



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA -1-

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIE, ENVIRONNEMENT ET SANTE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCE DE LA NATURE ET DE

LA VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOCHIMIE

## THEME

Variation des paramètres biochimiques du stress oxydatif et histopathologie du tissu rénal chez des rats wistar soumis à un régime supplémenté en différentes doses d' $\alpha$ -tocophérol.

Présentée par :

soutenu le : 21/09/2020

M<sup>elle</sup> Almani Loubna

M<sup>elle</sup> Louaar Amira Khoulood

M<sup>elle</sup> Saadoun Zineb

Devant le jury :

➤ M<sup>me</sup> Feknous S.

MCB

USDB1

Présidente

➤ M<sup>me</sup> Tobal S.

MAA

USDB1

Examinatrice

➤ M<sup>me</sup> Rouaki. F

MCB

USDB1

Promotrice

Année Universitaire : 2019/2020

## Remerciements

Au terme de ce travail, nous remercions Allah, le bon Dieu miséricordieux pour la force, la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces années d'étude.

Nos remerciements vont aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce modeste travail de recherche :

A « **M<sup>me</sup> Feknous S.** », maître de conférence classe « B » à la faculté de S.N.V à l'université de Blida -1- d'avoir bien voulu nous faire l'honneur de présider ce jury.

A notre encadreur de mémoire « **M<sup>me</sup> Rouaki F.** », maître de conférence classe « B » à la faculté de S.N.V à l'université de Blida -1- d'avoir mis à notre disposition sa pleine disponibilité et réuni tous les moyens nécessaires pour la réalisation de ce travail, de la confiance qu'elle nous a accordée en nous confiant ce sujet, ses conseils et recommandations qui nous ont été d'une réelle motivation ainsi que son aide précieuse et surtout sa gentillesse. Soyez assuré de notre profond respect.

A « **M<sup>me</sup> Tobal S.** » maître Assistant classe « A » à la faculté de S.N.V à l'université de Blida -1- qui a bien voulu consacrer de son temps pour lire et juger notre travail.

Nous exprimons également notre sincère remerciement à « **Dr Boudour H.** » Médecin pathologiste au niveau de l'hôpital Fares Yahia de Koléa pour son aide à la lecture des lames histologiques. Ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Fares Yahia de Koléa pour leurs conseils et leurs appuis pendant toute la durée du travail.

Que nos vifs remerciements aillent au « **M<sup>f</sup> Bel Hassan** » médecin néphrologue à l'hôpital Lakhder Bouchema de Sidi Ghiles (Cherchell) pour sa précieuse aide lors de la lecture des coupes histologiques.

Notre gratitude à toutes les personnes du centre d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger (Delly Brahim) de nous avoir permis de faire l'élevage.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve au cours de notre cursus universitaire.

## Dédicaces

*Je remercie avant toutes Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

*Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,*

### ***A ma chère maman***

*A celle qui m'a transmis la vie, je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me donnez depuis mon enfance, quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur et faire en sorte que jamais je ne vous déçois.*

### ***A mon cher papa***

*Ecole de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide, Je vous remercie pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi, Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation*

### ***A mon frère Oussama***

*Qui n'a cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité*

### ***A ma chère amie et sœur, mon binôme loubna***

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble, je te souhaite tout le bonheur du monde.*

### ***A mes grands-parents maternels et ma grande mer paternelle***

*Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

### ***A la mémoire de mon grand-père paternel***

*J'aurais tant aimé que vous soyez présents je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.*

### ***A mes chers cousins et cousines Imen, Selma, Meriem***

### ***Sarah, Ikram, Isra, Inaya, Amir, Iyad et Asil***

### ***A tout ma familles oncles, tantes, leurs époux et épouses***

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère, je vous aime*

*A mes meilleurs amies, Nabila et Amira, mes collègues d'étude Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

**Zineb**

## *Dédicaces*

*En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail. Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie :*

*Ma mère «Fatîha», qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*Mon père « Mohamed », qui peut être fier et trouver ici le résultat de longue années de sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans la vie.*

*A mes chères sœurs «Fouzîa et Zîneb », mon chère frère «Fouzi» pour ces encouragements et ses prières pour moi tout le long de mes années d'études, à toutes ma famille qui m'a toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*A mes amies « Meriem, Nabîla, Amîra, Nadjete » merci pour ce tous ces agréables moments passés ensemble.*

*A tous ceux et celles que j'ai rencontrés et qui m'ont aidés durant 5 ans des études Universitaires.*

*Loubna*



## *Dédicace ...*

*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 mon très cher Père*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.*

*Merci mon père, Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

### *A ma très chère mère*

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

*Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

### *A mes sœurs Raouane et Wafaa*

*Je ne peux pas décrire votre saint amour pour moi, la seule chose qui je peux faire est dédier ce travail pour vous et je vous remercie aussi de votre fort et de belles surprises pour moi.*

### *A mes très chers frères Salah-Eddine et Malik Sofiane*

*Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.*

*Et une spécial dédie pour mon oncle Fouad et a toute ma famille*

*À mes chers amis : Bekhouche Rania, Saadoun zineb et Almani loubna et a tous mes sœurs je vous aime*

*Amira*

## Résumé

L'objectif de notre étude est d'évaluer la dose pro-oxydante de l'alpha-tocophérol ( $\alpha$ -T), et des effets de sa supplémentation à des doses croissantes (500 à 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment) sur les paramètres pondéraux et sur l'histologie du tissu rénale chez les rats males de souche Wistar.

Les principaux résultats obtenus concernant les paramètres pondéraux ne montrent aucune variation significative du taux d'évolution du poids corporel pour les rats supplémenté avec 500 à 700mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment, ces doses n'ont eu aucun effet sur la croissance des rats, par contre, nous avons obtenu une diminution significative du taux d'évolution du poids corporel chez les lots supplémenté avec 750 à 900mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment, accompagné d'une baisse hautement significative concernant les rats supplémenté en 950, 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment, ce qui suggère que l' $\alpha$ -T a affecter la croissance des rats concernant ces doses.

Notons que la supplémentation de 500 à 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment n'a pas affecté le poids rénal puisqu'aucune variation significative n'a été enregistrée.

L'étude histologique montre une architecture normale de l'ensemble du cortex rénale pour les rats témoins et ceux qui ont été supplémenté avec 500 à 750 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment, ce qui montre l'effet antioxydant et protecteur de l' $\alpha$ -T. Cependant chez les lots traités avec 800 au 1000mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment, on a observé des congestions vasculaires, des atrophies et ectasies et quelques altérations tubulaires ainsi que des infiltrats lymphocytaires, dans ce cas l' $\alpha$ -T n'a pas agit en tant qu'antioxydant mais a eu plutôt tendance à agir en tant que pro-oxydant.

En finalité, nous pouvons annoncer que la dose à laquelle l' $\alpha$ -T a basculé de son effet antioxydant à un effet prooxydant est la dose 800 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment.

**Mots clés :** antioxydant, pro-oxydant, alpha- tocophérol, rat, rein.

## Abstract

The objective of our study is to evaluate the pro-oxidant dose of vitamin E, and the effects of its supplementation at increasing doses (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg of  $\alpha$ -T / kg of food) on the weight parameters and on the histology of the renal tissue in male rats of the Wistar strain

The main results obtained concerning the weight parameters don't show any significant variation in the rate of evolution of body weight for the rats supplemented with 500 to 700mg  $\alpha$ -T / kg of food , these doses had no effect on the growth of the rats, however, we obtained a significant decrease of the rate of evolution of body weight in batches treated with 750 to 900mg  $\alpha$ -T / kg of food, accompanied by a highly significant decrease in rats supplemented with 950, 1000 mg  $\alpha$ -T / kg of food, which suggests that  $\alpha$ -T affected the growth of rats at these doses.

Note that supplementation with 500to 1000 mg  $\alpha$ -T / kg of food didn't affect renal weight since no significant variation has been registered.

The histological study shows a normal architecture of the entire renal cortex for the control rats and those which supplemented with 500 to 750 mg of  $\alpha$ -T / kg of food, which shows the antioxidant and protective effect of  $\alpha$ -T. However in batches treated with 800 to 1000mg of  $\alpha$ -T / kg of food, vascular congestion, atrophies and ecstasies and some tubular damage were observed as well as lymphocytic infiltrates, in this case the  $\alpha$ -T didn't act as an antioxidant but rather had tendency to act as a pro-oxidant.

Finally, we can report that the dose at which  $\alpha$ -T switched from its antioxidant effect to a pro-oxidant effect is the dose of 800 mg of  $\alpha$ -T / kg of food.

**Key Words:** antioxidant, prooxidant, alpha-tocopherol, rat, kidney.

## الملخص

الهدف من عملنا هو تقييم الجرعة الدافعة للأكسدة للفيتامين ه، و تأثير الجرعات المتزايدة (500، 600، 650، 700، 750، 800، 850، 900، 950، 1000 مغ من ألفا توكوفيرول ( $\alpha$ -T) / كغ من الغذاء) على وزن الجسم و الكليتين بالإضافة إلى الفحص النسيجي للأنسجة الكلوية لجرذان ويستار wistar ذكورية

أهم النتائج المتحصل عليها فيما يخص الأوزان، لم يحدث تغيير معتبر في معدل النمو بالنسبة للمجموعات المكملة ب 500 إلى 700 مغ من ألفا توكوفيرول ( $\alpha$ -T) / كغ من الغذاء، مما يدل على أن هذه الجرعات لم تؤثر على نمو الجرذان، في المقابل تم الحصول على انخفاض معتبر في معدل النمو فيما يتعلق بالمجموعات الممتدة من 750 إلى 900 مغ من ألفا توكوفيرول ( $\alpha$ -T) / كغ من الغذاء، مع تناقص جد معتبر بالنسبة للمجموعات المكملة ب 950، 1000 مغ من ألفا توكوفيرول ( $\alpha$ -T) / كغ من الغذاء و هذا ما يشير إلى أن ألفا توكوفيرول قد أثرت على نمو الجرذان.

من ناحية أخرى لاحظنا أن الجرعات المتزايدة من 500 إلى 1000 مغ من ألفا توكوفيرول ( $\alpha$ -T) / كغ من الغذاء لم تؤثر على الوزن الكلوي نظرا لعدم تسجيل أي تغيير معتبر

اضهرت الدراسة النسيجية ان بنية القشرة الكلوية سليمة بأكملها بالنسبة للمجموعات الممتدة من 500 إلى 750 مغ من ألفا توكوفيرول ( $\alpha$ -T) / كغ من الغذاء، وهذا يدل على التأثير الوقائي للاف توكوفيرول من الأكسدة. في المقابل لاحظنا التهاب على مستوى الأوعية الدموية مع بعضالضمر و التوسعات الكلوية و تلف بعض الأنابيب الكلوية فيما يخص المجموعات المكملة ب 800 إلى 1000 مغ من ألفا توكوفيرول ( $\alpha$ -T) / كغ من الغذاء، في هذه الحالة الالفا توكوفيرول لم يؤثر كمضاد للأكسدة لكن كان له تأثير كدافع للأكسدة.

في نهاية هذه الدراسة ، نستنتج ان الجرعة التي تتحول عندها الالفا توكوفيرول من تأثيرها كمضاد للأكسدة إلى دافع للأكسدة هي 800 مغ من ألفا توكوفيرول ( $\alpha$ -T) / كغ من الغذاء.

**الكلمات المفتاحية :** دافع الأكسدة ، مضاد للأكسدة، ألفا توكوفيرول، جرد، الكلية.



## Liste des abréviations

<b>RL</b>	: Radical libre.
<b>ERO</b>	: Espèces réactives de l'oxygène.
<b>ERN</b>	: Espaces réactifs de l'azote.
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	: Anion superoxyde.
<b>OH<sup>•</sup></b>	: Radical hydroxyle.
<b>NO<sup>•</sup></b>	: Monoxyde d'azote.
<b>NOS</b>	: Nitrique oxyde synthase.
<b>RO<sup>•</sup></b>	: Radical alcoxyle.
<b>ROO<sup>•</sup></b>	: Radical peroxyde.
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	: Oxygène singulet.
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Peroxyde d'hydrogène.
<b>HOCL</b>	: Acide hypochloreux.
<b>NADPH</b>	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Hydrogène.
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	: Peroxynitrite.
<b>AGPI</b>	: Acide Gras Polyinsaturés.
<b>HOO<sup>•</sup></b>	: RadicalHydroperoxyde.
<b>ONOOH</b>	: Acide Peroxynitreux.
<b>LDL</b>	: Low Density Lipoprotein.
<b>DNPH</b>	: Dinitrophénylhydrazine.
<b>LPO</b>	: lipopéroxydation.
<b>MDA</b>	: Malondialdehyde.
<b>SOD</b>	: Superoxyde Dismutase.
<b>GPX</b>	: Glutathion Peroxydases.
<b>GSH</b>	: Glutathion.

<b>GSSG</b>	: Glutathion-Disulfure.
<b>GR</b>	: Glutathion réductase.
<b>PMT</b>	: Peroxydation Médiée par le Tocophérol.
<b><math>\alpha</math>-T</b>	: $\alpha$ -Tocophérol.
<b>VLDL</b>	: Very Low Density Lipoprotein.
<b><math>\alpha</math>-TTP</b>	: $\alpha$ -Tocopherol Transfert Protein.
<b>PLTP</b>	: Phospholipid Transfer Protein.
<b>HDL</b>	: High Density Lipoprotein.
<b>CEHC</b>	: Carboxyethyl Hydroxy-Chromanes.
<b><math>\alpha</math>-T<sup>•</sup></b>	: $\alpha$ - Tocophéroxyle.
<b>RS</b>	: Régime standard.
<b>RSE500</b>	: Régime standard supplémenté en 500 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'alimen.
<b>RSE600</b>	: Régime standard supplémenté en 600 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'aliment.
<b>RSE650</b>	: Régime standard supplémenté en 650 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'aliment.
<b>RSE700</b>	: Régime standard supplémenté en 700 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'aliment.
<b>RSE750</b>	: Régime standard supplémenté en 750 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'aliment.
<b>RSE800</b>	: Régime standard supplémenté en 800 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'aliment.
<b>RSE850</b>	: Régime standard supplémenté en 850 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'aliment.
<b>RSE900</b>	: Régime standard supplémenté en 900 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'aliment.
<b>RSE950</b>	: Régime standard supplémenté en 950 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'aliment.
<b>RSE1000</b>	: Régime standard supplémenté en 1000 mg d' $\alpha$ -tocophérol / Kg d'aliment.
<b>ONAB</b>	: Office National des Aliments de Bétail.

## ***Glossaire***

**Athérosclérose** : L'athérosclérose est une pathologie artérielle, inflammatoire chronique liée à l'interaction entre les lipoprotéines modifiées, les cellules inflammatoires, macrophages et les éléments cellulaires de la paroi artérielle. Cette inflammation chronique conduit à un processus réactionnel cicatriciel de la paroi artérielle impliquant les cellules musculaires lisses et la production de matrice extracellulaire (**Bonnet, 2005**).

**Cataracte** : représente la première cause de l'handicap visuel dans le monde, il s'agit d'une opacification totale ou partielle du cristallin (lentille convergente naturelle de l'œil), Cette opacification, généralement bilatérale est responsable d'un déficit visuel plus ou moins important (**Lawani et al., 2007**).

**Cytochrome c oxydase** : élément terminal de la chaîne respiratoire, il s'agit d'une enzyme à plusieurs sous-unités, contenant deux hèmes et deux atomes de cuivre. La protéine recouvre la membrane interne des mitochondries et existe sous forme de complexe dimérique (**Vik et Capaldi, 1977**).

**Ataxie** : est un trouble de la coordination des mouvements volontaire souvent du à une atteinte du système nerveux, lieu de cette coordination. Cette pathologie ne concerne pas les muscles et la force musculaire est donc conservée. Ces troubles peuvent apparaitre debout, à la marche ou lors d'exécution d'un mouvement (**Nicole, 1999**).

**Fibrose kystique** :est une maladie génétique qui touche principalement les fonctions respiratoires et digestives, cette maladie était caractérisée par une malabsorption des graisses et des protéines, un retard de croissance et une infection pulmonaire (**Davis, 2006**).

**Les cellules mésangiales** : sont des cellules contractiles qui constituent la tige centrale du glomérule. Les cellules mésangiales sont en effet considérées comme des péricytes spécialisés et sont donc essentielles pour stabiliser la fonction endothéliale glomérulaire (**Heerspink et al., 2015**).

**L'ischémie reperfusion** : est une séquence incontournable en transplantation d'organe. Elle est à l'origine de processus physiopathologiques qui vont finalement agir de manière synergique et contribuer aux lésions du greffon. Ces lésions sont responsables de dysfonctionnements précoces et tardifs pouvant réduire la durée de vie du greffon (**Favreau et al., 2013**).

## *Liste des figures*

<b>Figure 01</b> : Les différents sources de stress oxydant (Holmström et Finkel, 2014).....	8
<b>Figure 02</b> : les différentes étapes de la peroxydation lipidique(Durand et <i>al.</i> , 2013).....	11
<b>Figure 03</b> : Oxydation d'ADN(Gill et Tuteja, 2010).....	12
<b>Figure 04</b> : Les pathologies associées aux stress oxydatif(Lee et <i>al.</i> , 2004).....	14
<b>Figure 05</b> : Mécanisme de défense antioxydants (Leverve, 2009).....	19
<b>Figure 06</b> : Structures chimiques des tocophérols et tocotriénol (Landrier, 2011).....	22
<b>Figure 07</b> : Les principales étapes de la biosynthèse de la vitamine E(Cuvelier et <i>al.</i> , 2003).. .....	23
<b>Figure 08</b> : Métabolisme de l' $\alpha$ -tocophérol(Azzi et Stocker, 2000).....	24
<b>Figure 09</b> : Inhibition de la peroxydation lipidique par l' $\alpha$ -tocophérol(Niki et Traber, 2012) .....	26
<b>Figure 10</b> : L' $\alpha$ -tocophérol médiateur de la peroxydation lipidique(Stocker, 1999).....	28
<b>Figure 11</b> : Expérimentation animal .....	29
<b>Figure 12</b> : aliment fourni aux rats sous forme de poudre.....	30
<b>Figure 13</b> : vitamine E commerciale .....	30
<b>Figure 14</b> : Automate de traitement des tissus .....	33
<b>Figure 15</b> : Module de refroidissement des blocs de paraffine.....	33
<b>Figure 16</b> : Effets de la supplémentation d'un régime standard en $\alpha$ -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg/kg d'aliments) sur le taux d'évolution du poids corporel des rats. Chaque barre représente le taux d'évolution $\pm$ écart type. (*p <0.05, *** p <0.0001, a : comparaison avec le lot RS).....	40
<b>Figure 17</b> : Effets de la supplémentation de l' $\alpha$ -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950,1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment) sur le poids du tissu rénale chez les rats. Chaque barre représente la moyenne $\pm$ SE.....	43
<b>Figure (18, a,b,c,d,e,f)</b> : Micrographies du cortex rénale (10 $\times$ , H&E) montrant : une architecture normale chez le lot témoin (a), et chez les lots RSE <sub>500</sub> (b), RSE <sub>600</sub> (c), RSE <sub>650</sub> (d), RSE <sub>700</sub> (e), RSE <sub>750</sub> (f) avec : (G : Glomérules, TCP : tube contourné proximale, TCD : tube contourné distal, EB : espace de Bowman).....	44

**Figure 19 (a et b) :** Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>800</sub>, montrant la présence de légère congestions vasculaire, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E). AG : atrophie glomérulaire, CGV : congestion vasculaire, RLT : réduction de la lumière tubulaire.....47

**Figure 20 (a et b).** Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>850</sub>, montrant la présence de légère congestion vasculaire, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E). CGV : congestion vasculaire, AG : atrophie glomérulaire.....47

**Figure 21 (a, b et c).** Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>900</sub>, montrant la présence de légère congestion vasculaire avec dilatation tubulaire, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E), (c) : (40×, H&E). CGV : Congestion vasculaire, AG : atrophie glomérulaire, DT : dilatation tubulaire, IL : infiltrat lymphocytaire.....48

**Figure 22 (a et b).** Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>950</sub>, montrant la présence de légère congestion vasculaire, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E). CGV : congestion vasculaire, AG : atrophie glomérulaire, TCA: tubes contournés altérés.....48

**Figure 23 (a et b).**Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>1000</sub>, montrant la présence de congestion vasculaire importante, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E). CGV : congestion vasculaire, AG : atrophie glomérulaire, TCA: tubes contournés altérés, EG : ectasie glomérulaire, IL : infiltrat lymphocytaire.....49

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> les différentes espèces radicalaire et non radicalaire(Rahman et <i>al.</i> , 2012).....	4
<b>Tableau II</b> : Répartition des lots et préparation des régimes.....	31
<b>Tableau III:</b> Gamme étalon réalisée à partir de la solution BSA.....	36
<b>Tableau IV</b> :Les différentes étapes de dosage de la CAT(Aebi, 1984).....	37

