation digestive des protéines, des acides aminés et des graisses, ce qui induit une baisse de croissance.

Nos résultats vont dans le même sens que ceux de Jenkins et Mitchell (1975), qui ont trouvé une augmentation significative du poids corporel des rats mâles de souche Holtzman nourris avec 600 UI de vit E / kg d'aliments (400mg de vit E / kg d'aliments) après 2 mois de traitement. Deux ans plus tard, une étude réalisée par Yang et Desai (1977), ayant fait l'objet d'administration de doses très élevées en vitamine E 2500UI d' α - T/kg d'aliment (1666 mg d' α - T/kg d'aliment) et ceci sur une période de 8 mois chez rats Wistar a induit une baisse significative de la croissance, cette baisse est également retrouvée après 16 mois de traitement.

En 2014, Dahdouh et *al.*, ont également 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 supplémenté à 1000 mg d' α -T/ kg de régime.

Par contre, Eder et *al.*, (2002), ont constaté que la croissance n'a pas été affectée chez des rats mâles Sprague-Dawley nourris avec un régime supplémenté en 1000 mg d' α -T/ kg d'aliment pendant 8 semaines.

B. Variation du poids cérébral

La variation du poids cérébral des rats témoins et traités par différentes doses d' α -T sont représentés au niveau de la figure 15 (Annexe 06).

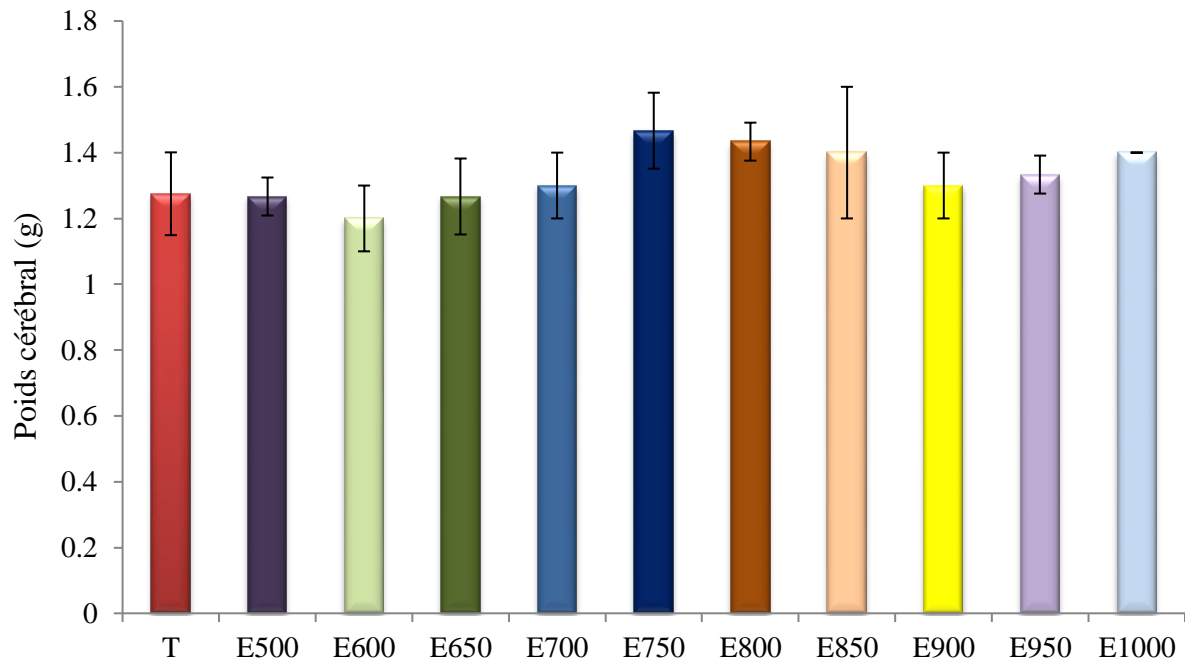


Figure 15: Variations du poids cérébral (g) chez les rats soumis à différentes doses α -tocophérol. Chaque barre représente la moyenne \pm écart type (* $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$ entre Témoins (RS) et groupe traités (RSE)).

L'étude du poids cérébral révèle une variation non significative chez l'ensemble des lots (du lot RSE500 jusqu'au lot RSE1000). Cette stabilité de la variation du poids du tissu cérébral est probablement due à ce que le cerveau soit bien protégé vis-à-vis des dommages causés par les RL, d'une part grâce aux méninges et d'autre part grâce à l' α -T, qui est une vitamine connue pour son rôle en tant qu'inhibiteur de la PL membranaires en captant les ROO° lipidiques (Kleme et Levy, 2015), et en bloquant l'initiation et en interrompant la propagation de la PL (Combs et McClung, 2016).

En 1960, Hill et Hamed, ont étudié les effets indésirables des hypervitaminoses E chez les animaux après administration d'environ 1g d' α -T/kg de poids corporel. L'hypervitaminose E a diminué le poids du thymus et a augmenté le poids des surrénales chez la rat et provoqué une dégénérescence des glandes surrénales et l'inhibition de la croissance des poulets.

En 2010, Nascimento et *al.*, ont montré que l'administration de 250 mg d' α -T /Kg de rat/jour sur une période de 7 semaines chez des rats Wistar adultes induisait la diminution du poids du tissu cardiaque comparé à celui du témoin.

II.2. Effets de la supplémentation en α -T à différents doses sur l'histologie du tissu cérébral

L'examen histologique des lots traités avec des doses en α -T de 500 à 900 mg d' α -T / Kg d'aliment a montré un parenchyme cérébral de structure normal, tandis que pour les deux derniers lots à savoir RSE950 et RSE1000, ces derniers présentent des altérations du tissu traduites par de nombreuses lésions et c'est sur ce, que nous allons discuter nos résultats :

A. Effets de la supplémentation en α -T à des doses variant de 500 à 900mg d' α -T / Kg d'aliment

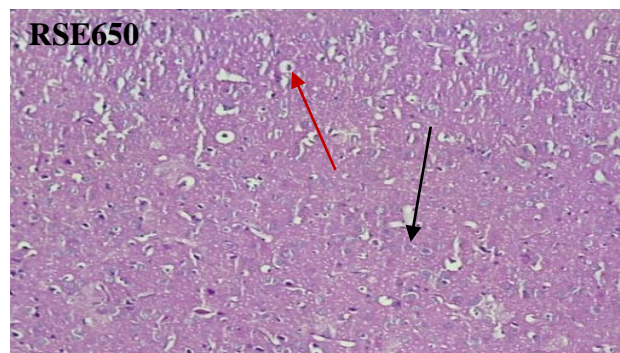
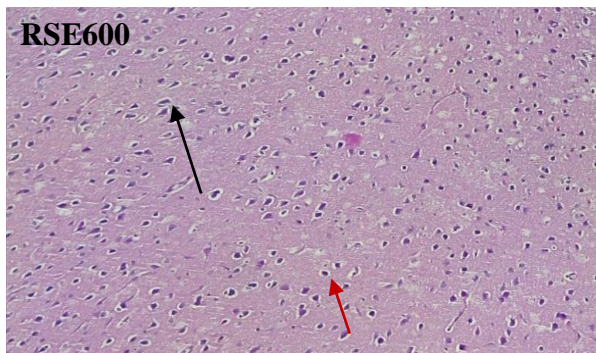
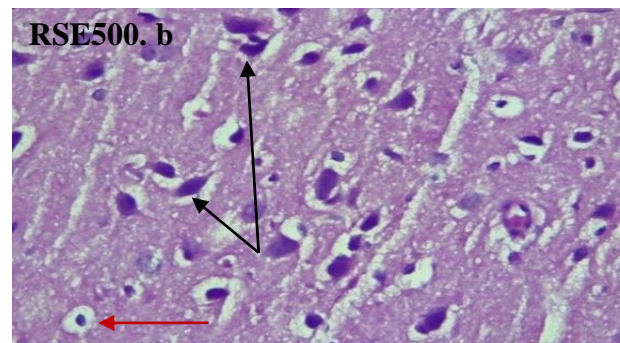
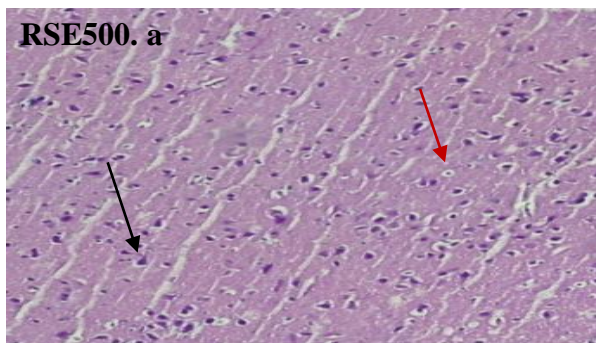
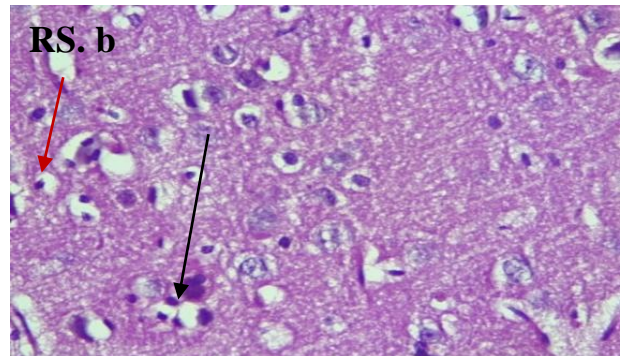
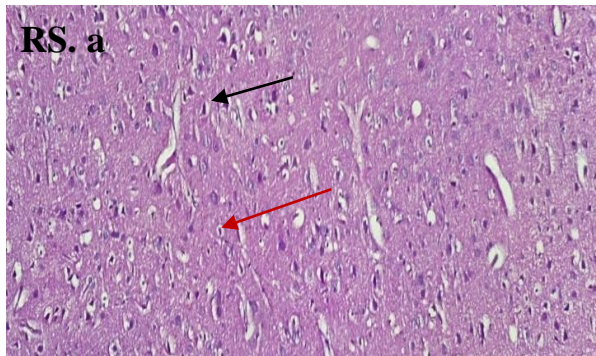
L'ensemble des figures obtenu après l'étude histologique (Figure 16. RS a et b ; RSE500 a et b ; RSE600 ; RSE650 ; RSE700 ; RSE750 ; RSE800a et b ; RSE850 et RSE900) ont montrés une similitude de la structure du parenchyme cérébral : un parenchyme cérébral à aspect normal contenant des neurones pyramidaux au niveau du cortex cérébral et des cellules satellites nommées oligodendrocytes présentant de petits noyaux ronds, aucune altération n'a été observé pour ces lots, cela suggère les propriétés antioxydantes de l' α -T à des doses modérées 500, 600, 650, 700, 750, 800 et 900 mg d' α -T/kg.