# Table des matières

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Partie I : Etude bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : stress oxydatif</b> .....	3
I.1.Généralités .....	3
I.2.Origine de stress oxydant .....	3
I.3.Les radicaux libres.....	3
I.3.1. Paradoxe des radicaux libres .....	4
I.3.2. Les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote .....	4
I.3.2.1. Les espèces radicalaires.....	5
I.3.2.2. Les espèces non radicalaires .....	7
I.4. Les principales sources d'espèces réactives de l'oxygène .....	8
I.4.1. Sources endogènes .....	8
I.4.2. Sources exogènes.....	9
I.5. Principales cibles biologiques des espèces réactifs d'oxygène.....	9
I.5.1. Les lipides membranaires.....	10
I.5.2. Les protéines.....	11
I.5.3. L'ADN .....	12
I.5.4. Les lipoprotéines.....	12
I.5.5. L'ARN.....	13
I.5.6. Les glucides .....	13
I.6. Conséquences cellulaires du stress oxydant .....	13
I.7. Rôles des Espèces réactives de l'oxygène.....	13
I.7.1. Rôles physiologique .....	14
I.7.2. Rôle pathologique .....	14
<b>Chapitre II : les antioxydants</b> .....	15
II.1. Généralités.....	15
II.2.Les antioxydants.....	15

II.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	15
II.2.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	16
II.2.2.1. Les antioxydants non enzymatiques endogène.....	17
II.2.2.2. Les antioxydants non enzymatique exogène.....	18
<b>Chapitre III : Vitamine E.....</b>	<b>21</b>
III.1. Historique.....	21
III.2. Définition.....	21
III.3. Structure.....	21
III.4. Biosynthèse.....	22
III.5. Digestion, absorption et métabolisme.....	23
III.6. Sources.....	24
III.7. Régénération.....	24
III.8. Fonction antioxydante de la vitamine E.....	25
III.9. Fonctions prooxydants de la vitamine E.....	27
<b>Partie II : Etude expérimentale</b>	
<b>Chapitre I : Matériel et méthodes.....</b>	<b>29</b>
I.1. Matériel.....	29
I.1.1. Matériel biologique.....	29
I.1.1.1. Supplémentation de la vitamine E.....	30
I.1.1.2. Sacrifice et prélèvement des reins.....	31
I.1.2. Matériel non biologique.....	32
I.2. Méthodes.....	32
I.2.1. Etude histologique.....	32
I.2.2. Dosage des protéines.....	35
I.2.3. Dosage du malondialdéhyde.....	36
I.2.4. Dosage de la catalase.....	37
I.2.5. Etude statistique.....	38
<b>Chapitre II : Résultats et discussion.....</b>	<b>39</b>
II.1. Modifications physiologiques.....	39
II.1.1. Symptomatologie.....	39



II.1.2. Effets de la supplémentation d'un régime en doses croissantes d' $\alpha$ -T sur les paramètres pondéraux de rats de souche wistar.....	39
II.3. Effets de la supplémentation en $\alpha$ -tocophérol à différentes doses 500,600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment sur l'histologie du tissu rénal.....	44
II.3.1. Effets de la supplémentation en $\alpha$ -tocophérol aux doses allant de 500-750 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment.....	44
II.3.2. Effets de la supplémentation en $\alpha$ -tocophérol aux doses allant de 800-1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment.....	46
II.2. Effets de la supplémentation du régime standard en doses croissantes d' $\alpha$ -tocophérol sur quelques paramètres du stress oxydatif.....	50
II.2.1. Effets de différentes doses d' $\alpha$ -tocophérol (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment) sur la teneur en protéines, sur l'activité de la catalase et le taux en malonaldehyde au niveau du tissu rénale.....	50
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>55</b>

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

# Introduction

# Introduction

---

L'oxygène, apparu voici trois milliards d'années dans l'atmosphère terrestre, est une molécule indispensable à la vie. Comme source d'énergie, les organismes dits aérobies utilisent des réactions d'oxydo-réduction (chimiotrophes) reposant sur des interactions entre donneurs d'électrons (réducteurs) et des accepteurs d'électrons (oxydants) ; l'oxygène, en tant que récepteur final d'électrons dans l'organisme, se transforme en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est importante puisqu'elle est associée avec la production de 38 molécules d'adénosine triphosphate (ATP) à haut potentiel énergétique.

Le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est toutefois pas parfait car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (ERO) particulièrement réactionnelles, dans une première étape, le radical libre anion superoxyde est formé, ce qui conduit par la suite à la production d'autres ERO comme le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, le radical hydroxyle, l'acide hypochloreux, des dérivés nitrés ... (**Pincemail et al.,2002**). Ces composés chimiquement instables sont porteurs d'électrons libres qui réagissent avec d'autres molécules, les déstabilisant à leur tour, et induisent ainsi une réaction en chaîne (**Menvielle-Bourg, 2005**).

En effet, le métabolisme de l'oxygène, lorsqu'il est dérégulé, peut entraîner de part ce que l'on appelle « le stress oxydant » qui représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des ERO (**Koechlin Ramonatxo,2006**), qui provoquent notamment des dommages sur l'ADN, les protéines cellulaires essentielles et les lipides membranaires, pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire (**Joanny Menvielle-Bourg,2005**). Le stress oxydatif est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus notamment l'altération de la fonction rénale entraînant à la fois l'augmentation des marqueurs du stress oxydant et la diminution de la défense antioxydant (**Tbahriti et al., 2014**).

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses, dont des enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) mais également un apport exogène en vitamines (essentiellement la vitamine E) pour amplifier ses défenses. Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où il joue un rôle

## Introduction

---

protecteur empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (**Haleng et al., 2007**), cependant, l'effet pro-oxydant de la vitamine E consiste à augmenter la peroxydation lipidique, ce processus est bien connu *in vitro* (**Bowry et al., 1992**). Des études sur des suspensions micellaires (**Mukai, 1993**) ont montré que de fortes doses en vitamine E avaient un effet pro-oxydant. La cause de cette activité pro-oxydante est l'interaction du radical tocophéroxyde avec des radicaux peroxydes ou avec des AGPI dans les lipoprotéines à faible densité (LDL). Cette réaction mène à l'accumulation des hydroperoxydes et des diènes conjugués.

C'est de là que s'insère notre étude qui a pour objectif de montrer l'effet toxique de la vitamine E ( $\alpha$ -T) à forte doses et ceci en dosant quelques paramètres du stress oxydatif (activité de la catalase, le taux en MDA et la teneur en protéines), ainsi que de réaliser l'histologie du tissu rénal afin de déceler les altérations possibles et ceci chez des rats wistar soumis pendant 12 semaines à un régime équilibré et supplémenter en différentes doses d' $\alpha$ -tocophérol.

# Etude bibliographique

### I.1. Généralités

En 1997, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives de l'oxygène (ERO). C'est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène de radicaux libres (RL) oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydants (**Favier, 2006**).

En santé, les RL et les antioxydants restent en état d'équilibre, mais dans des conditions de stress oxydatif, il existe un nombre plus important d'ERO et d'espèces réactive de l'azote (ERN) que d'antioxydant (**Olorunnisola et al., 2019**), ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec une perturbation des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation. Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les ERO et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants (**Sergent et al., 2001**).

### I.2. Origines de stress oxydant

Selon Edeas (**2009**), les origines du stress oxydant sont diverses: inflammation, cytokines (TNF $\alpha$ , interleukine-6,) fer (pro-oxydant), hyperthermie, médicaments...

Le stress oxydatif peut résulter également d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale (ischémie–reperfusion, vieillissement), d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines,...). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (**Pincemail et al., 2002**).

### I.3. Les radicaux libres

Les RL sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non apparié sur leur couche externe. Ce sont des espèces chimiques, qui peuvent être formées par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radicalaire. Ils peuvent aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle, chaque

atome conserve un électron et devient un RL (**Haliwell et Gutteridge, 1989**) ; ce sont des espèces chimiques instables, très réactives, et possèdent un temps de demi vie extrêmement court ( $10^{-6}$ ,  $10^{-9}$  S) (**Tessier et Marconnet, 1995**).

### I.3.1. Paradoxe des radicaux libres

Selon Favier (**2003**), les RL participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule et à la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes.

### I.3.2. Les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote

Les ERO sont des molécules chimiquement réactives produites par les organismes vivants en raison du métabolisme cellulaire normal, à des concentrations faibles à modérées, ils fonctionnent dans les processus cellulaires physiologiques (**Al-Dalaen et Al-Qtaitat, 2014**)

Les RL les plus importants produits lors des réactions métaboliques sont les ERO et les ERN qui peuvent tous deux être classés en deux groupes de composés, à savoir les espèces radicalaires et les non radicalaires (**Phaniendra et al, 2014**) (tableau I).

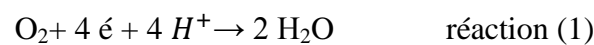
**Tableau I** : Les différentes espèces radicalaires et non radicalaires

Espèces radicalaires	Espèces non radicalaires
Superoxyde $O_2^{\bullet -}$	Peroxyde d'hydrogène $H_2O_2$
Hydroxyle $OH^{\bullet}$	Acide hypochloreux $HOCl$
Peroxyl $ROO^{\bullet}$	Oxygène singulet $^1O_2$
Alcoxyl $RO^{\bullet}$	Peroxynitrite $ONOO^-$
Oxyde nitrique $NO^{\bullet}$	

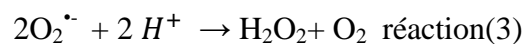
(**Rahman et al., 2012**).

**I.3.2.1. Les espèces radicalaires****A. L'anion superoxyde**

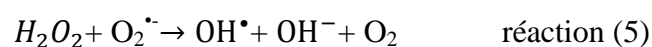
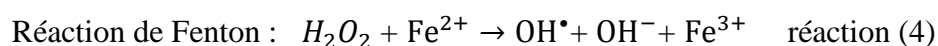
La majeure partie de l'oxygène subit une réduction tétravalente (addition de quatre électrons) conduisant à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par la cytochrome c oxydase (réaction 1), accepteur terminal d'électrons au niveau de la mitochondrie. Toutefois, environ 2 % de l'oxygène subit une réduction mono-électronique (addition d'un seul électron) conduisant à la formation du  $O_2^{\bullet -}$  au niveau de l'ubiquinone (réaction 2) (**Gilbert et al., 2013**).



L' $O_2^{\bullet -}$  constitue la première forme radicalaire capable d'agresser les composantes cellulaires et matricielles (**Afonso et al., 2007**), produit principalement par les cellules phagocytaires (neutrophiles, monocytes, macrophages, éosinophiles) (**Goudable et Favier, 1997**). Cet anion est chargé négativement et sa demi-vie longue comparée aux autres ERO est contre balancée par le fait que les membranes biologiques lui sont relativement imperméables, il reste ainsi moyennement dangereux, Il peut conduire à la formation d' $H_2O_2$  par la réaction (3) (**Powers et Jackson, 2008**) :

**B. Le radical Hydroxyle**

Les métaux de transition, comme le fer ou le cuivre, sous leur forme la moins oxydée ( $Fe^{2+}$ ,  $Cu^+$ ) peuvent, en réagissant avec le  $H_2O_2$ , conduire à la formation du radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ) très agressif pour les structures cellulaires (réaction 4), le  $OH^{\bullet}$  peut aussi être formé au cours de la réaction non enzymatique d'Haber-Weiss (réaction 5) (**Haliwell et Gutteridge, 1989**).

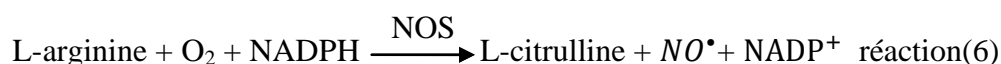




Le  $OH^\bullet$  est l'oxydant le plus puissant des ERO avec une vitesse de réactivité élevée, ne possède pas de cibles privilégiées et a une très faible durée de vie ( $10^{-10}$ S) (**Migdal et al., 2011**), il peut initier une peroxydation lipidique qui pourra continuer en chaîne. C'est le radical le plus dangereux pour l'organisme (**Goudable et Favier, 1997**).

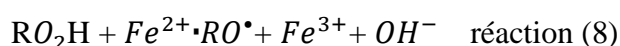
### C. Le monoxyde d'azote ou l'oxyde nitrique

L'oxyde nitrique ( $NO^\bullet$ ), molécule gazeuse hautement diffusible, est présent dans tous les types de cellules (**Massion et al., 2002**), il est synthétisé à partir de l'acide aminé L-arginine par de nombreux types de cellules. La synthèse se produit par le biais de NO-synthases (NOS) de trois types principaux: NOS neuronal (nNOS), NOS endothélial (eNOS), NOS inducible (iNOS) produite dans des conditions inflammatoires, les NO-synthases convertissent la L-arginine en NO et en L-citrulline en utilisant le NADPH. C'est un agent réducteur faible, réagit avec l'oxygène pour former du dioxyde d'azote et réagit très rapidement avec le superoxyde pour produire du peroxynitrite (**Powers et al., 2008**), (réaction 6) (**Phaniendra et al., 2014**). Ce radical est connu pour jouer des rôles fonctionnels importants dans une variété de systèmes physiologiques (**Piechota-Polanczyk et Fichna, 2014**).



### D. Radicaux peroxydes et alcoxydes

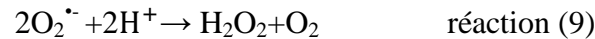
Les radicaux alcoxydes ( $RO^\bullet$ ) et peroxydes ( $ROO^\bullet$ ) sont des radicaux organiques formés à partir des réactions de peroxydation lipidique. Ils ne sont pas stables, et réagissent donc facilement avec l'oxygène moléculaire, créant ainsi un radical d'acide gras  $ROO$  ou  $RO$ . Les nouveaux radicaux sont également instables et peuvent réagir avec d'autres molécules d'acides gras libres, produisant plus de radicaux d'acides gras et de  $H_2O_2$  (**Mandelker, 2008**). (réaction 7 et 8) (**Migdal et Serres, 2011**).



### I.3.2.2. Les espèces non radicalaires

#### A. Peroxyde d'hydrogène

Selon Das et Roychoudhury, (2014), le  $H_2O_2$  est produit en grande partie à partir du  $O_2^{\bullet-}$  en présence de SOD qui catalyse la réaction (9)



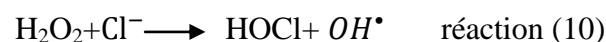
Le  $H_2O_2$  est un produit plus stable que les  $O_2^{\bullet-}$ , c'est pourquoi il diffuse très facilement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. C'est un oxydant très puissant capable d'accepter deux électrons supplémentaires. Il est potentiellement toxique pour la cellule et il est utilisé par la myéloperoxydase pour produire de l'hypochlorite qui permet de tuer les micro-organismes pathogènes (Goudable et Favie, 1997).

#### B. L'oxygène singulet

L'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) correspond à une forme excitée de l'oxygène hautement réactif. Il est également formé *in vivo* par l'activation des neutrophiles, des éosinophiles et par certaines d'autres réactions enzymatiques catalysées par des enzymes, telles que les lipoxygénases, les dioxygénases et la lactoperoxydase. C'est un agent oxydant très puissant qui peut causer des dommages à l'ADN et aux tissus (Phaniendra et al., 2014).

#### C. L'acide hypochloreux

L'acide hypochloreux (HOCl) est formé par l'action de la myéloperoxydase à l'aide d' $H_2O_2$  (réaction 10). Il est principalement produit par les neutrophiles et peut endommager diverses biomolécules en oxydant les thiols, les lipides, l'ascorbate et le NADPH. Il peut traverser les membranes cellulaires et provoquer la fragmentation et l'agrégation des protéines (Powers et Jackson, 2008).



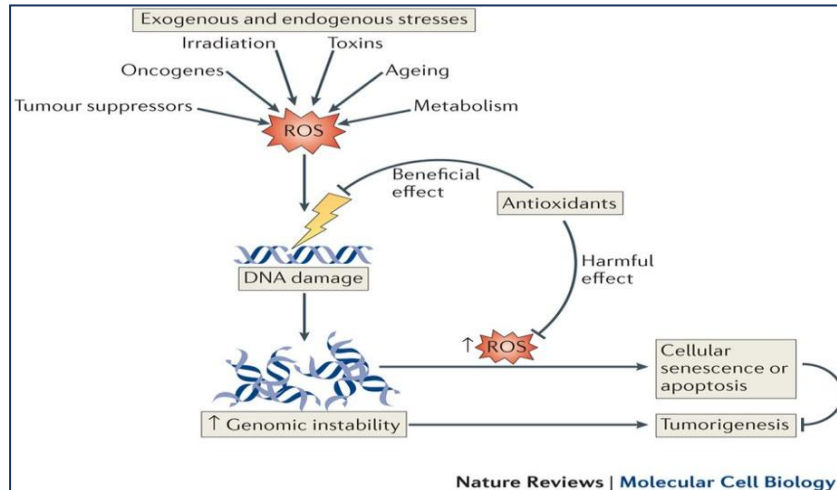
#### D. Peroxynitrite

Le peroxynitrite ( $ONOO^-$ ) est un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques. Il est formé par la réaction entre  $O_2^{\bullet-}$  et  $NO^{\bullet}$  (Haleng et al., 2007). C'est un agent réactif qui peut causer la fragmentation de l'ADN et l'oxydation des lipides. Il est produit dans les cellules contenant des enzymes NOS, telles que les cellules

musculaires lisses et endothéliales et, en particulier lors de la réponse inflammatoire (Piechota-Polanczyk et Fichna, 2014).

#### I.4. Les principales sources d'espèces réactives de l'oxygène

Il existe différents sources d'ERO qui sont soit endogène soit exogène (figure 01) :



**Figure 01** : Les différents sources de stress oxydant (Holmström et Finkel, 2014).

##### I.4.1. Sources endogènes

- Les ERO sont produits à partir de l'activation de l'oxygène moléculaire, intracellulaire à travers de multiples mécanismes, en raison du métabolisme cellulaire normal. Leurs principales sources sont les mitochondries, les peroxysomes, le réticulum endoplasmique et le complexe NADPH oxydase (NOX) dans les membranes cellulaires (Al-Dalaen et Al-Qtaitat, 2014).
- Les membranes mitochondriales contiennent les complexes enzymatiques (complexes I, II, III et IV) et les porteurs d'électrons (coenzyme Q et cytochrome c de la chaîne de transport d'électrons qui jouent un rôle important dans la production d'ATP). Les complexes I, II et III sont des sources de  $O_2^{\cdot-}$  et d'autres ERO, principalement  $OH^{\cdot}$ ,  $NO^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$  et  $ONOO^-$  (Al-Gubory, 2014).
- L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé « explosion oxydative » consistant en l'activation du complexe de la NADPH

oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d' $O_2^{\cdot-}$  au niveau de la membrane cellulaire (**Favier, 2003**).

- La xanthine oxydase (XO) qui entraîne la formation d' $O_2^{\cdot-}$  par la réduction de l' $O_2$  (**Beaudeau et al., 2006**).
- Les cellules phagocytaires sont une autre source importante d'oxydants, elles libèrent des produits toxiques, qui incluent le  $NO^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$  et l' $O_2^{\cdot-}$  (**Baskaran et al., 2017**).
- Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalyse une série de réaction pour détoxifier les molécules liposoluble et d'autre produit métabolique toxique (**Turrens et al., 1982**). La plus connu de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotique, produisant ainsi des ERO (**Morel et Barouki, 1999**).
- Les peroxysomes contenant des enzymes telles que, glycolate oxydase, d-amino acide oxydase, urate oxydase, 1- $\alpha$  hydroxyacide oxydase, acyl gras CoA oxydase sont impliqués dans la production de  $H_2O_2$  (**Noori, 2012**). La catalase peroxysomale utilise le  $H_2O_2$  pour oxyder une grande variété de substrats, au cours de réactions de peroxydation (**Beaudeau et al., 2006**).

#### I.4.2. Sources exogènes

Les ERO peuvent être produites par des processus exogènes. Les sources environnementales comprennent les rayonnements ionisants, et les polluants comme les produits chimiques qui favorisent la formation des superoxydes tels que les quinones, les nitroaromatiques et les herbicides (par exemple le paraquat). La fumée de cigarette contient des composés organiques et de nombreux radicaux, comme l' $O_2^{\cdot-}$  et le  $NO^{\cdot}$ . Les ions de métaux lourds, tels que le fer, le cuivre, le cadmium, mercure, peuvent induire la génération de radicaux réactifs et provoquent des lésions cellulaires (**Birben et al., 2012**).

#### I.5. Principales cibles biologiques des ERO

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

### I.5.1. Les lipides membranaires

La lipopéroxydation (LPO) est un ensemble des phénomènes d'oxydation non enzymatique non spécifiques des lipides, ce mécanisme cible les constituants membranaires, principalement les acides gras polyinsaturés (-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH=CH-), les lipides circulants (lipoprotéines), et le cholestérol non estérifié (**Bensakhria, 2015**).

La LPO se décompose en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (**Michel et al., 2008**) (figure 02).

- **Initiation** : est l'abstraction d'un atome d'hydrogène de l'acide gras situé sur un carbone placé entre deux doubles liaisons (liaison hydrogène-carbone plus faible), ce qui conduit à la formation d'un radical alkyle. Les radicaux qui vont initier la peroxydation des AGPI sont principalement les  $OH^\bullet$  et hydroperoxydes ( $HOO^\bullet$ ) ainsi que les radicaux lipidiques tels que les  $RO^\bullet$  et  $ROO^\bullet$  (**Cillard et Cillard, 2006**).

- **Propagation** : au cours de cette phase le radical diényle se combine avec l'oxygène pour former un radical  $ROO^\bullet$ . 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 (**Durand et al., 2013**).

- **Terminaison** : la réaction radicalaire peut s'arrêter si deux radicaux identiques ( $ROO^\bullet$ ) réagissent entre eux pour donner une molécule de peroxyde  $ROOR$  et une molécule d'oxygène, ou si un autre radical  $OH^\bullet$  et un radical  $ROO^\bullet$  réagissent entre eux pour donner un peroxyde ( $ROOR$ ) et une molécule d' $O_2$ , ces réactions entraînent obligatoirement une modification de la structure lipidique membranaire (**Pasquier, 1995**).

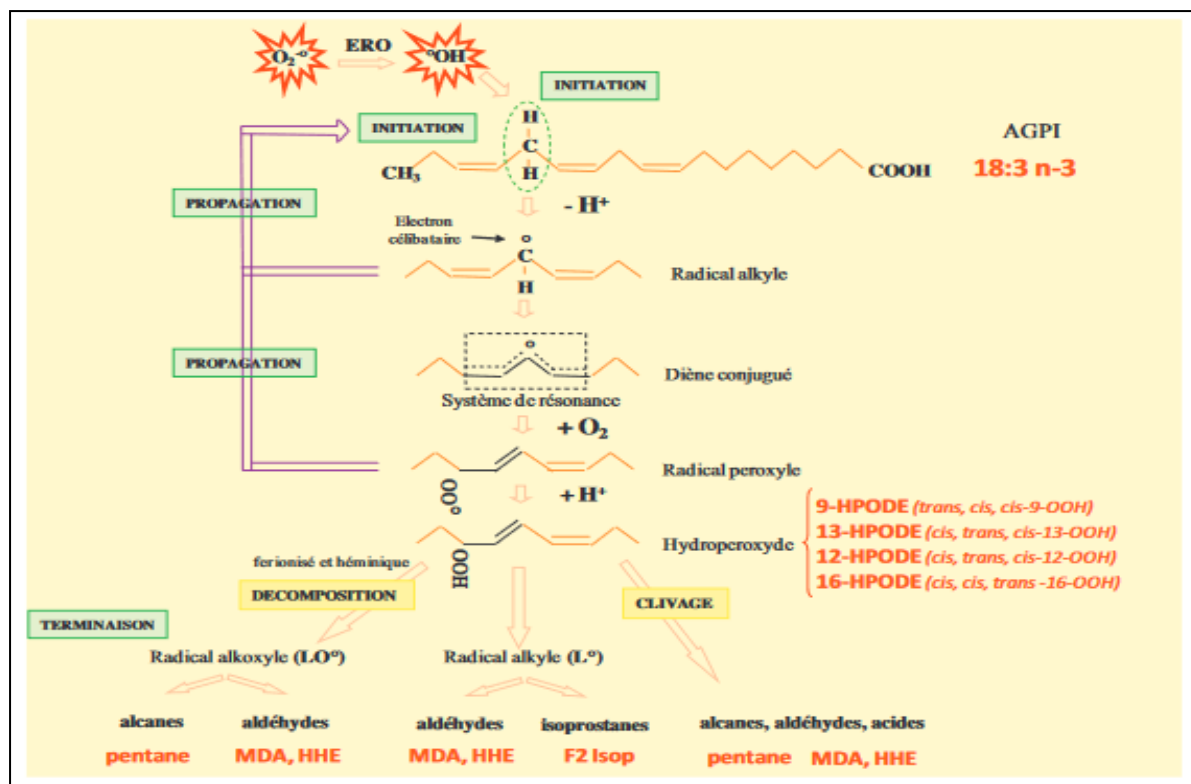


Figure 02 : les différentes étapes de la peroxydation lipidique (Durand et al., 2013).

### I.5.2. Les protéines

Les RL produits au cours du stress oxydant peuvent modifier la chaîne polypeptidique et générer des protéines carbonylées, ces derniers peuvent aussi être formés par oxydation de la chaîne latérale de plusieurs acides aminés comme la lysine, l'arginine et la proline (Therond, 2006).

L'altération des protéines est plus complexe que les lipides vue la diversité des acides aminés dont les plus sensibles sont les acides aminés soufrés, aromatiques et basiques (Halliwell et Gutteridge, 2015).

L'oxydation des acides aminés soufrés au niveau du groupement thiol (SH) conduit à la formation des ponts disulfures qui participent à l'agrégation des protéines (Durand et al., 2013), alors que l'oxydation des acides aminés aromatiques donne lieu à des modifications irréversibles et peuvent ainsi inactiver de nombreuses protéines ce qui conduit finalement à une perte de fonction (Therond, 2006).

### I.5.3. L'ADN

Les ERO peuvent causer des dégâts oxydatifs à l'ADN nucléaire. L'attaque sur l'ADN aboutit à l'oxydation du désoxyribose (Sharma *et al.*, 2012). Le  $OH^\bullet$  et  $^1O_2$  sont les principaux ERO affectant directement l'ADN. (Avery, 2011). La guanine, par exemple, peut réagir avec  $OH^\bullet$  pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (Haleng *et al.*, 2007) (figure 04).

Le  $NO^\bullet$  peut former de l'acide peroxynitreux (ONOOH), du nitrosoperoxy carbonate ( $ONO_2CO_2^-$ ) ou du trioxyde d'azote ( $N_2O_3$ ). Ces espèces réactives sont capables de réagir directement avec l'ADN en formant des dérivés nucléosidiques nitrés, le plus abondant d'entre eux étant le 8-nitro-désoxyguanosine (8-nitro-dG) (Therond, 2006).

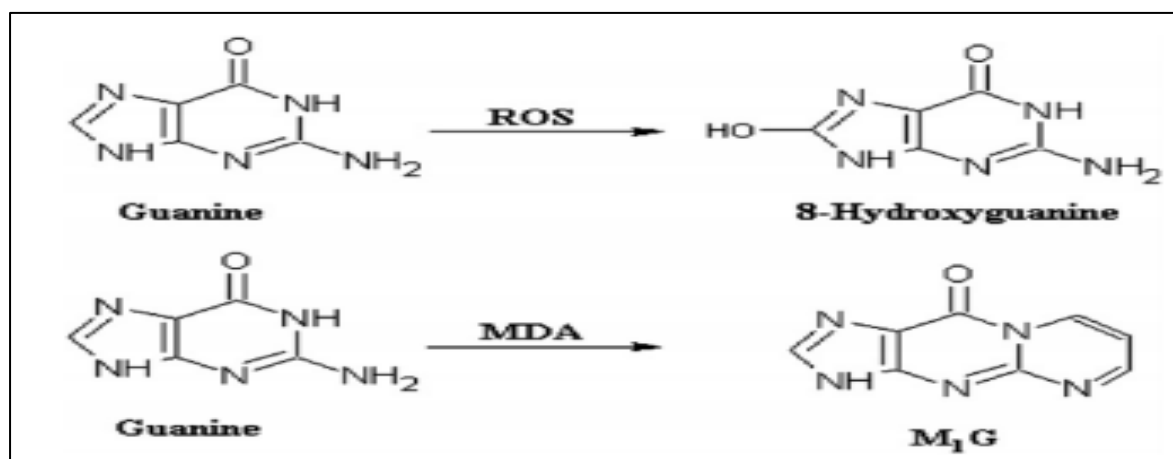


Figure 03 : Oxydation d'ADN (Gill et Tuteja, 2010).

### I.5.4. Les lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose). En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro inflammatoires par les macrophages (Haleng *et al.*, 2007).

### I.5.5. L'ARN

L'ARN est plus exposé aux dommages oxydatifs que l'ADN, en raison de sa nature simple brin, l'absence d'un mécanisme de réparation active pour l'ARN oxydé, et moins de protection par les protéines que l'ADN (**Phaniendra et al., 2014**). Il est prouvé que l'ARN oxydé cause des erreurs dans la traduction, menant finalement à la production de protéines anormales. Ces protéines peuvent être responsables de la présence de maladies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer (**Nie et al., 2013**).

### I.5.6. Les glucides

Le  $\text{OH}^{\bullet}$  est capable de couper les molécules de sucres (désoxyribose, mannose, glucose) et de susciter ainsi des liaisons entre sucres et protéines provoquant des épaisissements membranaires. La cataracte diabétique serait une conséquence de cette liaison. Les RL de l'oxygène provoquent aussi une fragmentation des polymères de glucides comme l'acide hyaluronique (**Pasquier, 1995**).

## I.6. Conséquences cellulaires du stress oxydant

Selon Favier (**2006**), les conséquences du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane entraînant des lyses immédiates. D'autres perturbations biologiques sont observées à la suite d'un stress oxydant : baisse de la fluidité des membranes, anomalies de récepteurs, diminution de la sensibilité à l'insuline, perturbation de l'immunité cellulaire, fibrose, dépôts de lipides, affaiblissement musculaire, voire mort neuronale ou apparition de mutations. De nombreuses anomalies pathologiques sont également induites par le stress oxydant : mutations, carcinogénèse, malformations des fœtus, dépôts de protéines anormales, formation d'auto-anticorps, dépôts de lipides oxydés, immunosuppression...

## I.7. Rôles des Espèces réactives de l'oxygène

Le rôle des ERO est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration

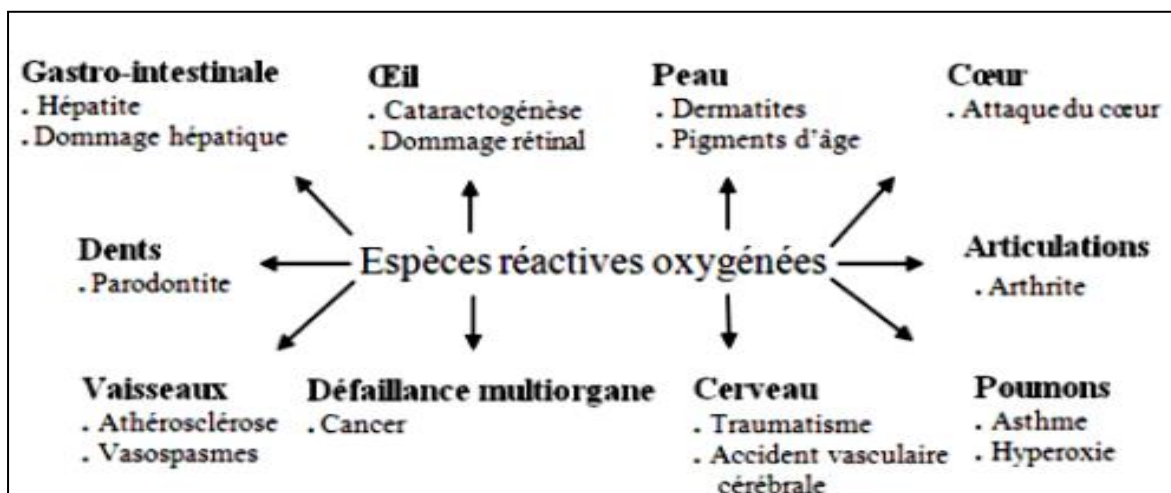


### I.7.1. Rôles physiologique :

Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires (**Haleng et al., 2007**), régulant plusieurs processus physiologiques moléculaires cellulaires et tissulaires. Elles participent dans la défense antibactérienne au cours des réactions de cytotoxicité face aux agents pathogènes, la destruction par apoptose des cellules tumorales, la transduction de signaux cellulaires, la régulation des gènes par un phénomène appelé contrôle redox des gènes, la modulation du métabolisme cellulaire par interaction ligand – récepteur, le développement embryonnaire, la croissance, la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire (**Bensakhria, 2014**).

### I.7.2. Rôle pathologique

Dans les systèmes vivants, bien que la production des ERO soit physiologique, elle peut être aussi accidentelle et anormale, ce qui la rend dommageable si elle n'est pas neutralisée (**Berger, 2006**). Formés en trop grande quantité, les ERO deviennent «pathologiques» en activant l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion. En outre, leur nature instable les rend très réactifs vis-à-vis de substrats biologiques et capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies. (**Haleng et al., 2007**) (figure 05).



**Figure 04** : Les pathologies associées aux stress oxydatif (**Lee et al., 2004**).

## II.1. Généralités :

Un antioxydant biologique est toute substance présente à de faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable et retarde ou empêche considérablement l'oxydation de ce substrat. Un antioxydant idéal devrait être facilement absorbé par l'organisme et devrait prévenir ou éteindre la formation de radicaux libres ou les métaux redox chélatés à des niveaux physiologiquement pertinents, Il devrait fonctionner dans les domaines aqueux et/ou membranaires (**Poljsak et al., 2013**). Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité anti-oxydante : les enzymes anti-oxydantes (SOD, GPX, CAT...) et les composés antioxydants d'origine exogène c'est-à-dire alimentaire (les vitamines A, C et E, les caroténoïdes, les polyphénols, certains minéraux et oligoéléments comme le magnésium, le zinc, le sélénium et le manganèse). Ces systèmes antioxydants interviennent en protégeant les cellules des dommages oxydatifs induits par les RL. Le principe de leur emploi pour prévenir l'apparition et le développement de certaines maladies dans lesquelles sont impliqués des phénomènes oxydatifs semble séduisant (**Pastre et Priymenko, 2007**).

## II.2. Les antioxydants

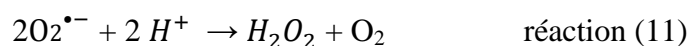
L'organisme possède deux types d'antioxydants qui sont soit enzymatiques soit non enzymatique :

### II.2.1. Les antioxydants enzymatiques

#### A. Superoxyde dismutase

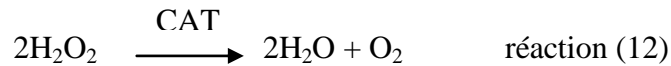
La SOD est l'une des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (**Rahman, 2007**), chez l'homme, trois isoformes compartimentées ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. La Cu/Zn-SOD ou SOD1 cytosolique, et la ECSOD ou SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, alors que la SOD2, mitochondriale, utilise le manganèse (**Afonso et al., 2007**).

Les SOD catalysent la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$  en  $H_2O_2$  (réaction 11), ainsi ils diminuent ou empêchent la disponibilité de radical  $O_2^{\bullet-}$  qui pouvant mener a la formation du radical  $OH^{\bullet}$  ou réagir avec le radical  $NO^{\bullet}$  et participe a la formation de  $ONOO^-$  (**Vamecq et al., 2004**)



### B. Catalase

Enzyme hémique ubiquitaire, peroxysomale monofonctionnel qui catalyse efficacement la conversion de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en eau et en  $\text{O}_2$  (reaction 12) (**Castaldo et al., 2014**).



La Catalase est un homotétramère avec une masse moléculaire de 240 KDa et est largement distribué dans la cellule (**Powers et Jackson, 2007**), Elles n'éliminent pas la totalité du  $\text{H}_2\text{O}_2$ , mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de  $\text{H}_2\text{O}_2$  afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (**Goudable et Favier, 1997**).

### C. Les glutathion peroxydases

La glutathion peroxydases (GPX) présente dans le cytosol cellulaire et la mitochondrie, a capacité de transformer  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$ , cette réaction utilise le GSH et le transforme en glutathion oxydé (reaction 13) (**Finaud et al., 2006**).



Il existe au moins cinq isoenzymes GPX chez les mammifères, Le GPX1 est principalement présent dans les érythrocytes, les reins et le foie, et le GPX4 est fortement exprimé dans les cellules épithéliales rénales et les testicules. Le GPX2 cytosolique et le GPX3 extracellulaire sont mal détectés dans la plupart des tissus, à l'exception du tractus gastro-intestinal et du rein, respectivement. Récemment, un nouveau membre, GPX5, exprimé spécifiquement dans l'épididyme de souris (**Matés et Sánchez-Jiménez, 1999**).

#### II.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les principaux systèmes antioxydants non enzymatiques les plus connus chez les animaux et les végétaux sont réparties en deux groupes : système antioxydant endogène et exogène :

### II.2.2.1. Les antioxydants non enzymatiques endogène

#### A. Le glutathion

Le glutathion (GSH), sous sa forme réduite, est un tripeptide ( $\gamma$ -glutamyl-cystéinyl-glycine) naturel synthétisé par les cellules et doté d'un groupement réducteur représenté par la fonction thiol de sa cystéine (**Vamecq et al., 2004**) ; le GSH a été détectée pratiquement dans tous les compartiments cellulaires tels que le cytosol, les chloroplastes, le réticulum endoplasmique, les vacuoles et les mitochondries. Le GSH joue un rôle important dans divers processus biologiques, notamment la croissance/division cellulaire, la régulation du transport des sulfates, la transduction des signaux, la conjugaison des métabolites, la régulation enzymatique, la synthèse des protéines et des acides nucléiques... Il peut réagir chimiquement avec  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$  et, par conséquent, peut fonctionner directement comme un récupérateur de RL. Le GSH peut être recyclé par la glutathion réductase (GR) en utilisant le NADPH comme cofacteur et donneur d'électrons (**Sharma et al., 2012**).

#### B. L'acide urique

L'acide urique est un produit final du métabolisme de la purine chez les humains, En effet, l'acide urique, dans le plasma et dans les muscles, est également l'un des antioxydants les plus importants avec des effets directs sur l'oxygène unique, HOCl, le radical  $OH^{\cdot}$ , le ONOO<sup>-</sup> ou l'ozone( **Finaud et al., 2006**), il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux ( $OH^{\cdot}$ ,  $ROO^{\cdot}$ ,  $NOO^{\cdot}$ ...); Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C) (**Haleng et al., 2007**).

#### C. La bilirubine

La bilirubine est considérée comme le meilleur antioxydant contre les radicaux peroxyde  $ROO^{\cdot}$  et contre l' $H_2O_2$  (**Powers et Jackson, 2008**), elle empêche la peroxydation de l'acide linoléique et désactive l' $^1O_2$  (**Kuciel-Lewandowska et al., 2020**).

#### D. Le coenzyme Q10

Le coenzyme Q10 est un composé hydrophobe et le seul antioxydant liposoluble synthétisé de manière endogène et efficace qui empêche l'oxydation des protéines, des lipides et de l'ADN (**Bentinger et al., 2010**), le coenzyme Q10 est un porteur essentiel d'électrons qui se situe dans la membrane interne mitochondriale, il diminue la peroxydation lipidique

sous sa forme réduite (ubiquinol) soit directement en brisant la chaîne ou indirectement en recyclant la vitamine E (Mandelker, 2008).

### E. Mélatonine

La mélatonine est une neurohormone qui est dérivée du tryptophane principalement dans la glande pinéale. L'une des principales fonctions de la mélatonine est la récupération des RL dans le métabolisme de l'oxygène, ce qui pourrait protéger contre les dommages causés par les RL à l'ADN, aux protéines et aux membranes. En raison de ces propriétés, il a le potentiel de jouer un rôle important dans la réduction des maladies à médiation de RL (Al-Dalaen et Al-Qtaitat, 2014).

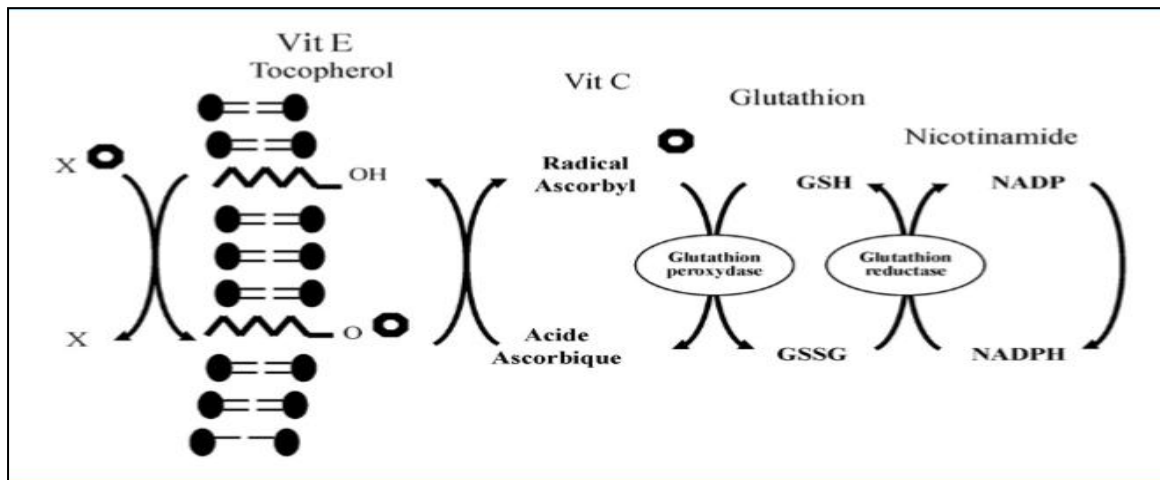
### II.2.2.2. Les antioxydants non enzymatique exogène

**A. La vitamine E :** est l'un des antioxydants les plus répandus dans la nature, ce terme désigne au moins huit isomères structuraux de tocophérols ou tocotriénols. Parmi ceux-ci, l' $\alpha$ -T qui possède l'activité la plus antioxydant (Powers et Jackson, 2008), Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en AGPI, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux ROO $\cdot$  pour former un radical tocophéryle ( $\alpha$ -T $\cdot$ ), empêchant ainsi la propagation de la LPO (Haleng et al., 2007), il possède aussi une autre action, la neutralisation de l' $^1\text{O}_2$  (Bensakhria, 2015).