En effet, selon Léger (2000), la fonction antioxydante de la vit E permet d'éviter l'oxydation des structures auxquelles elle se trouve associée à savoir les membranes, de protéger ainsi non seulement le caractère essentiel des AGPI, mais aussi l'intégrité de la structure des protéines.

De plus, Ferry et *al.*, (2012), énoncent que la vit E est l'un des antioxydants les plus puissants, elle protège les membranes cellulaires des effets de la PL, elle a donc un rôle de stabilisateur des membranes, y compris les membranes neuronales. Elle interrompt le phénomène de PL en captant les ROO^o et en prévenant la propagation du processus de la PL.

Ainsi, l'activité antioxydante de la vit E à la capacité d'éviter l'apparition de maladies chroniques, particulièrement celles causées par un composant du stress oxydatif: comme les maladies neurodégénératives, l'athérosclérose et les maladies cardiovasculaires (Nwanguma et *al.*, 1998).

Une étude réalisée en 2007 par kutlubay et *al.*, rapportent qu'après l'injection d'aluminium suivie par 300 mg de la vit E pendant 2 semaines chez des rats Wistar mâles Albinos adultes, aucune anomalie histologique significative du tissu rénal n'a été observé par rapport au groupe témoin.



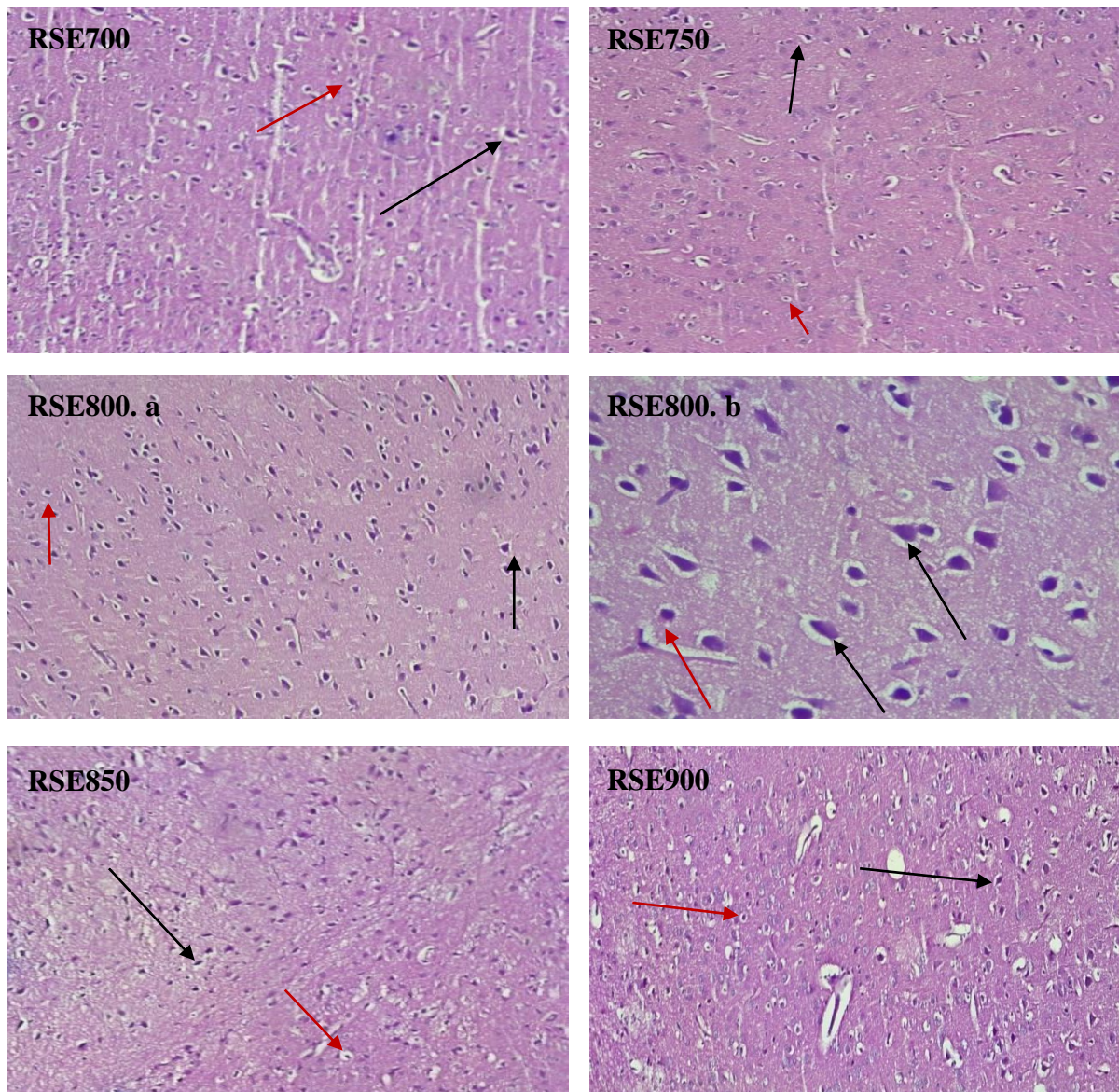


Figure 16 (RSE500, RSE600, RSE650, RSE700, RSE750, RSE800, RSE850 et RSE900): Micrographie du parenchyme cérébrale montrant une architecture normale chez les lots RS, RSE500, RSE600, RSE650, RSE700, RSE750, RSE800, RSE850 et RSE900 ; avec : flèche noire: neurones pyramidaux, flèche rouge: oligodendrocytes (ou cellules satellites) ; (a : X10) et (b: X40).

B. Effets de la supplémentation en α -T à des doses 950 et 1000 mg α -T / Kg d'aliment

L'histologie du tissu cérébral des lots RSE950 (figure 17. RSE950 a et b) et RSE1000 (figure 18. RSE1000 a et b), a montré des changements morphologiques qui révèlent la présence d'œdèmes focaux, des cellules nécrotiques et également une légère infiltration lymphocytaire, ceci indique que l' α -T a eu pour ces doses un effet pro-oxydant, qui a causé des dommages au niveau du parenchyme cérébral. Il est connu qu'à des concentrations élevées en α -T, il y a augmentation des radicaux α -T° qui peuvent amorcer la cascade de PL.