**B. Les Caroténoïdes :** est le chef de file des caroténoïdes est cependant le  $\beta$ -carotène, également appelé provitamine A car, après hydrolyse hépatique, il donne naissance à deux molécules de vitamine A (Haleng et al., 2007), il a la capacité de capté l' $^1\text{O}_2$  et avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de la peroxydation lipidique. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante (Goudable et Favier, 1997).

**C. La vitamine C :** est un antioxydant mono-saccharidique présent chez les animaux et les plantes, mais ne peut être synthétisé chez les humains et doit être obtenu à partir de l'alimentation. Dans les cellules, il est maintenu sous sa forme réduite par réaction avec le GSH, l'acide ascorbique est un agent réducteur qui peut réduire et neutraliser les ERO comme le  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Kabel, 2014).

Il détruit les OH, RO<sup>•</sup> et O<sub>2</sub><sup>•-</sup> et aussi les ERN (**Pisoschi et Pop, 2015**). Il inhibe également la LPO en régénérant la vitamine E à partir de sa forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques (**Haleng et al., 2007**) (figure 05).



**Figure 05** : Mécanisme de défense antioxydants (**Leverve, 2009**).

**D. Les polyphénols** : sont des composés présents naturellement dans les fruits, les légumes, les céréales, ce sont des métabolites secondaires des plantes et peuvent contribuer à la stabilité oxydative. En tant qu'antioxydants, les polyphénols peuvent protéger les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs, ils sont capables d'accepter un électron pour former des radicaux phénoxyliques relativement stables, perturbant ainsi les réactions d'oxydation en chaîne dans les composants cellulaires et par conséquent, limiter le risque de diverses maladies dégénératives associées au stress oxydatif (**Pandey et Rizvi, 2009**). Les polyphénols sont des excellents piègeurs des ERO et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (**Haleng et al., 2007**).

### E. Les oligoéléments

#### ➤ Le zinc

Le zinc est présent dans tous les organes, tissus et fluides du corps (**Rostan et al., 2002**), son rôle dans le système de défense antioxydant a été largement étudié, il permet la régulation de la GPX, inhibe NADPH-oxydase, joue un rôle de cofacteur pour le SOD et protège les cellules contre les dommages oxydatifs et permet la stabilisation des membranes (**Marreiro et al., 2017**).

➤ **Sélénium**

Le sélénium est un oligo-élément essentiel d'une importance fondamentale en nutrition humaine. Connu depuis de nombreuses années comme un antioxydant (**Théron, 2003**), ce dernier s'est avéré être un composant essentiel de la GPX (**Tinggi, 2008**), il peut prévenir l'oxydation des lipoprotéines LDL et protéger le corps contre le stress oxydatif en inhibant les dommages de l'ADN (**Juhász né Tóth et Csapó, 2018**).

➤ **Le cuivre**

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine  $\beta$ -hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'ERO (réactions de Fenton) et peut lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant (**Haleng et al., 2007**).

### III.1. Historique

La vitamine E a été découverte en 1922 par Evans et Bishop comme facteur alimentaire nécessaire pour la reproduction chez le rat (Traber et Atkinson, 2007), en 1923, les mêmes auteurs ont observé qu'une carence a causé une résorption fœtale chez le rat. En effet, Une substance active a été isolée de l'huile de germe de blé en 1936 est nommée « tocophérol » (Jensen et Lauridsen, 2007), les propriétés antioxydantes de la vitamine E furent décrites en 1937 (Landrier, 2011), la vitamine E a été redécouverte dans les années 1950 comme facteur 2 par Klaus Schwarz et est placée dans le contexte des systèmes antioxydants cellulaires (Brigelius-flohe et Traber, 1999).

À l'époque, la vitamine E n'était connue que sous le nom d' $\alpha$ -T, le terme vitamine E est devenu plus tard un nom générique donné à tous les tocophérols (ou tocols) et les dérivés tocotriénols pour montrer l'activité biologique de  $\alpha$ -tocophérol (Suárez-Jiménez et al., 2016).

### III.2. Définition

La vitamine E est une vitamine liposoluble, essentielle pour la santé, est généralement ingérée avec des aliments contenant des matières grasses (Colombo, 2010), cette vitamine jouit d'un certain nombre de particularités. C'est l'antioxydant majeur des milieux lipidiques (huiles, membranes biologiques, lipoprotéines) (Leger, 2000).

La vitamine E est considérée comme une vitamine lipophile. Sa supplémentation est recommandée dans les régimes alimentaires humains pour prévenir les dommages oxydatifs, elle peut être stockée dans les tissus animaux, de sorte qu'il ne doit pas être inclus dans un régime alimentaire quotidien (Suárez-Jiménez et al., 2016).

### III.3. Structure

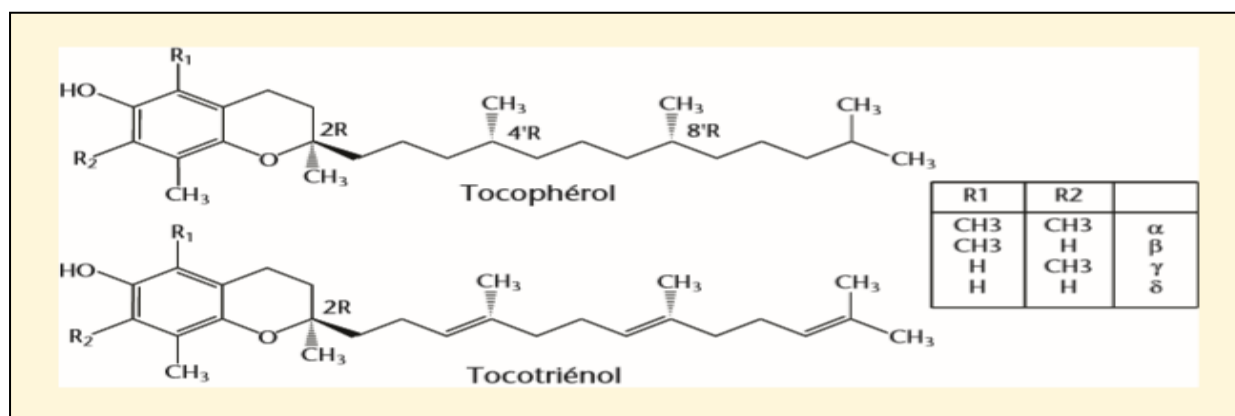
La vitamine E est un terme qui comprend un groupe de composés appelés tocophérols et un autre appelé tocotriénols. Dans la nature, il n'y a généralement que quatre tocophérols ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - et  $\delta$ -T) et quatre tocotriénols ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - et  $\delta$ -T). Les formes  $\alpha$  sont triméthylées, celles  $\beta$  et  $\gamma$  sont diméthylées et, enfin, celles  $\delta$  sont monométhylées (Cassano, 2012).

Les tocophérols et les tocotriénols sont tous composés d'une structure cyclique à 6 chromanols et d'une chaîne latérale à 16 carbones. Cette chaîne est saturée pour les tocophérols et insaturée avec trois doubles liaisons pour les tocotriénols aux carbones 3, 7 et



11 (figure 06). La différence entre les isomères tocophérols et tocotriénols réside dans la position des groupements méthyliques (Suárez-Jiménez *et al.*, 2016).

De plus, étant donné leur structure chimique, ce sont des molécules chirales, avec 32 stéréo-isomères, la vitamine E peut exister soit sous forme non estérifiée, soit, plus fréquemment, sous forme estérifiée. Ces derniers ont l'avantage d'être plus stables et moins sensibles à l'oxydation. L'étude détaillée de la structure chimique de ces deux familles est importante pour la compréhension de la méthode d'analyse, du métabolisme ainsi que du mode d'action de la vitamine E (Cuvelier *et al.*, 2003).

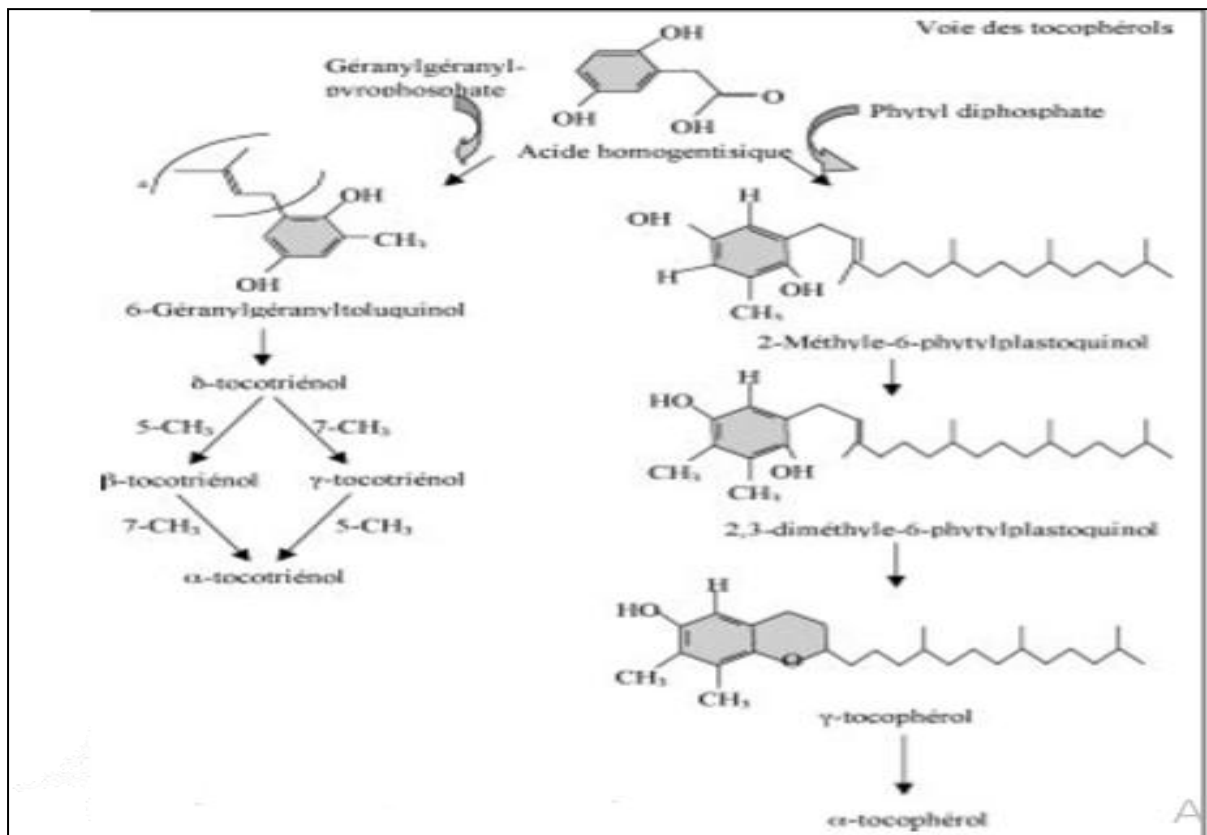


**Figure 06** : Structures chimiques des tocophérols et tocotriénols (Landrier, 2011).

### III.4. Biosynthèse

La biosynthèse de la vitamine E s'effectue dans les plantes, les algues et certaines plantes non photosynthétiques telles que les champignons mais pas chez les animaux. Il existe vraisemblablement 2 voies de synthèse conduisant à la formation de la vitamine E (figure 07), la voie des tocotriénols et la voie des tocophérols. Dans la première, l'acide homogentisique réagit avec une molécule de géranylgeranyl pyrophosphate pour donner un intermédiaire, le 6-géranylgeranyl-toluquinol, qui donnera naissance à un tocotriénol monométhylé le  $\delta$ -tocotriénol. Des méthylations supplémentaires permettront d'obtenir le  $\beta$ -tocotriénol, le  $\gamma$ -tocotriénol et l' $\alpha$ -tocotriénol. La chaîne latérale peut ensuite être saturée pour former l' $\alpha$ -tocophérol. Lors de la seconde voie de synthèse, une molécule de phtyl diphosphate est greffée sur le carbone 6 de l'acide homogentisique simultanément à une réaction de décarboxylation, pour former le 2-méthyle-6-phtylplastoquinol ou phtyltoluquinol. Une méthylation en position 3 permet la synthèse du 2,3-diméthyle-6-

phytylplastoquinol, qui subira une étape de cyclisation pour former le  $\gamma$ -tocophérol. Une 2ème méthylation en position 5 donne l' $\alpha$ -tocophérol (Cuvelier *et al.*, 2003).



**Figure 07** : Les principales étapes de la biosynthèse de la vitamine E (Cuvelier *et al.*, 2003).

### III.5. Digestion, absorption et métabolisme

La vitamine E n'est pas dégradée dans le haut du tube digestif humain. Seule une partie contenue dans les aliments est absorbée. La digestion de la vitamine 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. Il est admis que la vitamine E est incorporée sous forme libre dans les chylomicrons. Ce processus implique la peroxydation médiée par tocophérol (PMT). Cette dernière 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' $\alpha$ -T est incorporé dans les VLDL, ce qui va permettre sa distribution aux tissus périphériques. Cette incorporation met en jeu  $\alpha$ -tocophérol transfert protéine ( $\alpha$ -TTP)

La vitamine E se répartit entre les différentes classes de lipoprotéines par des échanges dépendants de la protéine plasmatique de transfert de phospholipide (PLTP). La

captation de la vitamine 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 des HDL. Le rôle du récepteur scavenger (SR-B1) a été mis en évidence dans le captage cellulaire de la vitamine E par différents tissus (figure 08), les produits finaux ainsi obtenus carboxyethyl hydroxy-chromanes(CEHC) conservent leur noyau chromanol intact mais présentent une chaîne latérale raccourcie. Les CEHC sont conjugués à l'acide glucuronique ou sulfates puis éliminés par voie biliaire ou urinaire. (Landrier, 2011).

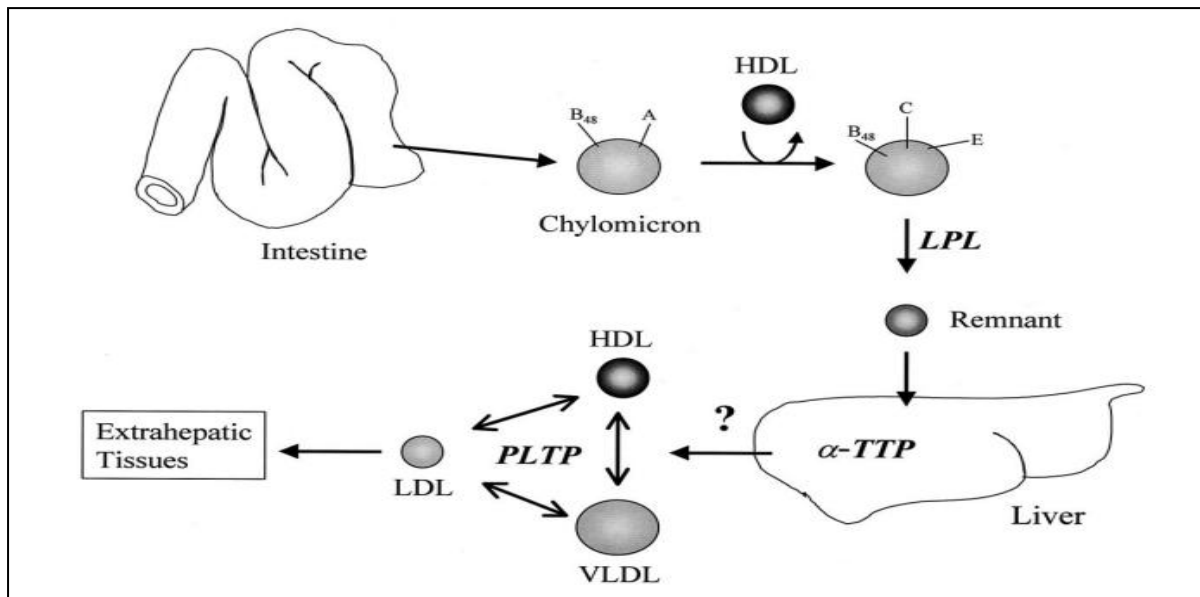


Figure 08 : Métabolisme de l' $\alpha$ -tocophérol (Azzi et stocker, 2000).

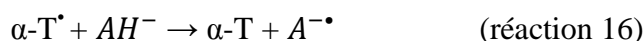
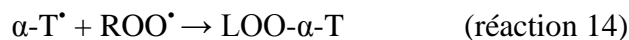
### III.6. Sources

Les principales sources de vitamine E alimentaire proviennent de plantes, dont la quantité et la composition varient d'un tissu à l'autre. Les oléagineux sont la source la plus riche en vitamine E (Ajjawi et Shintani, 2004), les huiles végétales et leurs dérivés sont aussi une source majeure de vitamine E. Il est intéressant de noter qu'une autre bonne source de vitamine E, des légumes à feuilles vertes, les noix et les grains entiers fournissent également une quantité importante de ce nutriment (Rigotti, 2007).

### III.7. Régénération

Selon Guiland(2011), la synergie entre vitamine C et vitamine E est bien démontrée *in vitro*. Le mécanisme de cette synergie est la réduction des radicaux tocophéroxyles ( $\alpha$ -T<sup>•</sup>) par l'acide L-ascorbique pour régénérer l' $\alpha$ -T qui en piégeant les radicaux peroxydes, est oxydé en  $\alpha$ -T<sup>•</sup>, ce dernier peut réagir avec un autre radical ROO<sup>•</sup> pour donner un produit

stable (réaction 14), ou avec un radical tocopheroxyle pour donner un dimère (réaction 15) ou avec l'ascorbate ( $AH^-$ ) pour être régénérer en  $\alpha$ -T, l'ascorbate étant oxydé en radical ascorbyle  $A^{\bullet}$  (réaction 16).



L'efficacité de cette régénération dépend principalement de l'accessibilité de l'ascorbate au  $\alpha$ -T

### III.8.Fonction antioxydante de la vitamine E

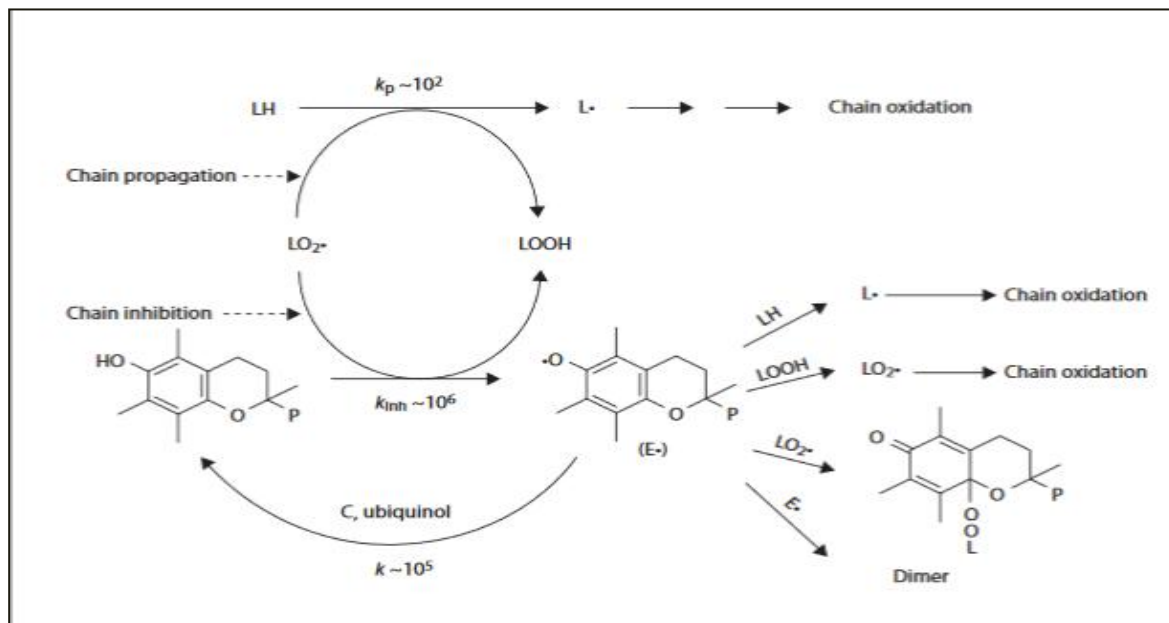
La vitamine E remplit son rôle dans la préservation des membranes contre les dommages causés par les radicaux libres induits par les LDL et il peut modifier positivement les biomarqueurs du stress oxydatif (**Pisoschi et Pop, 2015**).

Les tocophérols sont considérés comme des antioxydants généraux pour la protection de la stabilité des membranes, y compris la récupération des ERO comme l' $^1\text{O}_2$ . Ainsi, une molécule d' $\alpha$ -T peut recueillir jusqu'à 120 molécules de  $^1\text{O}_2$  par transfert d'énergie de résonance (**Gill et Tuteja, 2010**).

Une fois que la peroxydation lipidique progresse, la réaction en chaîne ne s'arrête pas tant que le produit final n'est pas formé à l'étape de la « terminaison ». Dans le processus de formation de ces peroxydes lipidiques, la présence d' $\alpha$ -T dans la réaction fournit des ions hydrogène à  $\text{ROO}^{\bullet}$ , qui lui-même devient un  $\alpha$ -T pour former ROOH, De plus,  $\alpha$ -T subit un couplage radical avec un autre  $\text{ROO}^{\bullet}$  pour former des adduits non radicalaires peu réactifs (**Miyazawa et al., 2019**), y compris des peroxydes stables, qui peuvent être réduits en tocoquinones et en dimères de tocophérols (**Gülçin, 2011**).

D'après Olorunnisola et al., (2019), l' $\alpha$ -T réduisait le stress oxydatif chez les travailleurs exposés au plomb et que l'administration d' $\alpha$ -T inversait les effets nocifs sur la santé de l'exposition au plomb, ce qui entraînait un stress oxydatif. L' $\alpha$ -T, associé à l'acide  $\alpha$ -lipoïque, s'est également révélé bénéfique pour prévenir le stress oxydatif induit par le bisphenol A (BPA).

Il existe également des preuves suggérant que l' $\alpha$ -T et l'acide ascorbique fonctionnent ensemble dans un processus cyclique, cette synergie s'est révélée très efficace pour inhiber la peroxydation lipidique, non seulement en solution homogène, mais aussi dans des systèmes hétérogènes tels que les micelles, les membranes et les lipoprotéines. La combinaison du tocophérol et de l'ascorbate a été très efficace pour inhiber presque complètement l'oxydation des lipoprotéines et du plasma. L'inhibition synergique de l'oxydation a également été observée par une combinaison de  $\alpha$ -tocophérol avec d'autres antioxydants tels que l'ubiquinol et divers polyphénol (figure 09) (Niki et Traber, 2012 ; Kurutas, 2015 ).



**Figure 09 :** Inhibition de la peroxydation lipidique par l' $\alpha$ -tocophérol (Niki et Traber,2012)

Kontush et *al.*,(1996), Ont confirmé que dans des conditions d'oxydation forte, la peroxydation lipidique dans le LDL a été supprimée par  $\alpha$ -T. Au contraire, dans des conditions d'oxydation douces, la peroxydation lipidique dans LDL est élevée, Les causes de ce phénomène sont :

- LDL est dispersé dans l'eau, il est donc difficile pour les substances liposolubles comme  $\alpha$ -T d'entrer en contact avec LDL séparé en phase aqueuse,
- dans LDL, il est connu que l'inhibition de la peroxydation lipidique par  $\alpha$ -T est un processus qui s'accumule en fonction de  $\alpha$ -T•, ce qui entraîne une peroxydation lipidique supplémentaire

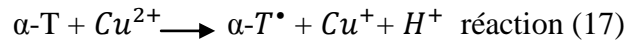
### III.9. Fonctions prooxydants de la vitamine E

L'augmentation des niveaux d'  $\alpha$ -T peut, en particulier dans des conditions de stress oxydatif accru, entraîner des niveaux accrus de radicaux de  $\alpha$ -T<sup>\*</sup> qui ne peuvent plus être efficacement détoxifiés par les co-antioxydants. Cela fournit la possibilité de la toxicité prooxydante du  $\alpha$ -T<sup>\*</sup> (Rietjens *et al.*, 2002).

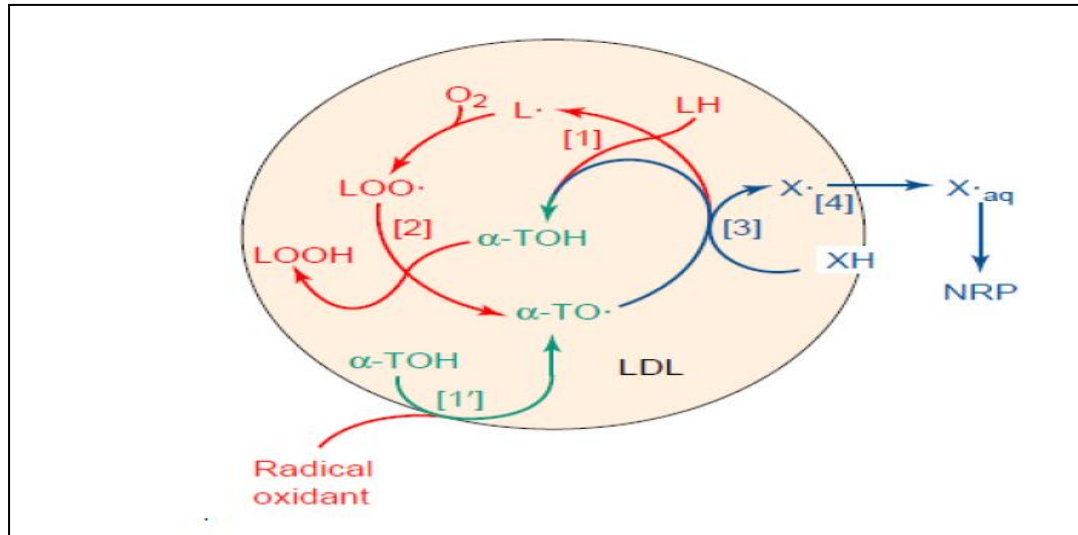
L'effet pro-oxydant de l' $\alpha$ -T a été mis en évidence dans un système utilisant le cuivre ( $Cu^{2+}$ ) pour induire la peroxydation lipidique. Or, le  $Cu^{2+}$  est bien connu pour être un oxydant drastique dans la peroxydation des LDL (Khalil, 2002), ce dernier est capable d'oxyder rapidement l' $\alpha$ -T, empêchant ainsi tout effet antioxydant pertinent de la vitamine (Maiorino *et al.*, 1993).

Quelques études biologiques ont démontré que dans certaines circonstances, la vitamine E ou  $\alpha$ -T se comportent comme des pro-oxydants, ce dernier piège les radicaux hautement réactifs qui, autrement, pourraient réagir avec les lipides présents dans les lipoprotéines plasmatiques ou dans les membranes cellulaires, mais les radicaux  $\alpha$ -T<sup>\*</sup> générés par ce processus peuvent présenter une activité pro-oxydante. La réaction d'abstraction d'hydrogène du radical  $\alpha$ -T<sup>\*</sup> à partir des lipides est considérée comme une réaction clé pour l'effet pro-oxydant du  $\alpha$ -T qui peut être empêché par des antioxydants naturels comme la vitamine C et les polyphénols (Elisia *et al.*, 2013).

L' $\alpha$ -T atténue la phase de propagation de l'oxydation des lipides en donnant un atome d'hydrogène à un radical lipidique. Cette étape convertit l' $\alpha$ -T en un radical tocophéryle stable plus oxydatif qui entraînera également une plus grande formation de radical  $\alpha$ -T<sup>\*</sup> (réaction 17). Néanmoins, dans des conditions où le radical tocophéroxy n'est pas stabilisé par d'autres antioxydants, ou des agents réducteurs disponibles, il est possible que l' $\alpha$ -T<sup>\*</sup> généré à partir d'une forte concentration d' $\alpha$ -T participe à la propagation du radical lipidique, ce qui convertit l' $\alpha$ -T en un pro-oxydant, le mécanisme d'action a été attribué à l'incapacité d' $\alpha$ -T<sup>\*</sup> de s'échapper des lipides insaturés, ce qui a favorisé la peroxydation lipidique (figure 10). Un autre mécanisme proposé par lequel l' $\alpha$ -T peut agir en tant que pro-oxydant, lorsque les Tocophérols réduisent l'état des ions métalliques de transition impliqués dans les réactions de type Fenton. La production du radical hydroxyle résultant de cette réaction contribue à promouvoir davantage la peroxydation lipidique



Il a été démontré que cette réaction atténuait ou réduisait totalement l'activité antioxydante de l' $\alpha$ -T au cours de l'oxydation des lipoprotéine (**Pilar et al., 2017**).



**Figure 10** : L' $\alpha$ -tocophérol médiateur de la peroxydation lipidique (**Stocker, 1999**).

L'activité prooxydante d' $\alpha$ -T peut être diminuée ou convertie en synergie en activité antioxydante par divers composés. Une contribution importante à l'efficacité antioxydante pourrait être obtenue par l'association de l' $\alpha$ -T avec la cystéine, l'hydroxy-toluène butylé... Les acides aminés phosphoriques, maloniques... peuvent diminuer en partie l'effet prooxydant d' $\alpha$ -T, tandis que les acides aminés tels que la glycine et l'alanine (qui montrent une activité anti-radicalaire par eux-mêmes) ont peu réduit le comportement prooxydant d'un  $\alpha$ -T (**Bakir et al., 2013**).

Etude expérimentale



La présente étude a été réalisée sur une période de sept mois, s'étalant du mois de mars au mois de septembre. L'étude expérimentale a été réalisée sur des rats males de souche Wistar, dont le poids variait de 55 à 70 g, chez lesquels nous avons effectué le suivi pondérale et étudié l'histologie de tissu rénale, après les avoir soumis à un régime supplémenté en  $\alpha$ -T à des doses croissantes (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg  $\alpha$ -T /kg d'aliment) sur une période de 3 mois.

## I.1. Matériel

### I.1.1. Matériel biologique

Trente-trois (33) rats ont été fournis par le centre d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger (Delly Brahim), ils sont répartis en onze (11) lots expérimentaux de trois rats chacun et maintenus dans des cages individuelles en polyéthylène tapissées d'une litière de sciure constitué de copeaux de bois et munie d'une porte étiquette où est mentionné le nom du lot, le traitement subi et les dates d'expérimentation (figure 11). Les cages sont nettoyées et la litière changée une fois tout les trois jours sans qu'il ne soit possible d'éviter la coprophagie.



**Figure 11** : Expérimentation animal (photo originale).

L'élevage a duré 11 semaines (une semaine d'adaptation et 10 semaines de traitement). La température de l'animalerie est de  $24 \pm 1$  °C avec un cycle jour/nuit de 12h et une ergométrie de 35%. Les aliments sont fournis par l'Office National des Aliments de Bétail (ONAB), et sont donnés sous forme de poudre dans des boîtes de pétrie (figure 12) à raison

25g/jour quantité recommandé (Jadot, 1981) et changé chaque jour, l'eau est donné *ad libitum* dans des biberons adaptés aux cages, une pesé régulière a été faites chaque 3, 4 jours.



**Figure 12 :** Aliment fourni aux rats sous forme de poudre (photo originale).

La teneur de l'aliment en différents constituants excepté l' $\alpha$ -T est semblable pour les onze lots de rats (Annexe 01).

#### I.1.1.1. Supplémentation de la vitamine E ( $\alpha$ -T)

L' $\alpha$ -T utilisé pour la supplémentation porte le nom commercial Nutrivita et est sous forme de poudre de 250g (figure 13)



**Figure 13 :** Vitamine E commerciale (photo originale).

La vitamine E a été administrée pendant 11 semaines à dix (10) lots de trois rats chacun  
(tableau II)

**Tableau II** : Répartition des lots et préparation des régimes

Lots	La supplémentation de l' $\alpha$ -T dans le régime standard
Témoin	Régime Standard (RS)
RSE <sub>500</sub>	RS supplémenté avec 500mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment
RSE <sub>600</sub>	RS supplémenté avec 600mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment
RSE <sub>650</sub>	RS supplémenté avec 650mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment
RSE <sub>700</sub>	RS supplémenté avec 700mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment
RSE <sub>750</sub>	RS supplémenté avec 750mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment
RSE <sub>800</sub>	RS supplémenté avec 800mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment
RSE <sub>850</sub>	RS supplémenté avec 850mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment
RSE <sub>900</sub>	RS supplémenté avec 900mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment
RSE <sub>950</sub>	RS supplémenté avec 950mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment
RSE <sub>1000</sub>	RS supplémenté avec 1000mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment

### I.1.1.2. Sacrifice et prélèvement des reins

Au bout des 11 semaines d'expérimentation, les rats sont sacrifiés après 12 heures de jeunes, une pesée a été effectuée avant de les anesthésier au chloroforme.

La dissection des 33 rats est réalisée, les rats ont été ouverts ventralement, les reins sont soigneusement prélevés, rincés avec une solution d'eau physiologique ensuite pesés, un premier fragment de rein de chaque rat est conservé dans du formol à 10% pour la réalisation des coupes histologiques, le reste des fragments sont maintenus à -20°C pour le dosage de quelques paramètres du stress oxydant (protéines, MDA, l'activité enzymatique de la CAT).

**I.1.2. Matériel non biologique (Annexe 02)****I.2. Méthodes****I.2.1. Etude histologique**

Les prélèvements histologiques ont été traités au laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Dr. Fares Yahia (Koléa), selon les techniques décrites par Martoja et Martoja, (1967). Les fragments des reins de chaque rats sont retirés du formol 10%, coupés transversalement à l'aide d'un bistouri, et sont mis dans des cassettes spéciales à parois tournées, afin de permettre le passage des liquides.

Pour l'observation en microscope optique, les coupes examinées sont le fruit de procédures technique qui requièrent plusieurs étapes successives : fixation, déshydratation et éclaircissement, imprégnation, inclusion et mise en bloc, confection des coupes et collage des rubans, déparaffinage et hydratation, coloration, montage et observation.

**❖ Fixation**

La fixation sert d'assurer le maintien de la structure morphologique et de l'intégrité chimique des tissus tels qu'elles se présentant au moment de leur prélèvements.

Après son prélèvement, les reins sont pesés puis fixés dans le formol à 10% pendant 48 heures.

**❖ Déshydratation et éclaircissement**

Les organes sont imprégnés dans sept bains d'alcool éthylique a concentration croissante :

- Alcool 70° (deux bains de 30min).
- Alcool 90° (deux bains de 30min).
- Alcool 100° (trois bains de 30min).

L'éclaircissement est effectué dans un bain de xylène pendant 30 minutes (figure 14)



**Figure 14:** Automate de traitement des tissus (photo originale).

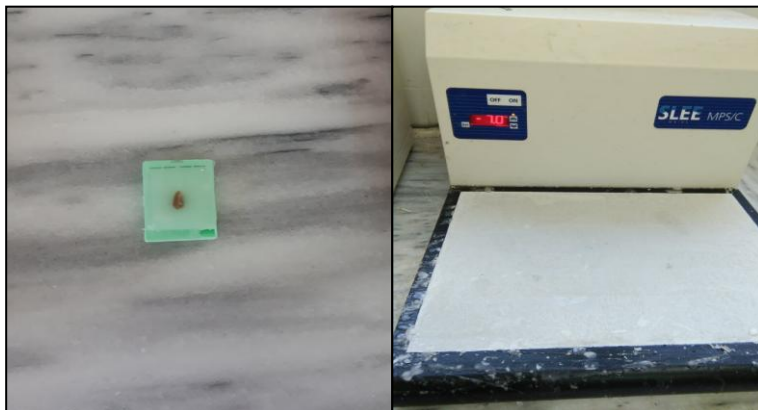
#### ❖ Imprégnation

Dans une étuve réglée à 58°C, les organes sont imprégnés dans deux bains successifs: le premier bain constitué de 50% de butanol et 50% de paraffine et le deuxième bain comprenant de la paraffine pure. La durée est d'une heure pour chacun.

#### ❖ Inclusion et mise en bloc

L'inclusion est réalisée selon les étapes suivantes :

- Ecoulement de la paraffine dans des moules métalliques
- Inclusion et orientation des pièces dans la paraffine
- Placement des cassettes sur lesquelles est inscrit l'état de l'animal
- Refroidissement des blocs de paraffine sur une plaque métallique réfrigérée environ 7 minutes (figure 15)



**Figure 15 :** Module de refroidissement des blocs de paraffine (photo originale).

**❖ Confection des coupes et collage des rubans**

Les blocs sont coupés à l'aide d'un microtome de type Leica avec une épaisseur de 3 µm. les rubans sont étalés dans un bain marie (37°C) puis récupérés et collés sur des lames en verre et ensuite séchés dans l'étuve réglée à 25° C pendant 24 heures.

**❖ Déparaffinage et hydratation**

Le déparaffinage sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorantes puissent y pénétrer. Les coupes sont passées dans un bain de xylène pendant trente minutes, puis sont séchées dans l'étuve réglée à 25°C pendant trois minutes. Les coupes sont hydratées dans quatre bains d'éthanol décroissant : 100° ; 95° ; 90° ; 70° pendant deux minutes chacun puis sont rincées à l'eau courante.

**❖ Coloration**

Les coupes sont plongées dans un bain d'hématoxyline pendant quinze seconde puis sont rincées à l'eau courante pendant cinq minute après ils sont plongée dans l'éosine pendant trente seconde et finalement sont rincées une deuxième fois à l'eau courante.

**❖ Montage et observation**

La dernière étape de l'histologie est le montage (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 être placées sur les lames. L'ensemble lame et lamelles a été par la suite séché à l'air libre.

- Une fois l'histologie terminée, les lames ont été observées à l'aide d'un microscope optique à GR : \*10 puis \*40, muni d'une caméra, les images obtenues par cette caméra ont été transférées sur l'écran d'ordinateur à l'aide d'un logiciel.

## 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 bleu foncée. Cette coloration résulte de la réaction du cuivre avec les liaisons peptiques et la réduction de l'acide phospho-tungsto-molybdique par la tyrosine, tryptophane, cystéine. On réalise un courbe étalon de solution d'albumine à 1 mg/ml, l'absorbance est mesurée à 750nm après le développement de la couleur pendant 45min à l'abri de la lumière.

### B. Mode opératoire

#### 1. Extraction des protéines

- broyer 100 mg de l'échantillon de rein dans 9ml de triton X-100 par un broyeur homogénéisateur de Potter Thomas pendant 1min sous glace,
- 100 µl de l'homogénat sont mis en présence de 1ml de TCA à 1%
- centrifuger à 4000 tour/min pendant 15min
- le surnageant est éliminé, et le culot est repris dans 1ml de TCA à 1% et centrifugé à 4000tour/min pendant 15min
- le surnageant est éliminé une deuxième fois, les bords supérieurs des tubes sont séchés par la suite avec du papier filtre
- ajouter au culot 1ml d'un mélange d'alcool/ether (v/v) et centrifugé à 4000 tour/min pendant 5min
- le surnageant est jeté, les bords supérieurs des tubes sont séchés par la suite avec du papier filtre
- lavage avec 1ml d'éther éthylique, et centrifugation à 4000 tour/min pendant 5min
- le culot parfaitement séché à l'air chaud, est repris dans 1ml de NaOH (1M).

#### 2. Dosage

- ajouter 200µl de l'homogénat à 1ml de la solution A (Annexe 03), agiter au vortex pendant quelques secondes
- incuber 20min à température ambiante.
- ajouter 100µl de la solution B (Annexe 03)

- après 45min, la densité optique a 750nm est mesurée au spectrophotomètre contre l'eau bi-distillée (blanc)
- la détermination des concentrations des protéines est obtenue en utilisant la courbe étalon

### 3. Préparation de la courbe étalon

Une gamme étalon est réalisée à partir d'une solution protéique d'albumine sérum bovin (BSA) à 1mg/ml dans huit (8) tubes contenant des volumes croissants de solution BSA (0-200µl), complétés à chaque fois avec de l'eau distillée à 200µl (tableau III)

**Tableau III** : Gamme étalon réalisée à partir de la solution BSA:

	1	2	3	4	5	6	7	8
BSA (1µG/µl)	0	10	25	50	75	100	150	200
H <sub>2</sub> O (µl)	200	190	175	150	125	100	50	0
BSA (µl)	0	10	25	50	75	100	150	200

### I.2.3. Dosage du malondialdéhyde

#### A. Principe

Le malondialdéhyde (MDA) est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, après traitement acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit chromogène de couleur rose consistant en deux (2) molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à 532nm. (**Draper, 1993**)

#### B. Mode opératoire

- broyer 100 mg de l'échantillon de reins dans 9ml de tampon phosphate (0.2M à pH=7.4).
- 1ml de TCA à 10% sont mis dans un tube à essai, contenant 200µl d'homogénat.
- le mélange est mis à ébullition dans un bain marie à 100°C pendant 30min.
- après refroidissement, le mélange est versé dans des tubes secs et centrifugé à 4000 tour/min pendant 10min.



- un volume de 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 30min.
- après refroidissement, la densité optique est mesurée à 532nm.

### C. Expression des résultats

La concentration du MDA est calculée selon l'équation suivante :

$$[\text{MDA}] = \frac{DO \times 22}{[\text{Protéines}]} \text{ [n moles/mg de protéines]}$$

- ❖ [MDA] : concentration en MDA en n moles/mg de protéines.
- ❖ DO : densité optique lu à 532nm.
- ❖ [protéines] : concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).