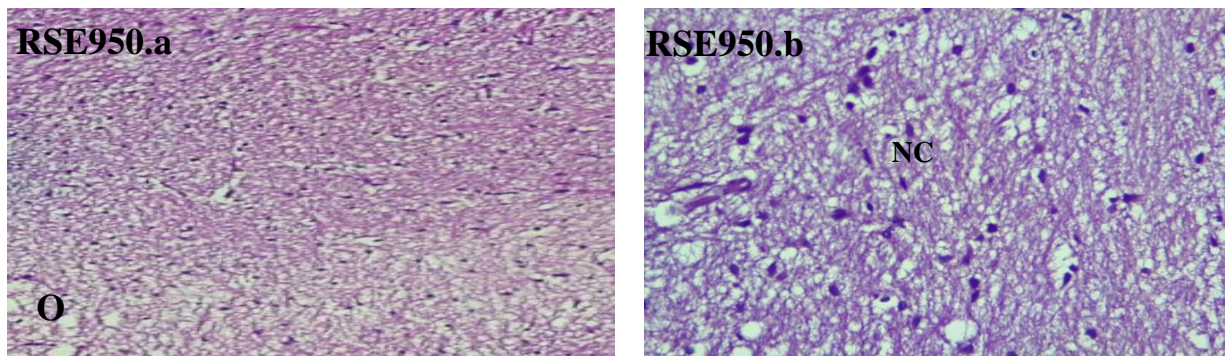


Figure 17 (a et b) : Micrographie du parenchyme cérébrale du lot RSE950, montrant la présence des œdèmes et des cellules nécrotiques ; (a : X10 et b : X40) ; O : œdème ; NC : cellule nécrotique.

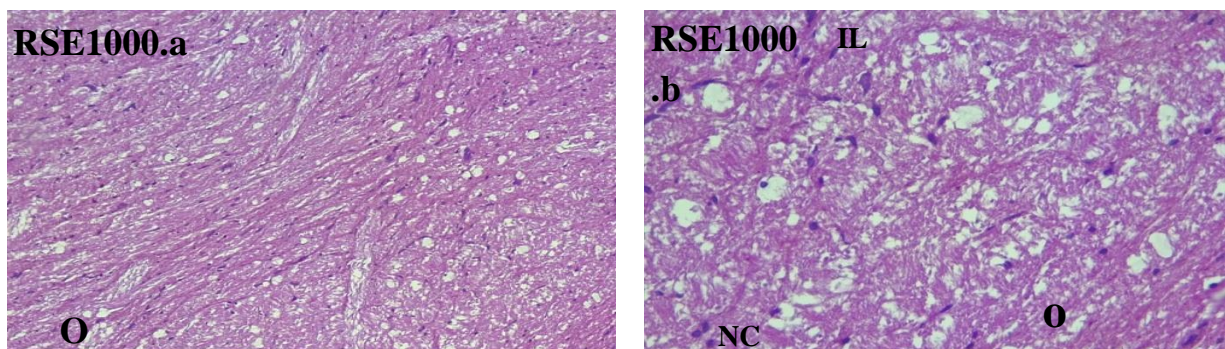


Figure 18 (a et b) : Micrographie du parenchyme cérébrale du lot RSE1000, montrant la présence des œdèmes avec des cellules nécroses et infiltration lymphocytaire; (a : X10 et b X40) ; O : œdème ; NC : cellule nécrotique ; IL : infiltration lymphocytaire.

En effet, selon Singal et *al.*, (1983), l'attaque extensive des RL contribue aux dommages de l'ADN dans les mitochondries qui ne peuvent plus fonctionner d'une manière normale ce qui induit la mort cellulaire. Une autre étude faite par Robert et *al.*, (2007), a montrée que la prise de suppléments de vit E augmente légèrement le risque des hémorragies cérébrales.

Rares sont les études réalisées sur l'histologie du cerveau de rats traités par des doses croissante en vitamine E, par contre celles réalisées sur les autres organes sont nombreuses, c'est pour cela que notre discussion portera essentiellement sur des organes autres que le cerveau :

En 2009, Li et *al.*, ont observé des changements morphologiques du tissu pancréatique de rats mâles Sprague-Dawley nourris par un régime supplémenté en 300, 600 et 900 mg d' α -T/kg d'aliments pendant 4 semaines. De plus, en 2010, Nascimento et *al.*, ont travaillé sur le tissu cardiaque, ils ont observé une désorganisation de celui-ci chez des rats mâles Wistar traités avec des doses variants de 87.5 à 1000 mg d' α -T/ rat / jour pendant 7 semaines. Ils ont conclu que les doses administrées induisent une cardiotoxicité.

Par contre, en 1983, Wheldon et *al.*, n'ont observé aucun changement morphologique du tissu hépatiques des rats nourris avec un régime supplémenté en 1500mg d' α -T/kg d'aliments pendant 10 semaines. Trois année plus tard, une étude réalisée par Abdo et *al.*, n'ont également observé aucune altération histologique du foie des rats mâles nourris avec un régime supplémenté en 2000 mg d' α -T/ kg d'aliment.

Une étude récente réalisée par Dahdouh et *al.*, (2014), a montré aucun changement à l'échelle tissulaire du foie de souris de souche Albinos âgées de 60 jours traité avec un régime équilibré et supplémenté en 1g d' α - T.

En finalité nous pouvons dire que pour les lots RES950 et RES1000, l' α -T a joué un rôle pro-oxydant et non pas antioxydant. D'ailleurs en 2008, Defraigne et Pincemail, ont bien expliqué que les antioxydants comme la vitamine C ou E se transforment eux-mêmes en RL lors de la neutralisation de certains dérivés toxiques de l'O₂, et que la vit E seule peut, dans certaines conditions, induire la peroxydation d'acides gras ou de lipoprotéines alors que, normalement, elle prévient l'oxydation de ces mêmes lipides, ce phénomène apparemment paradoxal est lié à la formation d' α -T°. De même, en 2012, Ferry et *al.*, expliquent que si la teneur membranaire en vit E était faible par rapport aux lipides et à la production des RL,

seule l'existence d'un renouvellement rapide de l' α -T permet son efficacité, ce qui participe probablement au rôle pro-oxydant.

II.3. Effets de la supplémentation en α -T à des doses croissantes (500 à 1000 mg d' α -T/kg) sur la teneur en protéines, le taux en MDA et l'activité de la catalase

Il été prévu au départ de la présente étude que le dosage de paramètres biochimiques liés au stress oxydatif (les protéines, MDA, Catalase) soit réalisé mais malheureusement cela n'a pas pu se faire en raison de l'épidémie du COVID 19 et du confinement imposé par l'Etat.

III.3.1. Effets de la supplémentation des doses croissantes d' α -T (500 à 900) sur les teneurs en MDA et en protéines ainsi que l'activité de la catalase du tissu cérébral

Les résultats obtenue lors de l'étude histologique laisse supposée une baisse ou une invariabilité du taux en MDA sachant que c'est un produit de peroxydation des acides gras polyinsaturés, ces résultats que nous nous attendions à obtenir concernant le taux en MDA peuvent être due aux doses équilibrées et adéquates en α -T (500 – 900 mg), cette vitamine pour ces doses a eu pour effet un piègeur de RL, protégeant *in vivo* les structures sensibles à l'oxydation les lipides dans les membranes et les lipoprotéines, les protéines et les bases nucléotidiques des brins d'ADN en neutralisant les ERO et ainsi protéger l'organe lui même c'est-à-dire le cerveau. Nous aurions du obtenir concernant la catalase et les protéines des résultats semblables au témoin, vue l'absence d'un stress oxydatif.

D'ailleurs, selon Pryor (2000), l' α -T est capable de protéger contre la PL par l'activité de piégeage de l'oxygène, en neutralisant la PL et les lipides membranaires insaturés.

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

De plus, Kadiam et *al.*, (2015) ont montré que la supplémentation en vit E pourrait inverser significativement les dommages oxydatifs en diminuant les dommages des protéines telles que la carbonylation / nitration ainsi que la coupure des brins d'ADN au niveau du cerveau et du foie de poulet.

En 2005, Ble-Castllo et *al.*, ont signalé une diminution marquée de MDA après 12 semaines de supplémentation en α -T de dose 800 UI/ jour (533 mg/ jour). De plus, Polat et *al.*, (2008), révèlent que l'administration de 10 mg d' α -T / kg par voie intra-péritonéale chez un groupe de rats mâles Sprague-Dawley ischémiques à entraîné des réductions significatives des taux en MDA mais une augmentation significative des niveaux de la CAT hépatique par rapport au groupe contrôle.

Le traitement de rats mâles adultes de souche Sprague-Dawley par administration intramusculaire bihebdomadaire de 100 et 300 mg/kg d' α -T sur des périodes de 2, 3 et 6 semaines, ont montré une diminution de la teneur en lipoperoxydes, mais sans changements significatifs de l'activité enzymatique de CAT (Hajiani et *al.*, 2008). De même, Das et *al.*, (2015), ont montré également une diminution du MDA 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) chez des rats mâles de souche Wistar. Durant la même année, Elgaml et *al.*, ont rapporté que l' α -T était capable de protéger les reins contre la toxicité de l'acétate de plomb, et cela a été prouvé par la réduction du taux de MDA élevé.

III.3.2. Effets de la supplémentation de doses croissante d' α -T (950 et 1000mg d' α -T/kg) sur les teneurs en MDA et en protéines ainsi que l'activité de la catalase du tissu cérébral

Nous supposons que nous aurions obtenu chez les rats traités avec des doses 950 et 1000 mg d' α -T/kg d'aliment, une diminution de la concentration en protéines, une élévation du taux en MDA et une diminution de l'activité enzymatique de la CAT, due au fait qu'à ces doses (950 et 1000 mg), l' α -T a un effet négatif sur la balance oxydante / anti-oxydante au niveau du tissu cérébral. Il est bien connu que les protéines sont des cibles importantes des dommages oxydatifs médiés par les ERO, ce qui explique la baisse protéique, et suggère un effet pro-oxydant de la vit E aux doses signalées ; selon Robbins et Kumar (1994), l'oxydation accrue des protéines dans le cerveau peut être due à la diminution de GSH qui protège contre l'oxydation, la dénaturation et la précipitation des protéines. En 2005, Tezel et *al.*, ont annoncé que l'oxydation protéique peut être décrite comme l'un des mécanismes les plus importants dans les lésions cérébrales responsables de dysfonctionnement dans plusieurs maladies neurodégénératives, y compris la maladie d'Alzheimer.

En 1975, Dymysza et Park, ont obtenu une baisse significative de la teneur en protéines chez les rats traité avec un régime supplémenté en 35000 mg/kg d'aliment pendant 8 semaines.

Par contre en 2001, Meagher et *al.*, ont rapporté que des personnes en bonne santé traitées avec des doses élevées de la vit E (jusqu'à 2000 UI / jour, pendant 6 semaines) (1333 mg / jour), ne modifient pas leur indice de PL.

Une étude réalisée sur le foie des rats de souche Wistar, touchant à l'effet du radical α -T° *in vivo* qui peut endommager les protéines hépatiques et donc inactiver certaines enzymes comme les enzymes anti-oxydantes (CAT et GPx) et de ce fait, augmenter les niveaux hépatiques des protéines carbonylées (Emel et Saadet, 2007) ; la même année Fu et *al.*, ont étudié l'effet de la vit E sur les activités enzymatiques antioxydantes (CAT, SOD et GPx) de l'ormeau *Haliotis discus hannai*, et ont déduit que la vit E (5000 mg/kg) n'a pas servi comme antioxydant, mais apparaît plutôt comme un pro-oxydant.

En 1996, Kontush et *al.*, ont montré que dans les états d'oxydation modérée et en l'absence d'autres co-antioxydants tels que l'ascorbate, l' α -T se comportait comme un pro-oxydant en favorisant le taux de la PL dans le plasma humain et l'oxydation des LDL *in vitro*. Ils ont postulé que le radical α -T° ne pouvait pas former des composés stables en se combinant avec un autre RL ou en faisant don d'un électron libre à un autre antioxydant. Par conséquent, elle interagit avec d'autres macromolécules telles que les lipides, ce qui génère plus de RL.

Enfin, en 2008, Hajiani et *al.*, ont réalisé une étude qui avait pour objectif d'examiner l'effet pro-oxydant de la vit E face à son effet antioxydant, ceci en fonction du temps et de la dose en vit E sur des rats mâles adultes de souche Sprague-Dawley, par administration intramusculaire de 100, 300 et 600 mg / kg de vit E sur des périodes de 2, 4 et 6 semaines. Ils ont observé que la vit E a un effet antioxydant quand elle est administrée à de faibles doses et sur des périodes courtes et permet l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes. Par contre à fortes doses et sur des périodes assez longues, la teneur en MDA augmente accompagnée d'une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes. Ils émettent l'hypothèse que la vit E régule les enzymes antioxydantes par un effet chimique direct.

Conclusion et perspectives

Conclusion

Dans la présente étude, notre travail consiste à évaluer l'effet de la supplémentation en α -T à différentes doses (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 et 1000mg d' α -T /kg d'aliment) durant 12 semaines de traitement de rat mâle de souche Wistar, sur l'histologie du tissu cérébral, et ainsi que sur la teneur cérébrale en protéines, le taux en malondialdéhyde (MDA) et l'activité enzymatique antioxydante de la catalase. Il est à noter que les paramètres du stress n'ont pas été dosés à cause de l'épidémie "Covid 19".

Au terme de cette étude expérimentale, l'analyse de l'ensemble des résultats à montré:

Sur le plan du taux d'évolution du poids corporel: nous avons obtenu une diminution non significative de la croissance des rats chez les lots traités avec des doses de 500, 600, 650 et 700 mg d' α -T/kg d'aliment, une baisse significative ($P \leq 0,05$) pour les lots traités avec les doses 750, 800, 850 et 900 mg d' α -T/kg d'aliment et une baisse hautement significative ($P \leq 0,001$) pour les lots traités par 950 et 1000 mg d' α -T/kg d'aliment par rapport au RS ; ce qui suggère que l' α -T aux doses allant de 750 à 1000 mg/ Kg d'aliment induisent des effets néfastes sur la croissance corporelle de ces rats.

Sur le plan du poids cérébral: les résultats révèlent l'absence de variations significatives pour l'ensemble des lots supplémentés en α -T (de 500 jusqu'au 1000 mg d' α -T/kg d'aliment).

Sur le plan cellulaire: l'examen histologique des lots RS ; RSE500, RSE600, RSE650, RSE700, RSE750, RSE800, RSE850 et RSE900, montrent un parenchyme cérébrale normal à aspect normal contenant des neurones pyramidaux et des oligodendrocytes (ou des cellules satellites) ; de ces résultats, on suggère l'effet antioxydant de l' α -T.

Cependant pour les lots RSE950 et RSE1000, on a observé la présence d'œdèmes, des cellules nécrotiques, ainsi qu'une légère infiltration lymphocytaire, ce qui indique que pour ces doses, l' α -T a eu un effet pro-oxydant.

Sur le plan métabolique: nous aurions obtenus concernant la catalase et les protéines des résultats semblables au lot RS, ainsi une légère diminution du taux en MDA chez les lots

RSE 500, RSE600, RSE650, RSE700, RSE750, RSE800, RSE850 et RSE900. Ces résultats indiquent l'effet bénéfique de l' α -T à ces doses vis-à-vis des ERO au niveau cérébral.

Concernant les rats traités avec des doses 950 et 1000 mg d' α -T/kg d'aliment, nous supposons que nous aurions obtenu, une diminution de la concentration en protéines et de l'activité de la CAT ainsi qu'une élévation du taux en MDA, ce qui indique que pour ces deux doses, l' α -T a agi en tant que pro-oxydant et pas en tant qu'antioxydant, ceci explique l'effet néfaste au niveau du tissu cérébral.

En finalité, nous pouvons fixer la dose 950 mg d' α -T/kg d'aliment comme étant celle pour laquelle l' α -T a basculé d'un effet antioxydant à un effet prooxydant.

A l'issue de ce travail plusieurs orientations d'études peuvent être envisagées et qui pourront faire l'objet de travaux ultérieurs :

- Dosages des paramètres du stress oxydatif : protéines, MDA et l'activité de la Catalase qui n'ont pas été réalisés dans cette étude,
- voir l'effet d'une telle supplémentation sur d'autres paramètres antioxydant comme la GPx et la SOD,
- Doser l' α -T au niveau cérébral par chromatographie en phase liquide à haute performance,
- Évaluer les effets de différents apports d' α -T sur les biomarqueurs de dommages oxydatifs de l'ADN,
- Des dosages plus précis devraient être fait: marqueurs d'oxydation (peroxyde d'hydrogène, radical hydroxyl, oxygène singlet, ainsi que le glutathion...).