### I.2.4. Dosage de la catalase

#### A. Principe

En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fonction du temps (Aebi, 1984)

#### B. Mode opératoire

- broyer 100mg de l'échantillon de reins dans 9ml de triton X-100 à 1% à l'aide d'un homogénéisateur de potter Thomas pendant 30-45 seconde sous glace
- préparer le tampon phosphate (50mM à pH=7) (Annexe 05)
- préparer la solution de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 mM) (tableau IV) (Annexe05)
- lire l'absorbance à 240nm pendant un temps de 3 min (point chaque 30 seconde)

**Tableau IV** : Les différentes étapes de dosage de la CAT.

	Cuve de référence	Cuve d'échantillon
<b>Tampon phosphate</b>	1ml	/
<b>Broyat</b>	2ml	2ml
<b>Solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	/	1ml

(Aebi,1984).

### C. Expression des résultats

L'activité de CAT est calculée selon l'équation suivante :

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

Avec :

- ◆ V : volume de l'échantillon
- ◆ v : volume totale
- ◆  $\Delta t$ : temps de décomposition de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- ◆ A<sub>1</sub> : absorbance a t<sub>0</sub>
- ◆ A<sub>2</sub> : absorbance a t<sub>(3min)</sub>
- ◆ X : quantité de protéines mg/ml

### I.2.5. Etude statistique

Le poids des rats fournis par le centre d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger se diffèrent de manière importante, pour cela nous avons réalisé une analyse comparative du taux d'évolution entre les lots expérimentaux et le lot témoin.

L'analyse statistique des résultats est réalisée par le teste de t-student en utilisant le logiciel XLSTAT, ce test a permis de comparer les moyennes des différents lots expérimentaux. Les résultats sont exprimés comme : moyenne plus au moins l'écart-type et sont considérés comme :

- Significative lorsque ( $P \leq 0,05$ )
- Très significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ )
- Hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,001$ )

Avec (P) : seuil de signification.

## II.1. Modifications physiologiques

### II.1.1. Symptomatologie

Lors de l'administration des doses croissantes en  $\alpha$ -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg/kg d'aliments) aucun symptôme de toxicité (diarrhées, perte de poils, desquamation de la queue, ...), ni de modifications de comportement n'a été observé, cette absence de symptômes peut être dû au fait que les doses administrés ne sont pas assez fortes pour induire une toxicité, la durée du traitement a également pu jouer un rôle dans cette absence vue qu'elle n'était pas assez longue.

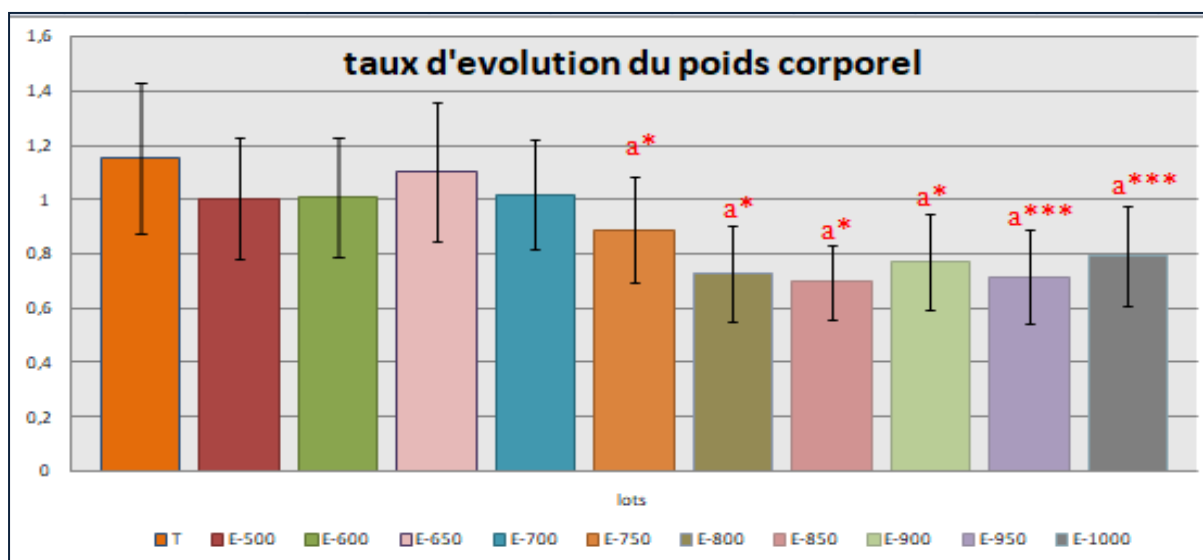
Les observations que nous avons faite lors de notre étude à savoir l'absence de toxicité a également était souligné par Abdo et *al.*, (1986) qui n'ont obtenu aucun signe de toxicité chez des rats males de souche Fischer 344 traités par deux doses d' $\alpha$ -T (500 et 1000 mg/kg d'aliment), par contre l'administration d'une dose de 2000 mg/kg d'aliment a provoqué des diarrhées de couleurs foncés, tachypnea, saignement du nez, et une croute rouge autour des yeux, il a aussi noté une mortalité élevée allant jusqu'à la mort de sept des dix rats traité avec cette dose. Ainsi, El-Hak et *al.*, (2019), qui dans leur étude n'ont signalé aucune modification de comportement ni de mortalité, rappelons que cette étude porte sur le traitement de rats males de souche albinos avec des doses croissante d' $\alpha$ -T (500, 1000, 2000 mg/kg d'aliment) pendant 30 jours.

### II.1.2. Effets de la supplémentation d'un régime en doses croissantes d' $\alpha$ -T sur les paramètres pondéraux de rats de souche wistar

#### A. Variation du poids corporel

Les résultats du taux d'évolution de la croissance corporelle des différents lots de rats soumis aux différents régimes supplémentés en  $\alpha$ -T sont représentés dans la figure 16 (Annexe 05) :

La figure 16 ne montre aucune variation significative du taux d'évolution du poids corporel chez les lots RSE<sub>500</sub>, RSE<sub>600</sub>, RSE<sub>650</sub>, et RSE<sub>700</sub> avec une diminution significative pour les lots RSE<sub>750</sub>, RSE<sub>800</sub>, RSE<sub>850</sub> et RSE<sub>900</sub> et une baisse hautement significative chez les lots RSE<sub>950</sub> et RSE<sub>1000</sub> et ceci par rapport au témoin.



**Figure 16:** Effets de la supplémentation d'un régime standard en  $\alpha$ -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg/kg d'aliments) sur le taux d'évolution du poids corporel des rats. Chaque barre représente le taux d'évolution  $\pm$  écart type. (\* $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.0001$ , a : comparaison avec le lot RS).

#### a. Variations du taux d'évolution de la croissance corporelle du lot RSE<sub>500</sub> au lot RSE<sub>700</sub>

Les résultats du taux d'évolution du poids corporel que nous avons obtenu ne montrent aucune variation significative chez les lots RSE<sub>500</sub>, RSE<sub>600</sub>, RSE<sub>650</sub> et RSE<sub>700</sub> et ceci par rapport au lot témoins (RS) (figure 16). Nous supposons que des telles doses n'ont eu aucun effet sur le poids corporel des rats et que la vitamine E a exercé son effet protecteur vis-à-vis des RL. Déjà en 1983, Wheldon et *al.*, ont montré que l'administration de 500 mg/kg/ jour d' $\alpha$ -T à des rats Charles River pendant 2 ans n'avait aucun effet sur le poids corporel.

Une étude réalisée par Abdo et *al.*, (1986) révèlent que le poids corporel moyen des rats mâles traités par la vitamine E à une dose de 500 mg d' $\alpha$ -T /kg d'aliment ne différait pas de façon significative de celle des témoins après 13 semaines de traitement, ce qui suggère que la croissance est insensible à une telle dose. En effet, Garrido-Polonio et *al.*, (2004), ont rapporté que l'administration d'une dose de 600mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment à des rats wistar prévient la perte de poids et protège les organes contre les dommages causés par les RL, en outre, l' $\alpha$ -T inhibe la peroxydation des lipides membranaires en captant les radicaux peroxydes lipidiques et par conséquent elle est converti en radical  $\alpha$ -T $\cdot$ .

De plus Kasai et *al.*, (2015), ont eux aussi montré que l'administration de 600 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment n'a eu aucun effet significatif sur le poids corporel chez les rats femelle wistar après 8 semaines de traitement.

D'autres auteurs ont travaillé sur un autre modèle d'animal, c'est le cas de March et *al.*, (1973), qui ont montré que le taux de croissance des poussins n'a pas été affecté par un traitement avec 650 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment durant une période de 3 semaines. De même pour Ortuño et *al.*, (2000), n'ont pas trouvé une différence significative du taux de croissance des Daurad Royale (*Sparus aurata L*), ayant reçu 600 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment pendant 45 jours.

Au cours d'une étude réalisée par Galaz et *al.*, (2010) aucun changement du taux de croissance n'a été observé lors du traitement des juvéniles de poissons perroquets avec 500 mg d' $\alpha$ -T/kg de nourriture durant une période de 12 semaines.

Enfin, nos résultats ne sont pas en accord avec ceux de Jenkins et Mitchell, (1975) qui ont signalé une augmentation significative de poids corporel des rats mâles Holtzman après un traitement avec 600 mg d' $\alpha$ -T /kg d'aliment pendant deux mois. Ainsi, En 2012, Nekoubin et *al.*, ont montré que le taux de croissance des angelfish (poisson ange de mer) s'est nettement amélioré après un traitement à différentes doses de vitamine E et sur une période de 60 jours, cependant un meilleur résultat de croissance a été obtenu à une dose de 600 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment par rapport au témoin. Ces résultats ont clairement montré que la vitamine E avait des effets bénéfiques sur les paramètres de croissance de la poisson-ange. Notons que Muchlisin et *al.*, (2016) ont eux aussi obtenu une augmentation non significative de la croissance des poissons après une administration de 600 mg d' $\alpha$ -T /kg d'aliment pendant 60 jours.

#### **b. Variations du taux d'évolution de la croissance corporelle des lots RSE<sub>750</sub>, RSE<sub>800</sub>, RSE<sub>850</sub>, RSE<sub>900</sub>, RSE<sub>1000</sub>**

En ce qui concerne le taux d'évolution des rats du lot RSE<sub>750</sub>, RSE<sub>800</sub>, RSE<sub>850</sub>, RSE<sub>900</sub> une baisse significative a été obtenue par rapport au lot témoin (RS), et une diminution hautement significative chez les lots traités avec 950, 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment (figure 16). Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que ces doses d' $\alpha$ -T ont eu un effet néfaste sur la croissance des rats.

Notons que nos résultats corroborent avec une étude réalisée par Yang et Desai, (1977), sur des rats femelles de souche Wistar qui ont été supplémenté avec 900 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment, ils ont obtenu une diminution significative de leur poids corporel après 8 mois de traitement, cette même réduction a été observé après 16 mois d'expérimentation.

En effet, Dahdouh et *al.*, (2014), ont révéler une diminution significative du poids corporel chez des souris suisse adultes de souche albinos après un traitement avec une dose de 2,7 g de nickel et 1g d' $\alpha$ -T/kg d'aliment. Au cours de la même année, Araoud et *al* ont traité des rats males de souche wistar avec une forte dose en méthamidophos (insecticide) plus 200 mg d' $\alpha$ -T/kg de poids corporel par jour, et ils ont obtenu une diminution significative de leur poids corporel.

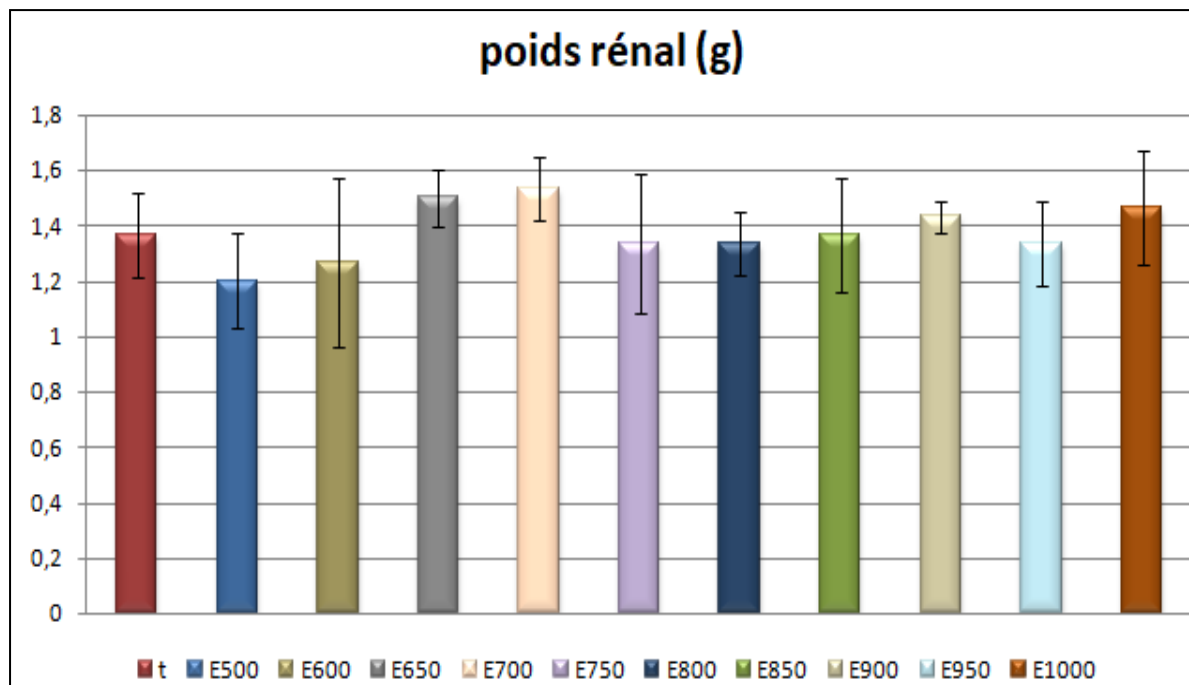
Cependant, March et *al.*, (1973), indiquent que l'administration d'une dose de 1500 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment pendant 50 jours a considérablement réduit la croissance des poussins. Trois ans après Nockels et *al.*, ont signalé que le niveau d'alimentation en vitamine E allant jusqu'à 1300 mg d' $\alpha$ -T/kg d'alimentation pendant cinq semaines a entraîné une réduction significative du poids corporel chez les poussins males de poulet à griller.

Enfin, les résultats que nous avons obtenu ne concorde pas avec celle d'Eder et *al.*, (2002), qui ont montré que la croissance des rats males Spargue-Dawley n'a pas été affecter par une supplémentation de 1000mg d' $\alpha$ -T/kg d'alimentation durant une période de 8 semaines ;ni avec celle d' EL-Hak et *al.*, (2019), qui ont trouvé durant leur étude qui a été réalisé sur des rats males de souche albinos que le pourcentage d'augmentation du poids corporel des groupes traités à la vitamine E (500, 1000,2000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment) n'est pas significativement différent de celui des groupes témoins après 30 jours d'expérimentation.

Cependant, Mehrad et *al.*, (2011), ont trouvé une augmentation significative de la croissance des poissons-zèbre traité avec une dose de 1000 mg d' $\alpha$ -T /kg d'aliment pendant 20 semaines par rapport au témoin et ceux qui sont nourris avec des doses de 100, 300 et 500 mg d' $\alpha$ -T /kg d'aliment.

### B. Variation du poids rénal

Les résultats du poids rénal des différents lots de rats soumis aux différents régimes supplémentés en  $\alpha$ -T sont représentés dans la figure 17(Annexe 05) :



**Figure 17 :** Effets de la supplémentation de l' $\alpha$ -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950,1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment) sur le poids du tissu rénale chez les rats. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  SE.

Les résultats que nous avons obtenu lors de l'études de la variation du poids rénale après 12 semaines de traitement avec un régime standards supplémenté en différents doses de vitamine E (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950,1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment), montrent une variation non significative et ceci par rapport au témoin (figure 17), nous supposant que les doses d' $\alpha$ -T administré n'ont pas affecté le poids rénale.

Une étude vient corroborer nos résultats, réalisé par Rouaki et *al.*,(2013),ces auteurs n'ont obtenu aucun effet significatif sur le poids cardiaque lors du traitement des rats males Wistar avec de l'huile de tournesol oxydée supplémentée en différentes doses de vitamine E (600 et 1200 mg d' $\alpha$ -T / kg d'aliment). Ainsi en 2018, Kanane et *al.*, ont signalé que l'apport d' $\alpha$ -T à 600 et 1200 mg/ kg d'aliment ne montre aucun changement significative sur le poids rénale des rats males wistar après 12 semaines de traitement.

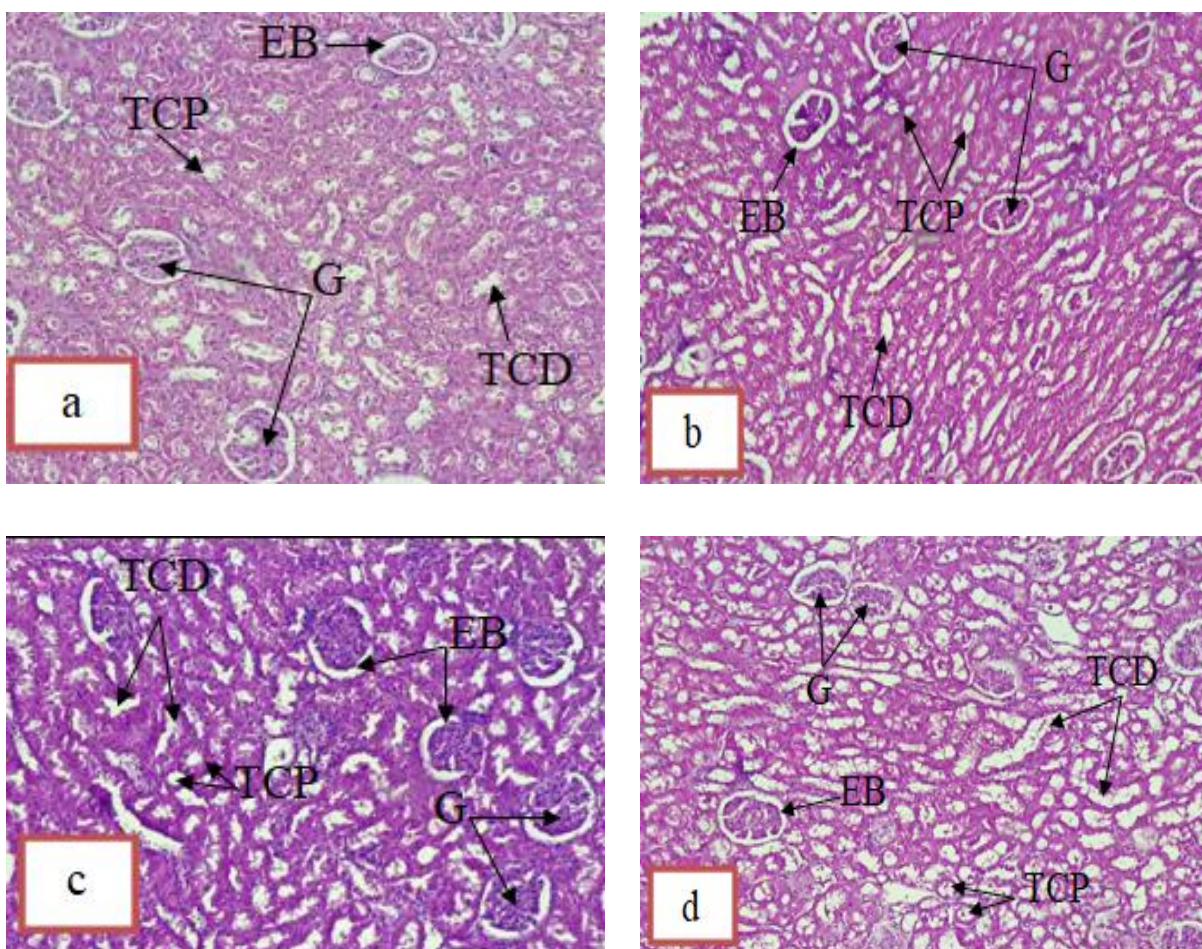
Par contre nos résultats ne corroborent pas avec ceux d'Abdo et *al.*, (1986), qui ont observé une hypertrophie hépatique et une augmentation significative du poids du foie après administration de 500 et 2000 mg/kg d'aliment à des rats femelles wistar.