Références bibliographiques

-A-

Abdo, K.M., Rao, G., Montgomery, C.A., Dinowitz, M., Kanagalingam, K., (1986). Thirteen week toxicity study of d-ct-tocopheryl acetate (vitamin E) in Fischer 344 rats. *Fd Chem. Toxic*; 24: 1043-1050.

Adelheid, W., Andrey, V. (2015). Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress *versus* Signal Traduction. *Biomolecules*; 5: 472-484.

Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymol*; 105: 121-126.

Anwar, K., Iqbal, J., Hussain, M.M. (2007). Mechanisms involved in vitamin E transport by primary enterocytes and *in vivo* absorption. *J Lipid Res*; 48: 2028-2038.

Anwar, K., Kayden, H.J., Hussain, M.M. (2006). Transport of vitamin E by differentiated Caco-2 cells. *J Lipid Res*; 47: 1261-1273.

Azzi, A. (2007). Molecular mechanism of alpha-tocopherol action. *Free Radic Biol Med*; 43: 16-21.

Azzi, A., Ricciarelli, R., Zingg, J. (2002). Non-antioxidant molecular functions of α -tocopherol (vitamin E). *FEBS Lett*; 519: 8-10.

Azzi, A., Stocker, A. (2000). Vitamin E: non-antioxidant. *Progress in lipid Rescarch*; 39(3): 231-255.

-B-

Berger, M. (2006). Manipulation nutritionnelles du Stress oxydant: état de connaissances. *Nutrition chimique et metabolism*; 20: 48-53.

Ble-Castillo, J.L., Carmona-Díaz, E., Méndez, J.D., Larios-Medina, F.J., Medina-Santillán, R., Cleva-Villanueva, G., Díaz-Zagoya, J.C. (2005). Effect of a-tocopherol on the metabolic control and oxidative stress in female type 2 diabetics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 59: 290-295.

Boillée, S., Vande-Velde, C., Cleveland, D.W. (2006). ALS: a disease of motor neurons and their nonneuronal neighbors. *Neuron*; 52(1): 39-59.

Références bibliographiques

Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Dellattre, J. (2003). Radicaux libres et antioxydants. Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires. Médecine-sciences Flammarion: 59-81.

Borel, P., Pasquier, B., Armand, M. (2001). Processing of vitamin A and E in the human gastrointestinal tract. Am J Physiol Gastrointest. Liver Physiol; 280: 95-103.

Bostanci, M.O., Bas, O., Bagirici, F. (2010). Alpha-tocopherol decreases iron-induced hippocampal and nigral neuron loss. Cell Mol Neurobiol; 30: 389-94.

Bourre, J.M. (2004). Effets des nutriments sur les structures et les fonctions du cerveau: le point sur la diététique du cerveau. Rev Neurol (Paris); 160: 8-9, 767-792.

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.

Brigelius-Flohe, R., Galli, F. (2010). Vitamin E: a vitamin still awaiting the detection of its biological function. Mol Nutr Food Res; 54: 583-7.

Brigelius-Flohe, R., Traber, M.G. (1999). Vitamin E: function and metabolism. FASEB J; 13:1145-1155.

Buldak, L., Labuzek, K., Buldak, R.J., Kozłowski, M., Machnik, G., Liber, S., & Okopien, B. (2014). Metformin affects macrophage's phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages. Pharmacological Reports; 66(3): 418-429.

-C-

Carr, A., Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on anti-oxidant and health effects in humans. Am J Clin Nutr; 69: 1086-1107.

Chatelaine, E., Boscoboinik, D.O., Bartoli, G.M., et al. (1993). Inhibition of smooth muscle cell proliferation and protein kinase C activity by tocopherols and tocotrienols. Biochim Biophys Acta; 1176: 83-89.

Christen, Y. (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease. Am J Clin Nutr; 71: 621S-9S.

Claude, B. (2003). Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Editions TEC & DOC : 11-656.

Combs, Jr.G.F., McClung, J.P. (2016). The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. Academic press.

Conte, V., Uryu, K., Fujimoto, S., Yao, Y., Rokach, J., Longhi, L., et *al.* (2004). Vitamin E reduces amyloidosis and improves cognitive function in Tg2576 mice following repetitive concussive brain injury. *J Neuro chem*; 90: 758-764.

Corwin, L.M., Shloss, J. (1980). Influence of vitamin E on the mitogenic response of murine lymphoid cells. *J Nutr*; 110: 916-923.

Coyle, P., Philcox, J.C., Carey, L.C., Rofe, A.M. (2002). Metallothionein: the multipurpose protein. *Cell Mol Life Sci*; 59:627-647.

Crouzin, N., Ferreira, M.C., Cohen-Solal, C., Barbanel, G., Guiramand, J., Vignes, M. (2010). Neuroprotection induced by vitamin E against oxidative stress in hippocampal neurons: involvement of TRPV1 channels. *Mol Nutr Food Res*; 54: 496-505.

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.

-D-

Dahdouh, F., Djbar, M.R., Kechrid, Z. (2014). Vitamins C and E Combination Potentially Prevented Oxidative Stress Mediated Liver Injury in Nickel Intoxication Mice. *Global veterinaria*. 13(16): 938-946.

Das, K., Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*; 2, (53): 1-13.

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): 285-291.

De Jong, P. (2006). Age-Related Macular Degeneration. *N. Engl. J. Med.* 355: 1474-1485.

Références bibliographiques

- Defraigne, J. (2005). Un mécanisme physiopathologique central à l'origine des complications du diabète ?. *Rev Med Liege*; 60: 472-478.
- Defraigne, J.O., Pincemail, J., (2008). Stress oxydant et antioxydants : methes et réalités. *Rev Med Liège*; 63 : 10-19.
- Delattre, J., Beaudoux, J.L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales, Paris. p405.
- Denisov, E.T., Afanas'ev, I.B. (2005). Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. P1024.
- Desmarchelier, C., Tourniaire1, F., Nowicki1, M., Bott, R., Borel, P. (2014). La variabilité génétique qui module la biodisponibilité de la vitamine E peut-elle expliquer l'hétérogénéité des effets biologiques observés suite à la supplémentation en vitamine E?. *Nutrition clinique et métabolisme*. 28: S29-S65.
- Desport, J.C., Couratier, P. (2002). Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition clinique et métabolisme*; 16: 253-259.
- Dolman, C.L., MacLeod, P.M. (1981). Lipofuscin and its relation to aging. In *Advances in cellular neurobiology*; 2: 205-247.
- Draper, H., Squirese, J., Mahmoudi, H., Wu, J., Agarwal, S., Hadley, M. (1993). A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdéhyde in biological materials. *Free Radical Biology and Medicine*; 15: 353-363.
- Drew, B., Leeuwenburgh, C. (2002). Aging and the role of reactive nitrogen species. *Annals of the New York Academy Science*; 959: 66-81.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev*; 82: 47-95.
- Durand, D., Damon, M., et Gobert, M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*; 48(5), 218-224.
- Dymsza, H.A., Park, J. (1975). Excess dietary vitamin E in rats. *Fedn Proc Fedn Am Socs Exp Biol*; 34: 912-917.

-E-

Eder, K., Flader, D., Hirche, F., Brandsh, C. (2002). Excess dietary vitamin E lowers the activities of antioxidative enzymes in erythrocytes of rats fed salmon oil. *The Journal of nutrition*; 132 (11): 3400-3404.

Elgaml, S. A., Khalil, R., Hashish, E. A., El-Murr, A. (2015). Protective effects of selenium and Alpha-tocopherol against lead-induced hepatic and renal toxicity in oreochromis niloticus. *Journal of Aquaculture Research & Development*. 2015.

Emel, Ş., Saadet., G. (2007). Immobilization stress in rat tissues: Alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system. *Comparative Biochemistry and Physiology*;144: 342-347.

Evans, H.M., Bishop, K.S. (1922). On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science*; 56:p 650.

-F-

Favier, A. (2003). Le stress oxidant :Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques. L'actualité chimique*, 108-115.

Ferry, M., Mischlich, D., Alix, E., Brocker, P., Constans, T., Lesourd, B., Pfitzenmeyer, P., Vellas B. (2012). *Nutrition de la personne âgée*. Elsevier Masson ; p368.

Fu, J., Zhang, W., Mai, K., Feng, X., Xu, W., Liufu, Z., Ma, H., Ai, Q. (2007). Effects of vitamin E on antioxidant enzyme activities and fatty acid compositions in juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 26, No. 3, 809-814.

Fujita, K., Iwasaki, M., Ochi, H., Fukuda, T., Ma, C., Miyamoto, T., Takitani, K., Negishi-Koga, T., Sunamura, S., Kodama, T., et *al.* (2012). Vitamin E decreases bone mass by stimulating osteoclast fusion. *Nat Med*; 18(4):589-594.

-G-

Galli, F., Azzi, A., Birringer, M., Cook-Mills, J.M., Eggersdorfer, M., Frank, J., Cruciani, G., Lorkowski, S., Ozer, N.K., (2017). Vitamin E: Emerging aspects and new directions. *Free Radic. Biol. Med*; 102: 16-36.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. *L'actualité chimique*: 91-96.

Garrido-Polonio, C., Garcia-Linares, M.C., Garcia-Arias, M.T., Lopez-Varela, S., Garcia-Fernandez, M.C., Terpstra, A.H., 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.

Gerald, F., Combs, J.R. (2012). *The vitamins*, 4th Edition. Academic Press. p600.

Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW et al. (1954). Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Science*; 119: 623-626.

Glantzounis, G.K., Tsimoyiannis, E.C., Kappas, A.M., Galaris, D.A. (2005). Uric acid and oxidative stress. *Curr Pharm Des*; 11:4145-4151.

Grandjean, D. (2005). Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien. *Le Nouv Prat Vét.* 22 : 11-15.

Guerby, P., Vidal, F., Garoby-Salom, S., Vayssiere, C., Salvayre, R., Parant, O., Negre-Salvayre, A. (2015). Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la pre-eclampsie : mise au point. *Oxidative stress and preeclampsia: A review. Gynecologie Obstetrique & Fertilité*; 43: 751-756.

-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.

Halliwell, B. (1988). Albumin an important extracellular antioxidant?. *Biochem Pharmacol*; 37(4): 569-571.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys; 280: 1–8.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (2007). Free radicals in biology and medicine. 4th Edition. Oxford University Press, New York.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (2015). Free Radicals in Biology and Medicine. Fifth Edition. Oxford University Press; p944.

Hank, A. (1986). Spektrum Vitamine, Vitamin E. In: Arzneimittel-therapie heute Band, 42: 36-42.

Hardy, J., Selkoe, D.J. (2002). "The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics." Science 297(5580): 353-359.

Hartman, T.J., Albanes, D., Pietinen, P., Hartman, A.M., Rautalahti, M., Tangrea, J.A., Taylor, P.R. (1998). Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 7:335±40.

Hellsten, Y., Svensson, M., Sjödin, B., Smith, S., Christensen, A., Richter, E.A., Bangsbo, J. (2001). Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. Free Radic Biol Med; 31:1313-1322.

Herrera, F., Sainz, R.M., Mayo, J.C., Martin, V., Antolin, I., Rodriguez, C. (2001). Glutamate induces oxidative stress not mediated by glutamate receptors or cystine transporters: protective effect of melatonin and other antioxidants. J. Pineal Res; 31: 356-362.

Hill, H., Hamed, M. (1960). Vitamin E Metabolism. Arch. Tierernahr; 618(5): 10- 129

-J-

Jadot, G. (1981). Le rat de laboratoire. 1-Réactif biologique. Masson.

Jeancolas, L., Petrovska-Delacrétaz, D., Lehericy, S., Benali, H., Benkelfat, B.E. (2016). L'analyse de la voix comme outil de diagnostic précoce de la maladie de Parkinson: état de l'art. CORESA2016: 18^e Edition Compressions et Representation des Signaux Audiovisuels. Nancy : CNRS; 113-121.

Jenkins, M.Y., Mitchell, G.V. (1975). Influence of excess vitamin E on vitamin A toxicity in rats. J.Nutr.J05, 1600-1606.

Jialal, I., Devaraj, S. (1996). The role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Nutr*; 126: 1053S-7S.

Jiang, Q., Wong, J., Fyrst, H., Saba, J.D., Ames, BN. (2004). Gamma-Tocopherol or combinations of vitamin E forms induce cell death in human prostate cancer cells by interrupting sphingolipid synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 101(51):17825-17830.

Johnson, F., Giulivi, C. (2005). Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Mol Aspects Med*; 26: 340-352.

Johnson, R.J., Sautin, Y.Y., Oliver, W.J., Roncal, C., Mu, W., Gabriela Sanchez-Lozada, L., Rodriguez-Iturbe, B., Nakagawa, T., Benner, S.A. (2009). Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? *J Comp Physiol B*; 179:67-76.

Jungbluth, G. (2008). Les espèces réactives de l'oxygène et leurs principales implications dans la physiopathologie canine. *Méd. Vét. Lyon*: 14.

-K-

Kadium, C., Venkata, S., Lokanatha, V., Wudayagiri, R., Chetiti, 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 Biology*. 64: 97-106.

Kinsky, N. (1989). Antioxydants function of carotenoides. *Free Rad. Biol. Med*; 7: p617.

Kleme, M.L., Levy, E. (2015). *Antioxidants & Redox Signaling*; 22(7): 614-631.

Kodad, O., Alonso, J. (2018). Genotypic and environmental effects on tocopherol content in almond. *Antioxidants*; 7(1): 6.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et supplementations antioxydantes ou un aspect different de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*; 20(4): 165-177.

Kohen, R., et Nyska, A. (2002). Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*; 30(6): 620-650.

Références bibliographiques

Kontush, A., Finckh, B., Karten, B., Kohlschu, A. Beisiegel, U. (1996) Antioxidant and prooxidant activity of α -tocopherol in human plasma and low density lipoprotein. *J. Lipid Res*; 37: 1436 -1448

Krilov, D., Kosovic, M., Serec, K. (2014). Spectroscopic studies of alpha tocopherol interaction with a model liposome and its influence on oxidation dynamics. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*; 129: 588-593.

Krinsky, N. (2001). Carotenoids as anti-oxidants. *Nutrition*; 17: 815-7.

Kutlubay, Y.R., Oguz, E.O., Guven, C., Can, B., Sinik, Z., Tunkay, O.L. (2007). Histological and ultrastructural evidence for protective effects on aluminium-induced kidney damage by intraperitoneal administration of alpha-tocopherol. *International Journal of Toxicology*; 26:95-101.

-L-

Landes, N., Pfluger, P., Kluth, D., et *al.* (2003). Vitamin E activates gene expression via the pregnane X receptor. *Biochem Pharmacol*, 65: 269-273.

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-Desmoulins, C., André, M., Nowicki, M., Souidi, M., Borel, P. (2010). Vitamin E decreases endogenous cholesterol synthesis and apo-AI-mediated cholesterol secretion in Caco-2cells. *J Nutr Biochem*, 21: 1207-1213.

Lane, M.A., Bailey, S.J. (2005). Role of retinoid signalling in the adult brain. *Prog Neurobiol*; 75: 275-293.

Langsjoen,P., Langsjoen, A. (2003). The clinical use of HMG CoA- reductase inhibitors and the associated depletion of coenzyme Q10. A review of animal and human publications *Biofactors*; 18:101-111.

Lee, J., Koo, N., Min, D.B. (2004). Reactive oxygen species aging and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*; 3: 21-33.

Références bibliographiques

Lee, W., Akatsuka, S., Shirase, T., Dutta, K.k., Jiang, L., Liu, Y.T., Onuki, J., Yamada, Y., Okawa, K., Wada, Y., Watanabe, A., Kohro, T., Noguchi, N., Toyokuni, S. (2006). α -Tocopherol induces calnexin in renal tubular cells: Another protective mechanism against free radical-induced cellular damage. *Archives of Biochemistry and Biophysics*; 453: 168–178.

Léger, C.L. (2000). La vitamine E et la prévention cardiovasculaire. *Annales de biologie clinique*; Vol 58 (5): 527-540.

Lemaire-Ewing, S., Desrumaux, C., Neel, D. (2010). Vitamin E transport, membrane incorporation and cell metabolism: Is alpha-tocopherol in lipid rafts an oar in the lifeboat?. *Mol Nutr Food Res*; 54: 631-640.

Leverve, X. (2009). Stress oxidant et antioxydants. *Cahiers de nutrition et de diététique*; 44: 219-224.

Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel S, Stadtman, E.R. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*; 186: 464-478.

Li, X.C., Lu, X.L., Chen, H.H. (2009). α -Tocopherol Treatment Ameliorates Chronic Pancreatitis in an Experimental Rat Model Induced by Trinitrobenzene Sulfonic Acid. *Pancreatology*; 11:5-11.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, Vol 4(8): 118-126.

Lowry, O.M., Rosenbrough, R.P., Williams, A. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*; 226: 497-509.

-M-

Maddipati, K.R., Marnett, L.J. (1987). Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *J Biol Chem*; 262: 17398-17403.