### II.3. Effets de la supplémentation en $\alpha$ -tocophérol à différentes doses 500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment sur l'histologie du tissu rénal

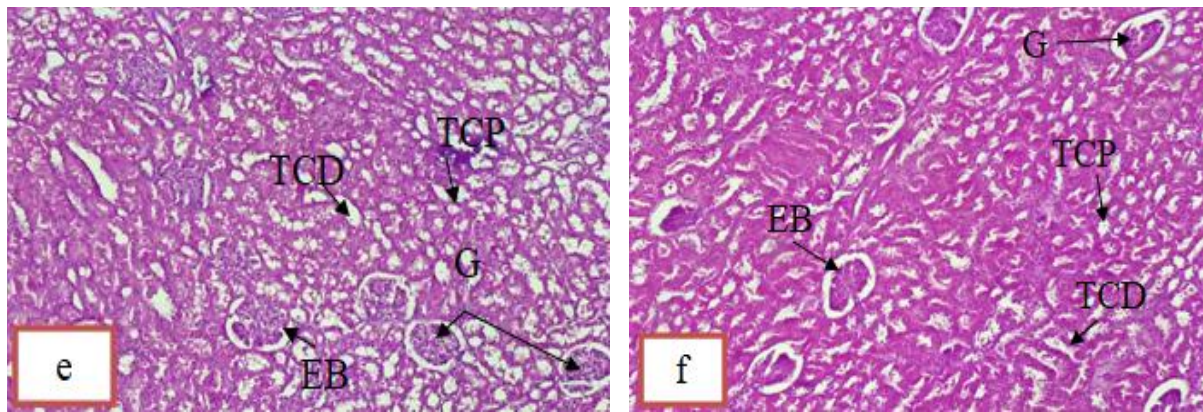
Concernant l'étude histologique, celle-ci sera traitée sous deux volets, d'abord les coupes histologiques des lots 500 à 750 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment vue qu'il y'a absence de stress puis les lots 800 à 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment qui montrent la présence d'un stress :

#### II.3.1. Effets de la supplémentation en $\alpha$ -tocophérol aux doses allant de 500-750 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment.

Les résultats que nous avons obtenus au cours de l'étude histologique révèlent une disposition normale des cellules rénale sans aucune altération histologique et ceci pour le lot témoin, et les lots dont les doses d' $\alpha$ -T varient de 500 à 750 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment (**figure 18, a,b,c,d,e,f**)







**Figure (18, a,b,c,d,e,f).** Micrographies du cortex rénal (10×, H&E) montrant : une architecture normale chez le lot témoin (a), et chez les lots RSE<sub>500</sub> (b), RSE<sub>600</sub> (c), RSE<sub>650</sub> (d), RSE<sub>700</sub> (e), RSE<sub>750</sub> (f) avec : (G : Glomérules, TCP : tube contourné proximale, TCD : tube contourné distal, EB : espace de Bowman).

Le traitement des rats avec 500, 600, 650, 700 et 750 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment suggère une activité antioxydante de la vitamine E essentiellement au niveau membranaire ; en effet, en 1997, Fryer rapporte que l' $\alpha$ -T est un antioxydant puissant qui prévient la détérioration oxydative des membranes (LPO) et a donc le potentiel de ralentir un certain nombre des affections rénales dégénératives.

Nombreuses sont les études qui montrent l'effet antioxydant de la vitamine E sur l'histologie du tissu rénal, tel est le cas d'Otani et *al.*, (1999) qui ont signalé que l'administration de 300 mg d' $\alpha$ -T/kg à des rats mâles Sprague-Dawley a considérablement inhibé la sclérose glomérulaire et l'infiltration de macrophages dans les glomérules ainsi que la prolifération des cellules mésangiales dans les modèles de maladie glomérulaire. Ainsi, Kutlubay et *al.*, (2007), ont traité des rats mâles wistar adulte avec de l'aluminium suivie par 300 mg de vitamine E pendant 2 semaines, aucun changement histologique n'a été observé par rapport au témoin, les cellules tubulaires rénales étaient presque normales. L'organisation tubulaire et la basophilie cytoplasmique étaient également à peu près les mêmes que dans le groupe témoin, avec une lumière clairement visible dans la plupart des tubules corticaux. Deux ans après, Seifi et *al.*, ont montré que le stress oxydatif a un rôle majeur dans le développement des lésions rénales dans l'hypertension induite par le désoxycorticostérone (médicament), cependant, l'administration de 200 mg/kg/jour de vitamine E à des rats mâles de souche Sprague-Dawley pendant 4 semaines a réduit les lésions rénales.

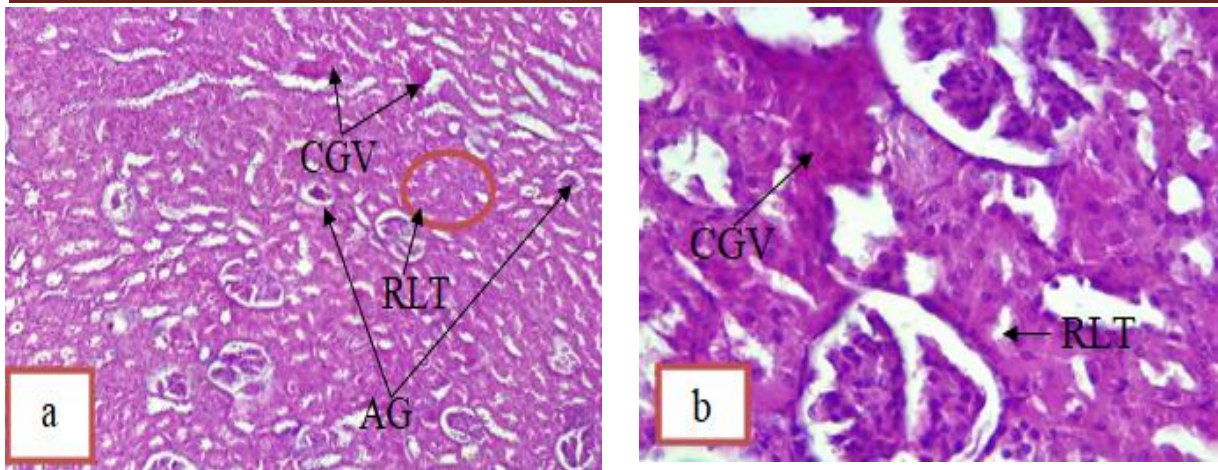
En 2010, deux études ont été réalisées la première par Gill et Tuteja, et la seconde par Lobo et *al.*, ces auteurs rapportent que l' $\alpha$ -T protège les membranes contre l'oxydation en réagissant avec les RL produits dans la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique, ceci élimine les intermédiaires de RL et empêche la réaction de propagation de continuer en formant un dérivé à faible réactivité incapable d'attaquer les substrats lipidiques.

De plus, Al-Attar et *al.*, (2011) ont évalué l'histopathologie de tissu rénal chez des souris mâles albinos exposées aux métaux lourds et traitées avec 33mg de vitamine E /kg de poids corporel et ceci sur une durée de 7 semaines, ils ont observé des structures normales du corpuscule rénal et ils ont déduit que l'administration de vitamine E protège le tissu rénal contre le stress oxydatif et les blessures causés par les métaux lourds. En effet, Badgujar et *al.*, (2015), indiquant que l'administration de 100 mg/Kg de vitamine E chez des souris mâles Swiss albinos exposées au fipronil (insecticide, acaricide) a également amélioré l'architecture histologique des reins.

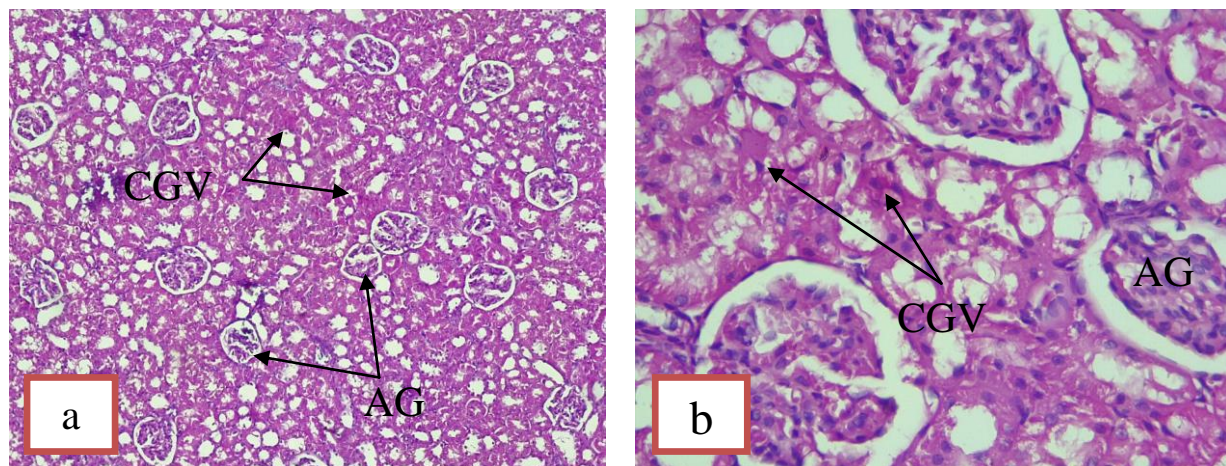
L'étude réalisée par Magdy et *al.*, (2016), rapporte que l'administration de 50 mg d' $\alpha$ -T/kg de poids deux fois par semaine pendant 6 semaines à des rats mâles albinos protège le tissu rénal contre le stress oxydatif de l'abamectine (insecticide, acaricide). De même pour Sinha et *al.*, (2018), qui ont montré que la supplémentation en vitamine E (100 mg/kg de poids corporel) pendant 15 jours prévient le stress oxydatif induit par la L-thyroxine exogène (médicament) chez des rats mâles wistar, les lésions rénaux et le rétrécissement des glomérules ont été considérablement réduits lorsque la L-thyroxine a été coadministrée avec de la vitamine E, ces mêmes changements ont été observés après 30 jours de traitement.

### **II.3.2. Effets de la supplémentation en $\alpha$ -tocophérol aux doses allant de 800 à 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment.**

Des changements histopathologiques modérés ont été notés chez les lots RSE<sub>800</sub>, RSE<sub>850</sub> (**figure 19, a et b ; figure 20, a et b**) respectivement. En effet, les modifications observées sont caractérisées par la présence de légères congestions vasculaires au niveau du cortex rénal, avec réduction de la lumière tubulaire des tubes corticaux externes et des atrophies glomérulaires.

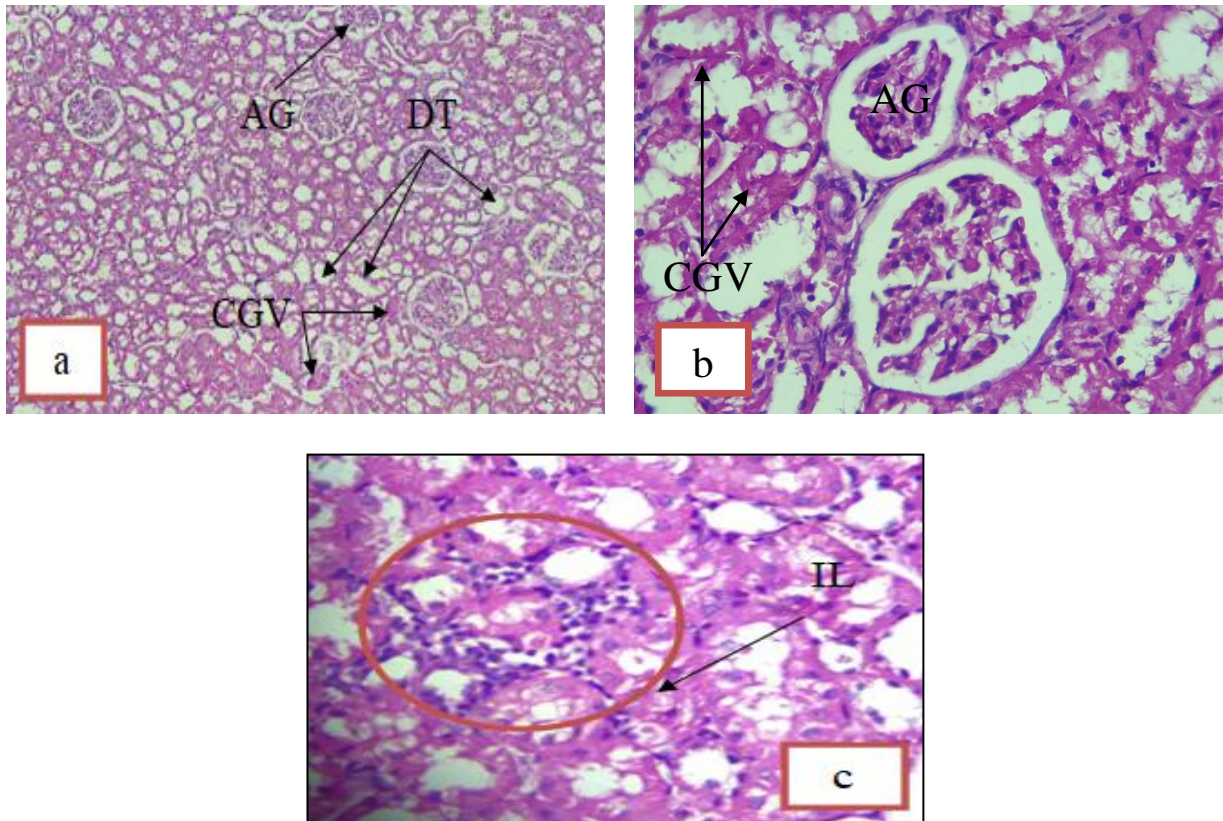


**Figure 19 (a et b).** Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>800</sub>, montrant la présence de légère congestions vasculaire, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E). AG : atrophie glomérulaire, CGV : congestion vasculaire, RLT : réduction de la lumière tubulaire.

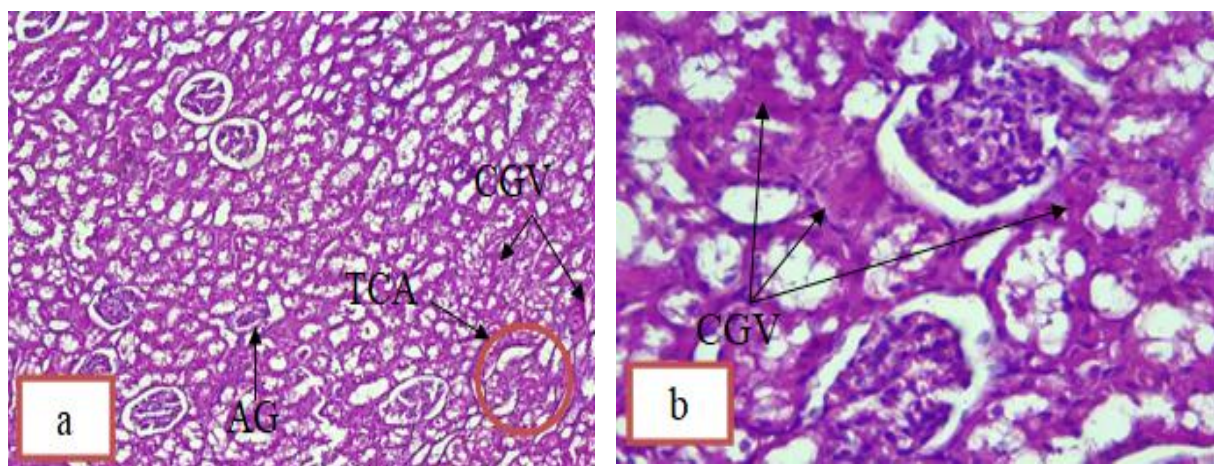


**Figure 20 (a et b).** Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>850</sub>, montrant la présence de légère congestion vasculaire, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E). CGV : congestion vasculaire, AG : atrophie glomérulaire.

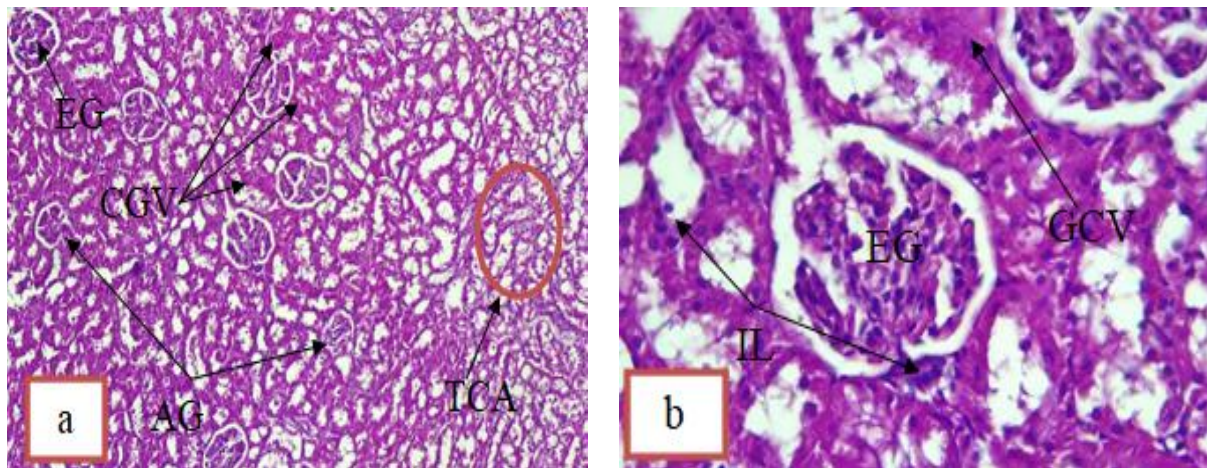
En revanche la supplémentation avec 900, 950,1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment (**figure 21, a et b et c**), (**figure 22, a et b**), (**figure 23 a et b**) respectivement, révèlent des congestions vasculaire importantes, des atrophies et ectasies glomérulaire, altérations et dilatations tubulaires et quelque infiltrats lymphocytaires.



**Figure 21 (a, b et c).** Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>900</sub>, montrant la présence de légère congestion vasculaire avec dilatation tubulaire, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E), (c) : (40×, H&E). CGV : Congestion vasculaire, AG : atrophie glomérulaire, DT : dilatation tubulaire, IL : infiltrat lymphocytaire.



**Figure 22 (a et b).** Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>950</sub>, montrant la présence de légère congestion vasculaire, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E). CGV : congestion vasculaire, AG : atrophie glomérulaire, TCA: tubes contournés altérés.



**Figure 23 (a et b).** Micrographie du cortex rénal du lot RSE<sub>1000</sub>, montrant la présence de congestion vasculaire importante, (a) : (10×, H&E), (b) : (40×, H&E). CGV : congestion vasculaire, AG : atrophie glomérulaire, TCA: tubes contournés altérés, EG : ectasie glomérulaire, IL : infiltrat lymphocytaire.

Ces observations indiquent que l' $\alpha$ -T a eu des effets néfastes (effet pro-oxidant) à de telles doses, ce qui a entraîné une désorganisation de la structure du cortex rénale ; en effet, en 1996, Kamal-Eldin et Appelqvist, indiquent que l'effet pro-oxydant de l' $\alpha$ -T était lié aux fortes concentrations en RL, ce qui rend l' $\alpha$ -T susceptible de propager la LPO en arrachant des électrons aux AGPI avoisinants au niveau des membranes, altérant ainsi la structure membranaire (fluidité).

Une recherche réalisée par Nascimento et *al.*, (2010), dont le but était d'évaluer l'effet d'une dose pharmacologique d' $\alpha$ -T sur le tissu cardiaque de rats wistar traités avec une quantité d' $\alpha$ -T qui variée de 87,5 à 1000 mg /rat/jour et ceci sur une période de 7 semaine. Les coupes histologique ont montré aucun changement pathologique chez le lot témoin, par contre pour le lot supplémenté en  $\alpha$ -T des dommages cellulaires importants sont apparents et montrant une désorganisation morphologique des myocytes ainsi que la présence d'œdèmes. Ces auteurs déduisent qu'une telle dose d' $\alpha$ -T induit une cardiotoxicité chez les rats wistar sains, traduite par des changements au niveau du tissu cardiaque et accompagné de nécrose des cardiomyocyte, ils rapportent également que les effets néfastes obtenus dans cette étude sont dû à des doses non physiologiques d' $\alpha$ -T.

En 2018, Kanane et *al.*, ont obtenu des modifications histologiques rénales, à savoir, d'importantes congestions des vaisseaux sanguins, une infiltration sévère de cellules inflammatoires, des œdèmes, également une altération des tubules, y compris la formation de

nouveaux vaisseaux, lors du traitement des rats males wistar avec 5% d'huile de tournesol fortement oxydée supplémenté avec 1200 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment pendant 8 semaines.

Une étude histologique menée par EL-Haket *al.*,(2019) indique que l'examen histologique des reins de rats males albinos ayant reçus de la vitamine E avec une dose quotidienne de 500 mg d' $\alpha$ -T /kg de poids corporel pendant 30 jours, a montré une légère dilatation des tubules rénaux. Par contre, des traitements avec 1000 et 2000 mg d'alpha /kg de poids corporel ont induit des dommages modérés traduit par la dégénérescence et la dilatation des tubules circonvolués proximaux et distaux, les noyaux des cellules épithéliales de certains tubules proximaux ont montré un noyau pyknotique avec une condensation de chromatine et une légère atrophie de la touffe de glomérules. Aux cours de la même année, Rouaki et Kanane, ont trouvé que le traitement des rats de souche wistar avec 5% d'huile oxydée supplémenté avec 1200 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment a induit un changement histologique du tissu hépatique à savoir, des altération étendu des cellules et la présence de larges zones nécrosées.