Maden, M., Hind, M. (2003). Retinoic acid, a regeneration-inducing molecule. *Dev Dyn*; 226: 237-244.

Mardones, P., Strobel, P., Miranda, S. (2002). Alpha-tocopherol metabolism is abnormal in scavenger receptor class B type I (SR-BI)-deficient mice. *J Nutr*; 132: 443-9.

Références bibliographiques

Mario, D., Lorena, L., Alvaro, T., Gabreila, E.F., Fernando, J.D., Gerardo, B. (2016). Antioxidant properties in a non-polar environment of difluoromethyl bioisosteres of methyl hydroxycinnamates. Royal Pharmaceutical Society.

Martoja, R., Mortaja-Pierson, M. (1967). Initiation aux Techniques de l'Histologie animale. Paris: Masson, p345.

Matés, J.M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*; 16: 83-104.

McCord, J.M., Edeas, M.A. (2005). SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother*; 59:139-142.

McCord, J.M., Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*; 244 (22): 6049-6055.

McMichael, M.A. (2007). Oxidative stress, antioxidants, and assessment of oxidative stress in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 231(5): 714-720.

Meagher, E.A., Barry, O.P., Lawson, J.A., Rokach, J., FitzGerald, G.A. (2001). Effects of Vitamin E on lipid Peroxidation in healthy Persons. *CLINICAL INVESTIGATION*. Vol 285; No.9.

Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Drai, J., Therond, P. (2008). Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques. In *Annales de Biologie Clinique* ; Vol.66, No.6, pp.605-620.

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-

Narushima, K., Takada, T., Yamanashi, Y. (2008). Niemann-pick C1-like 1 mediates alpha-tocopherol transport. *Mol Pharmacol*; 74: 9-42.

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 a-tocopherol induces cardiotoxicity in Wistar rats determined by echocardiography and histology. *Human and Experimental Toxicology*; 30, (10): 1540-1548.

Références bibliographiques

Navarro, A., Bandez, M.J., Lopez-Cepero, J.M., Gomez, C., Boveris, A. (2011). High doses of vitamin E improve mitochondrial dysfunction in rat hippocampus and frontal cortex upon aging. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*; 300: 827-834.

Negis, Y., Zingg, J.M., Libinaki, R., Meydani, M., Azzi, A. (2009). Vitamin E and cancer. *Nutr Cancer*; 61(6): 875-8.

Nehdi, I., Omri, S., Khalil, M.I., Al-Resayes, S.I. (2010). Characteristics and chemical composition of date palm (*Phoenix canariensis*) seeds and seed oil. *Industrial Crops and Products*; 32(3): 360-365.

Nielsen, H.k., Finot, P.A., Hurrell, R.F. (1985). Reactions of proteins with oxidizing lipids. *British Journal of Nutrition*, 53(1): 75-86.

Nishida, Y., Ito, S., Ohtsuki, S., Yamamoto, N., Takahashi, T., Iwata, N., et al. (2009). Depletion of vitamin E increases amyloid beta accumulation by decreasing its clearances from brain and blood in a mouse model of Alzheimer disease. *J Biol Chem*; 284: 33400-8.

Nwanguma, B.C., Achebe, A.C., Ezeanyika, L.U., Eze, L.C. (1998). Toxicity of oxidized fats II: tissue levels of lipid peroxides in rats fed a thermally oxidized corn oil diet. *Food Chem. Toxicol*, 37: 413-416.

-O-

Olatunya, A.M., Omojola, A., Akinpelu, K., Akintayo, E.T. (2019). Vitamin E, phospholipid, and phytosterol contents of *parkia biglobosa* and *citrullus colocynthis* seeds and their potential applications to human health, *Prev. Nutr. Food Sci*; 24: 338-343.

Olivier, S. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *C. R. Biologies*; 327: 649-662.

Omura, T. (2010). Structural diversity of cytochrome P450 enzyme system. *Journal of biochemistry*; 147(3): 297-306.

Ortuño, J., Esteban, M.A., Meseguer, J. (2000). High dietary intake of α -tocopherol acetate enhances the non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology*. 10: 293-307.

Références bibliographiques

Ozcan, A., Ogun, M. (2015). Biochemistry of reactive oxygen and nitrogen species. In Basic principles and clinical significance of oxidative stress. IntechOpen.37-58.

-P-

Peh, H.Y., Tan, W.S., Liao, W., Wong, W.S. (2015). Vitamin E therapy beyond cancer: Tocopherol versus tocotrienol. *Pharmacol Ther*; 162: 152-169.

Phaniendra, A., Jestadli, D.B., et 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. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*; 387(7): 605-620.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Jean-Olivier Defraigne, J.O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*; 16: 233-239.

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

Powers, S.K., Jackson, M.J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological reviews*; 88(4): 1234-1276.

Pryor, W.A. (2000). Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials, *Free Rad. Biol. Med*; 28: 141-164.

-R-

Raman, A.V., Berry, M.J. (2011). Selenoproteins in cellular redox regulation and signaling. *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling*; 195-208.

Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian Le Goff, L., Had-Aissouni, L. (2005). Stress oxydatif cérébral: les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*; 24: 502-509.

- Reboul, E. (2011). Absorption intestinale des vitamines liposolubles. *OCL*; 18: 53-58.
- Reboul, E., Klein, A., Bietrix, F. (2006). Scavenger receptor class B type I (SR-BI) is involved in vitamin E transport across the enterocyte. *J Biol Chem*; 281: 4739-4745.
- Rice, M.E. (2000). Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. *Trends Neurosci*; 23: 209-216.
- Robbins, S.L., Kumar, V. (1994). *Pathologic Basis of Disease*. WB Saunders Company, Philadelphia; p591.
- Robert, J., Glynn, R. J., Ridker, P. M., Goldhaber, S. Z., Zee, R. Y., Buring, J. E. (2007). Effects of Random Allocation to Vitamin E Supplementation on the Occurrence of Venous Thromboembolism Report From the Women's Health Study. *Circulation*; 116(13): 1497-1503.
- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N.R., Tarnus, E., Bourdon, E. (2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett*; 582(13): 1783-1787.

-S-

- Saldanha Do Carmo, C., Maia, C., Poejo, J., Lychko, I., Gamito, P., Nogueira, I., Duarte, C.M.M. (2017). Microencapsulation of alpha-tocopherol with zein and beta-cyclo-dextrin using spray drying for colour stability and shelf-life improvement of fruit beverages. *RSC Advances*, 7(51): 32065-32075.
- Salinthon, S., Kerns, A.R., Tsang, V., Carr, D.W. (2013). α -Tocopherol (vitamin E) stimulates cyclic AMP production in human peripheral mononuclear cells and alters immune function. *Molecular Immunology*; 53: 173-178.
- Sánchez-Sevilla, L., Mendieta-Condado, E., Hernández-Muñoz, R. (2016). Treatment reverses α -tocopherol-induced desynchronization of polyamine and retinoid metabolism during rat liverregeneration Lourdes/ *Journal of Translational Medicine*; 14(1): 307.
- Sayre, L.M., Moreira, P.I., Smith, M.A., Perry, G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*; 41(2): 143-164.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*; 3(1): 91-100.

Références bibliographiques

Sharma, N. (2014). Free Radicals, Antioxidants and Disease. *Biol Med*, 6: 214.

Sies, H. (2018). On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. *Current Opinion in Toxicology*; 7: 122-126.

Singal, P.K., Kapur, N., Dhillon, K.S., Beamish, R.E. Dhalla, N.S. (1983). Role of free radicals in catecholamine-induced cardiomyopathy. *Can. J. Physiol. Pharm*; 60 : 1390-1397.

Small, D.M., Coombes, J.S., Bennett, N., Johnson, D.W., Gobe, G.C. (2012). Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology*; 17(4): 311-321.

Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*; 327: 649-662.

Stadtman, E.R., Levine, R.L. (2000). Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci*; 899: 191-208.

Switala, J., Loewen, P.C. (2002). Diversity of properties among catalases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*; 401: 145-154.

-T-

Taibur, R., Ismail, H., Towhidul, I., Hossain, U.S. (2012). Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*; 3: 997-1019.

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.

Thérond, P., Bonnefont-Rousselot, D. (2005). "Systèmes antioxydants endogènes". *Radicaux libres et stress oxydant*. Paris, Lavoisier; 87-111.

Traber, M.G. (2007). Vitamin e regulatory mechanisms. *Annu Rev Nutr*; 27: 347-362.

Traber, M.G., Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med*; 43: 4-15.

-V-

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*; 39(1): 44-84.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J.I., Mazur, M. (2006). "Les radicaux libres, des métaux et des antioxydants dans le cancer induit par le stress oxydatif ". *Chemico-Biological Interactions*; 160(1): 1-40.

Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S. (2004). The antioxidants and Pro-Antioxidants Network : An Overview. *Curr. Pharm. Des*; 10: 1677-1694.

Vincent, H., Taylor, A.G. (2006). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obesity*; 30: 400-418.

-W-

Weber, C., Erl, W., Weber, P.C. (1995). Enhancement of monocyte adhesion to endothelial cells by oxidatively modified low-density lipoprotein is mediated by activation of CD11b. *Biochem Biophys Res Commun*; 206: 621-8.

Weidinger, A., Kozlov, A.V. (2015). Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction. *Biomolecules*; 5: 472-484.

Wheldon, G.H., Bhatt, A., Keller, P., Hummler, H. (1983). D,1-alpha-tocopheryl acetate (vitamin E): A long term toxicity and carcinogenicity study in rats. *Int J Vitam. Nutr. Res*; 53: 287-296.

Wongsasulak, S., Pathumban, S., Yoovidhya, T. (2014). Effect of entrapped alpha-tocopherol on mucoadhesivity and evaluation of the release, degradation, and swelling characteristics of zein-chitosan composite electrospun fibers. *Journal of Food Engineering*; 120: 110-117.

-Y-

Yang, N.Y.J., Desai, I.D. (1977). Effect of high levels of dietary vitamin E on liver and plasma lipids and fat soluble vitamins in rats. *J. Nutr* ; 197: 1418-1426

Yang, S.G., Wang, W.Y., Ling, T.J., Feng, Y., Du, X.T., Zhang, X., et al. (2010). α -Tocopherol quinone inhibits b-amyloid aggregation and cytotoxicity, disaggregates preformed fibrils and

decreases the production of reactive oxygen species, NO and inflammatory cytokines. *Neurochem Int*; 57: 914-922.

-Z-

Zainal, A., Muchlisin A.A., Arisa, A.A., Muhammadar, N.F., Iko. I.A. Siti-Azizah, M.N. (2016). Growth performance and feed utilization of keureling (*Tor tambra*) fingerlings fed a formulated diet with different doses of vitamin E (alpha-tocopherol). *Arch. Pol. Fish.* 23: 47-52.

Zingg, J.M. (2015). Vitamin E: A Role in Signal Transduction. *Annu Rev Nutr*; 35: 135-173.

Zingg, J.M., Azzi, A. (2004). Non-antioxidant activities of vitamin E. *Curr Med Chem*; 11(9): 1113-1133.

Zingg, J.M., Kempna, P., Paris, M. (2008). Characterization of three human sec14p-like proteins: alpha-tocopherol transport activity and expression pattern in tissues. *Biochimie*; 90: 1703-1715.

Annexes

Annexe 01

A. Verrerie et autres

- Lames lamelles.
- Lames de bistouri.
- Cassettes d'inclusion.
- Entonnoir.
- Spatule.
- Papier absorbant.
- Embouts de 1000 μ l.
- Embouts de 200 μ l.
- Boîtes de Pétri.
- Cuve de spectrométrie.
- Erlenmeyer de 250ml.
- Bêchers 50ml et 250ml.
- Compresse.
- Tube en verre.
- Pissette.
- Ciseaux.
- Pinces.
- Flacons.
- Micropipettes (10 μ l à 1000 μ l).
- Tubes à essai.
- Portoirs.

B. Réactifs chimiques

- Vitamine E.
- Eau distillé.
- Triton X-100.
- Ether Etylique.
- Alcool.
- Acide trichloracétique.
- Hydroxyde de sodium NaOH.

- Tartrate de $\text{Na}^+ \text{K}^+$.
- Sulfate de cuivre CuSO_4
- Sulfate de carbonate Na_2CO_3 .
- Folin Ciocalteu.
- Phosphate de potassium monobasique KH_2PO_4 .
- Butyl-Hydroxtoluène (BHT).
- Phosphate disodique $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$.
- Peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

C. Appareillages

- Automate de traitement des tissus (type Leica).
- Automate de coloration des lames (type SLEE).
- Module de refroidissement de paraffine (Type SLEE).
- Microtome (type Leica).
- Plaque chauffante.
- Etuve.
- Microscope optique (OPTIKA).
- Appareil photo (Leica).
- Réfrigérateur.
- Balances de précision.
- Bain-marie.
- Broyeur homogénéisateur.
- Centrifugeuse.
- Spectromètre UV-visible.
- Agitateur.
- Vortex.
- ph mètre.

Annexe 02

Tableau : Constitution du régime alimentaire (g/100g).

Ingrédients	RS	RSE 500	RSE 600	RSE 650	RSE 700	RSE 750	RSE 800	RSE 850	RSE 900	RSE 950	RSE 1000
Mais	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8
Soja	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1
Son	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8
Calcaire	01.5	01.5	01.5	01.5	01.5	01.5	01.5	01.5	01.5	01.5	01.5
Phosphate	00.8	00.8	00.8	00.8	00.8	00.8	00.8	00.8	00.8	00.8	00.8
C.M.V (Complément Méniralo- Vitaminique)	02.0	02.0	02.00	02.0	02.0	02.0	02.0	02.0	02.0	02.0	02.0
α -T	/	0.05	0.06	0.065	0.07	0.075	0.08	0.085	0.09	0.095	0.1

- Mélange minéral contenu dans 100 g d'aliment: KH_2PO_4 20,0 mg; CaCO_3 34,6 mg; CaHPO_4 26,55 mg; 13,70 mg de NaCl; 3,42 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,042 mg; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,27 mg; $7\text{H}_2\text{O}$ 1,02 mg FeSO_4 ; $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,15 mg; CaCO_3 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 03**Tableau :** Mode opératoire de l'automate de traitement des tissus du type Leica.

Station	Réactifs	Temps
01	Formol	1H
02	Alcool 70	2H
03	Alcool 80	2H
04	Alcool 95	2H
05	Alcool 100	2H
06	Alcool 100	2H
07	Alcool 100	2H
08	Xylène	2H
09	Xylène	2H
10	Xylène	2H
11	Paraffine	2H
12	Paraffine	2H

Annexe 04

Préparation des solutions de dosage des protéines

Solution A: préparée par mélange des trois solutions suivant:

- 0,5ml de la solution de tartrate de $\text{Na}^+ \text{K}^+$ à 2%(P/V),
- 0,5 ml de la solution de sulfate de cuivre CuSO_4 à 1%,
- 50ml 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.

Annexe 05

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

Solution A : tampon phosphate (50 mM ; pH=7,4).

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

Solution B : peroxyde d'hydrogène (30mM).

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

Annexe 06

Tableau : Variation du taux d'évolution du poids corporel et poids cérébral chez les rats Wistar (RS: témoin ; RSE500 : supplémentés en 500mg d' α -T/kg ; RSE600 : supplémentés en 600mg d' α -T/kg ; RSE650 : supplémentés en 650mg d' α -T/kg ; RSE700 : supplémentés en 700mg d' α -T/kg ; RSE750 : supplémentés en 750mg d' α -T/kg ; RSE800 : supplémentés en 800mg d' α -T/kg ; RSE850 : supplémentés en 850mg d' α -T/kg ; RSE900 : supplémentés en 900mg d' α -T/kg ; RSE950 supplémentés en 950mg d' α -T/kg ; RSE1000 : supplémentés en 1000mg d' α -T/kg), *P< 0.05 ; **P≤0.01 ; ***P≤0.001 ; **a** : comparaison avec le lots RS.

	RS	RSE500	RSE600	RSE650	RSE700	RSE750	RSE800	RSE850	RSE900	RSE950	RSE1000
Taux d'évolution du poids corporel ± écart type	1.15 ± 0.28	1.00 ± 0.22	1.01 ± 0.22	1.10 ± 0.26	1.02 ± 0.26	a * 0.89 ± 0.20	a * 0.73 ± 0.18	a * 0.70 ± 0.14	a * 0.77 ± 0.18	a *** 0.72 ± 0.17	a *** 0.79 ± 0.18
Moyenne (Poids cérébral en g) ± écart type	1.28 ± 0.13	1.27 ± 0.06	1.20 ± 0.10	1.28 ± 0.12	1.30 ± 0.10	1.47 ± 0.12	1.43 ± 0.06	1.40 ± 0.20	1.30 ± 0.10	1.33 ± 0.06	1.40 ± 2.17E ⁻¹⁶