Par contre, Dahdouh et *al.*,(2014),montre une réduction des lésions pathologiques et des altérations tissulaires induite par le Nickel après traitement de souris male Swiss albinos avec un régime contenant 2,7 g de nickel/kg d'aliment, supplémenter avec 1g de vitamine E/kg d'aliment pendant 4 semaines, ils ont déduit que la vitamine E atténuait efficacement la néphrotoxicité.

## **II.2. Effets de la supplémentation du régime standard en doses croissantes d' $\alpha$ -tocophérol sur quelques paramètres du stress oxydatif**

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 et du confinement imposé par l'Etat.

### **II.2.1. Effets de différentes doses d' $\alpha$ -tocophérol (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment) sur la teneur en protéines, sur l'activité de la catalase et le taux en MDA au niveau du tissu rénale**

Le stress oxydatif est un ensemble d'agressions affectant la cellule ainsi que ses constituants : organelles et moléculaires comme les protéines, les enzymes (exemple la

catalase), le MDA, ... ; ces paramètres biochimiques (les protéines, la catalase et le MDA) devaient être dosés mais comme cité plus haut, cela n'a pas pu se faire à cause du COVID 19, néanmoins nous allons essayer de prédire les résultats en se basant sur des études se rapprochant le plus possible de la nôtre.

D'après l'étude histologique que nous avons fait, on suppose que les rats traité avec 500 jusqu'à 850 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment n'ont pas été affectés par ces doses, au contraire ces doses ont eu un effet protecteur antioxydant, tandis ce que les rats traité avec 900 jusqu'à 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment montreront une baisse de leur paramètres biochimiques étudiés (protéines et Catalase) et une augmentation de leur marqueur oxydant (MDA).

#### A. Etude des lots RSE<sub>500</sub> au RSE<sub>750</sub>

Nous supposons que pour les lots RSE<sub>500</sub> au RSE<sub>750</sub>, nous n'aurions pas obtenu de variation importante de la teneur en protéines, de l'activité de la catalase et surtout aucune augmentation du taux en MDA par rapport au témoin, cette non variation est due probablement à l'effet antioxydant et protecteur de la vitamine E. En effet, Kontush et *al.*, (1996), ont définie l' $\alpha$ -T comme un antioxydant liposoluble capable de récupérer les radicaux libres dans un milieu hydrophobe ainsi, le principal mécanisme de son action antioxydant comprend l'inactivation d'un radical (R') par une molécule d' $\alpha$ -T. d'ailleurs Fang et *al.*, en 2002, ont énoncé que cette vitamine protège les lipoprotéines de faible densité, les protéines cellulaires et l'ADN des dommages oxydatifs en empêchant la peroxydation des AGPI dans les phospholipides membranaires. D'après Ben Saad et *al.*, (2017), l'augmentation de l'activité de la catalase est ainsi accompagnée avec une diminution du taux de MDA, vu qu'il est le produit terminale formé lors de la décomposition des AGPI médiée par les radicaux libres, nous déduisons que les doses administrées sont adéquates et qui ont eu un effet antioxydant.

En effet, Tappel, (1954), indique que la carence en vitamine E entraîne *in vivo* des changements des protéines catalytiques et structurales résultant de la réaction des produits d'oxydation des AGPI avec les protéines. De même une recherche réalisée par Ramsammy et *al.*, (1987), sur les reins des rats males Sprague-Dawley montre une diminution du taux de MDA dans le cortex rénal de rats traités avec 600 mg/kg/jour de vitamine E pendant 12 jours comparativement à celui de rats témoins, ils ont montré que la vitamine E seule est associée à une augmentation de l'activité de la catalase par rapport au témoin. Dix ans après, Alper et

*al.*, ont effectué une étude sur des rats Swiss males albinos afin d'évaluer le rôle protecteur de la vitamine E contre le stress oxydatif en mesurant l'activité enzymatique de la catalase dans différents tissus, les résultats obtenus après l'administration d'une dose de 50 mg/kg/jours pendant 25 jours a montré une augmentation importante de l'activité de la catalase par rapport au témoin. Ils ont admis que la vitamine E est un composant essentiel de la protection de ce tissu contre les lésions oxydatives.

En 2003, Ateşşahin et *al.*, ont observé une diminution importante des concentrations de MDA dans le foie, le cerveau et les reins chez les rats wistar traités avec 100 mg/kg de Vitamine E pendant 3 jours, avant l'induction d'un stress avec cyperméthrine (insecticide).

L'étude réalisée par Hajiani et *al.*, (2008), montre que la phase antioxydant se caractérise par une légère augmentation dans les concentrations plasmatique de la vitamine E, une diminution du taux de MDA avec une augmentation de l'activité de certains enzymes antioxydants (CAT ,GPX, SOD) après administration de 100,300, 600 mg/kg de vitamine E à des rats males adulte de souche Sprague-Dawley pendant 2,3,6 semaines.

Une autre étude réalisée par Misbahuddin et *al.*,(2013), qui avais pour but d'évaluer l'effet de la supplémentation en vitamine E sur le stress oxydatif induit par l'exposition aiguë et chronique au froid chez les rats males albinos de souche Sprague-Dawley, les auteurs de cette étude ont obtenu une augmentation importante de la concentration totale d'antioxydants, avec une diminution significative des niveaux de LPO chez les rats de contention chronique, et traités avec 33mg/kg de poids corporel de vitamine E comparativement à ceux qui n'ont pas été traité avec de la vitamine E. La même année, une étude réalisé par Rouaki et *al.*, sur le tissu cardiaque des rats males wistar suggère que l'administration d'une dose modérée d' $\alpha$ -T permet de rétablir l'équilibre antioxydant.

En 2014, Anbarkeh et *al.*, ont réaliser une étude qui avais pour objective d'évaluer l'effet protecteur de la vitamine E sur des rats male wistar supplémenté avec 200 mg/kg de vitamine E, cette dernier a réduit le taux d'MDA et a augmenté le taux de glutathion par rapport au témoin, ce qui est dû aux effet inhibiteur de la vitamine E sur le stress oxydatif et la peroxydation lipidique des tissus.

De même Kadiam et *al.*, (2015), ont montré que les dommages oxydatifs aux niveaux cérébrale et hépatique des poulets peuvent significativement être inversé par la



supplémentation en vitamine E en diminuant ainsi les dommages des protéines telle que la carbonylation, nitration, et aussi la coupure des brins d'ADN.

Enfin, les résultats obtenu par Kanane et *al.*, (2018), montrent une augmentation significative de l'activité enzymatique de la catalase avec une diminution du taux de MDA aux niveau du tissu rénale des rats males wistar traité avec 600 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment pendant 12 semaines.

### **B. Etude des lots RSE<sub>800</sub> au RSE<sub>1000</sub>**

Concernant les lots RSE<sub>800</sub> au RSE<sub>1000</sub>, nous prévoyons l'obtention d'un déséquilibre de la balance oxydant/antioxydant au niveau du tissu rénale, ce déséquilibre est caractériser par une baisse de la teneur en protéines rénale vue qu'elles sont connu comme des cibles importantes des dommages oxydatives médiés par les ERO, nous aurions également obtenu une diminution de l'activité enzymatique de la catalase, et une augmentation du taux en MDA. Ces résultats ont déjà été obtenu par Ben Saad et *al.*, (2017), qui explique clairement que la diminution de l'activité de la catalase est dû à l'anion superoxyde. Nous supposons que la vitamine E a joué pour ces doses un rôle pro-oxydant.

En 1997, Brown et *al.*, (1997), ont signalé que la vitamine E peut avoir une activité pro-oxydant chez les non- fumeurs recevant le supplément de 1050 mg d' $\alpha$ -T pendant 20 semaines, ces patients présentaient une susceptibilité accrue à la peroxydation ;de plus, une supplémentation prolongée en  $\alpha$ -T chez les non-fumeurs a induit une baisse de la concentration plasmatique d'ascorbate, en association avec une augmentation de l'absorption de vitamine E par les érythrocytes.

Eder et *al.*, en 2002 ont étudié l'effet de l'excès de vitamine E sur l'état antioxydant des érythrocytes des rats mâles Sprague-Dawley en croissance qui ont reçu un régimes alimentaire contenant une doses de vitamine E de 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment pendant 8 semaines. Les résultats obtenus suggèrent qu'un apport excessif en vitamine E, réduit l'activité des enzymes antioxydantes dans les érythrocytes.

De plus, Kiron et *al.*, (2004) ont observé une augmentation de la productions des anions superoxydes lors du traitement des truites arc –en –ciel (poisson) avec un régime équilibré et supplémenté avec 1000 mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment pendant 9 semaine, ces auteurs

ont montré que la forte dose en  $\alpha$ -T n'a pas servi en tant qu'antioxydant, mais comme pro-oxydant lors d'un stress oxydatif modéré.

Selon de Castro et *al.*, (2009), la diminution de l'activité enzymatique de la catalase est du probablement à une production accru d'ERO, et à leur accumulation intracellulaire qui dépasse la capacité de détoxification des enzymes antioxydants, ce qui entraîne le développement ultérieur de lésions tissulaires.

De même, Rouaki et *al.*, (2014), Kanane et *al.*, (2018) ainsi que Rouaki et Kanane, (2019), ont signalé que le groupe de rats males wistar soumis à un régime alimentaire contenant 5 % d'huile oxydée et supplémenté avec 1200 mg d' $\alpha$ T/kg d'aliment présente une diminution très significative de la CAT avec une augmentation significative du taux en MDA, au niveau hépatique, cérébral, et rénal.

En finalité, nous pouvons déduire que l' $\alpha$ -T aux doses de 800, 850, 900,950, 1000mg d' $\alpha$ -T/kg d'aliment a joué un rôle pro-oxydant, d'ailleurs Miller et *al.*, (2005), ont énoncé que l'effet pro-oxydant de la vitamine E sur les lipoprotéines de faible densité est lié à la production du radicale  $\alpha$ -T<sup>\*</sup>, qui peut être inhibé par des co-antioxydants tel que la vitamine C, ainsi des doses élevées de vitamine E peuvent perturber l'équilibre naturel des systèmes antioxydants et accroître la vulnérabilité aux dommages oxydatif.

# Conclusion et perspectives

### Conclusion

Dans la présente étude, nous avons évalué les effets de la supplémentation d'un régime équilibré en différentes doses d' $\alpha$ -T (500, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000 mg d'  $\alpha$ -T/kg d'aliment) sur les paramètres pondéraux (poids corporel et poids rénal), l'histologie du tissu rénal et le dosage de quelques paramètres du stress oxydatif (l'activité de la catalase, le taux en MDA et la teneur en protéines) chez des rats de souche wistar et ceci durant 12 semaines ; notons que les paramètres du stress n'ont malheureusement pas pu être réalisés à cause de la pandémie du COVID19.

Au terme de cette étude expérimentale, il ressort :

**Sur le plan de la croissance corporel :** nous avons obtenu une diminution non significative du taux d'évolution du poids corporel concernant les lots traités avec 500, 600, 650 et 700 mg d'  $\alpha$ -T/kg d'aliment, ce qui suggère que l' $\alpha$ -T joue un rôle protecteur (antioxydant) et que la croissance des rats n'a pas été affectée à des telles doses ; par contre pour les lots supplémentés avec des doses allant de 750 jusqu'à 1000 mg d'  $\alpha$ -T/kg d'aliment, nous avons obtenu une baisse significative à hautement significative du taux d'évolution du poids corporel, ceci peut être expliqué par le fait que ces doses ont eu un effet négatif sur la croissance des rats.

**Sur le plan du poids rénal :** aucune variation significative n'a été observée pour l'ensemble des lots supplémentés en  $\alpha$ -T, nous déduisons que les doses d' $\alpha$ -T administrés n'ont pas affecté le poids rénal.

**Sur le plan cellulaire :** l'étude histologique du lot RS, et les lots RSE<sub>500</sub> jusqu'à RSE<sub>750</sub> montre une architecture normale de l'ensemble du cortex rénal, avec des tubules contournés proximaux et distaux avec une lumière clairement visible dans la plupart des tubules corticaux, ainsi que des glomérules uniformes avec une membrane bien définie. Concernant les lots RSE<sub>800</sub>, jusqu'à RSE<sub>1000</sub>, nous avons obtenu des congestions vasculaires au niveau du cortex rénal, des atrophies glomérulaires, une altération des tubes contournés distaux et proximaux ainsi que des ectasies glomérulaires, ces observations indiquent que l' $\alpha$ -T a eu des effets néfastes (effet pro-oxydant) à de telles doses.

## Conclusion

---

**Sur le plan métabolique :** Nous supposons que pour les lots RSE<sub>500</sub> au RSE<sub>750</sub>, nous n'aurions pas obtenu de variations importantes de la teneur en protéines, de l'activité de la catalase et surtout aucune augmentation du taux en MDA par rapport au témoin, cette non variation est due probablement à l'effet antioxydant et protecteur de la vitamine E. Par contre pour la supplémentation avec des doses de 800 à 1000 mg d'  $\alpha$ -T/kg d'aliment, nous aurions trouvé probablement une diminution de la teneur en protéines ainsi que l'activité enzymatique de la catalase suivie d'une augmentation du taux en MDA, ce qui suggère un effet pro-oxydant de l' $\alpha$ -T à de telles doses.

Dans la présente étude, nous avons augmenté les niveaux d' $\alpha$ -T sans augmenté celle de l'ascorbate ce qui peut entraîner un excès d' $\alpha$ -T<sup>•</sup> qui ne peut plus être efficacement détoxifié par l'ascorbate, cela fournit la possibilité de la toxicité pro-oxydante d' $\alpha$ -T<sup>•</sup>. D'ailleurs Niki et Traber, (2012), indiquent que la combinaison du tocophérol et de l'ascorbate est très efficace pour inhiber presque complètement la LPO.

En finalité, nous pouvons fixer la dose 800 mgd' $\alpha$ -T/kg d'aliment comme étant celle pour laquelle l' $\alpha$ -T a basculé d'un effet antioxydant à un effet pro-oxydant.

A l'issu de ce travail plusieurs orientations d'études peuvent être envisagées :

- ❖ Doser l' $\alpha$ -T au niveau rénal par chromatographie en phase liquide a haut performance
- ❖ Doser les marqueurs d'oxydation (MDA, peroxyde d'hydrogène, radicale hydroxyle...)
- ❖ Doser les enzymes antioxydantes (Catalase, SOD, GPX)
- ❖ Etudier l'effet pro-oxydant de l' $\alpha$ -T au niveau d'autres organes (la rate, testicule, poumons...)
- ❖ Augmenter la durée du traitement.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

---

1. Abdo, K. M., Rao, G., Montgomery, C. A., Dinowitz, M., Kanagalingam, K. (1986). Thirteen-week toxicity study of d- $\alpha$ -tocopheryl acetate (vitamin E) in Fischer 344 rats. **Food and Chemical Toxicology**, 24(10-11), 1043–1050.
2. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. **Oxygen Radicals in Biological Systems**, 121–126.
3. Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases. **Joint Bone Spine**, 74(4), 324–329.
4. Ajjawi, I., Shintani, D. (2004). Engineered plants with elevated vitamin E: a nutraceutical success story. **Trends in Biotechnology**, 22(3), 104–107.
5. Al-Attar, A. M. (2011). Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 18(1), 63–72.
6. Al-Dalaen, S.M., Al-Qtaitat, A.I. (2014). Oxidative Stress versus Antioxidants. **American Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2 (5), 60-71.
7. Al-Gubory, K.H. (2014). Environmental pollutants and lifestyle factors induce oxidative stress and poor prenatal development. **Reproductive BioMedicine Online**, 29(1), 17–31.
8. Alper, G., Çinar, M., Can, C., Menteş, G., Ersöz, B., Evinç, A. (1998). The Effects of Vitamin E on Catalase Activities in Various Rat Tissues. **Tr. J. of Medical Sciences**, 28(2), 127-132
9. Anbarkeh, F.R., Nikraves, M.R., Jalali, M., Sadeghnia, H.R., Sargazi, Z., Mohammadzadeh, L. (2014). Single dose effect of diazinon on biochemical parameters in testis tissue of adult rats and the protective effect of vitamin E. **Iran J Reprod Med**, 12(11): 731–736.
10. Araoud, M., Neffeti, F., Douki, W., Khaled, L., Najjar, M. F., Kenani, A., & Houas, Z. (2014). Toxic effects of methamidophos on paraoxonase 1 activity and on rat kidney and liver and ameliorating effects of alpha-tocopherol. **Environmental Toxicology**, 31(7), 842–854.

## Références bibliographiques

---

11. Ateşşahin, A., Yilmaz, S., Karahan, İ., Pirinçci, İ., Taşdemir, B. (2003). The Effects of Vitamin E and Selenium on Cypermethrin-Induced Oxidative Stress in Rats. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**.
12. Avery, S.V. (2011). Molecular targets of oxidative stress. **Biochemical Journal**, 434(2), 201–210.
13. Azzi, A., Stocker, A. (2000). Vitamin E: non-antioxidant roles. **Progress in Lipid Research**, 39(3), 231–255.
14. Badgular, P. C., Pawar, N. N., Chandratre, G. A., Telang, A. G., Sharma, A. K. (2015). Fipronil induced oxidative stress in kidney and brain of mice: Protective effect of vitamin E and vitamin C. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 118, 10–18.
15. Bakır, T., Yıldıoğan Beker, B., Sönmezoğlu, İ., İmer, F., Apak, R. (2013). Antioxidant and prooxidant effects of  $\alpha$ -tocopherol in a linoleic acid-copper(II)-ascorbate system. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 115(3), 372–376.
16. Baskaran, R., Priya, L. B., Kalaiselvi, P., Poornima, P., Huang, C.-Y., Padma, V. V. (2017). Neferine from *Nelumbo nucifera* modulates oxidative stress and cytokines production during hypoxia in human peripheral blood mononuclear cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 93, 730–736.
17. Beaudoux, J.-L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., & Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. **Immuno-Analyse & Biologie Spécialisée**, 21(3), 144–150.
18. Ben Saad, H., Kammoun, I., Zeghal, K.H.M., Ben Amara, I., Magné, C., Hakim, A. (2017). Effets du selenium sur le stress oxydant au niveau des reins de rats traités par le tebuconazole. **J.I. M. Sfax**, 35-42.
19. Bensakhria, A. (2015). Stress Oxydatif. **Analytical Toxicology**, 70-86.
20. Bentinger, M., Tekle, M., & Dallner, G. (2010). Coenzyme Q – Biosynthesis and functions. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 396(1), 74–79.



## Références bibliographiques

---

21. Berger, M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, 20(1), 48–53.
22. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **World Allergy Organization Journal**, 5(1), 9–19.
23. Bonnet, J. (2005). Athérosclérose. **EMC - Cardiologie-Angéiologie**, 2(4), 436–458.
24. Bowry, V. W., Ingold, K. U., & Stocker, R. (1992). Vitamin E in human low-density lipoprotein. When and how this antioxidant becomes a pro-oxidant. **Biochemical Journal**, 288(2), 341–344.
25. 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. **Journal of the American Chemical Society**, 115(14), 6029–6044.
26. Brigelius-Flohé, R., Traber, M. G. (1999). Vitamin E: function and metabolism. **The FASEB Journal**, 13(10), 1145–1155.
27. Brown, K. M., Morrice, P. C., & Duthie, G. G. (1997). Erythrocyte vitamin E and plasma ascorbate concentrations in relation to erythrocyte peroxidation in smokers and nonsmokers: dose response to vitamin E supplementation. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 65(2), 496–502.
28. Cassano, R. (2012). Vitamin E chemistry, biological activity and benefits on the skin. **Human Health Handbooks No, 1**, 144–163.
29. Castaldo, S. A., da Silva, A. P., Matos, A., Inácio, Â., Bicho, M., Medeiros, R., ... Bicho, M. C. (2014). The role of CYBA (p22phox) and catalase genetic polymorphisms and their possible epistatic interaction in cervical cancer. **Tumor Biology**, 36(2), 909–914.
30. Cillard, J., Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. **Oléagineux, Corps Gras, Lipides**, 13(1), 24–29.
31. Colombo, M.L. (2010). An Update on Vitamin E, Tocopherol and Tocotrienol-Perspectives. **Molecules**, 15(4), 2103–21.

## Références bibliographiques

---

32. Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L. (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. **Annales de Médecine Vétérinaire**, 147, 315-324.24.
33. Dahdouh, F., Djabar, M.R., Kechrid, Z. (2014). Vitamins C and E Combination Potentially Prevented Oxidative Stress Mediated Liver Injury in Nickel Intoxicated Mice. **Global Veterinaria**, 13 (6),938-946.
34. 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.
35. Davis, P. B. (2006). Cystic Fibrosis Since 1938. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, 173(5), 475–482.
36. de Castro, M.A.C., Cavalcanti Neto, F.F., Lima, L.M.C., da Silva, F.M., de Oliveira, R.J., Zanesco. A. (2009). Production of free radicals and catalase activity during acute exercise training in young men.**Biology of Sport**, 26(2), 114-118.
37. Draper, H. H., Squires, E. J., Mahmoodi, H., Wu, J., Agarwal, S., & Hadley, M. (1993). A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials.**Free Radical Biology and Medicine**, 15(4), 353–363.
38. Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. **Cahiers de Nutrition et de Diététique**, 48(5), 218–224.
39. Edeas, M. (2009). Anti-oxydants, controverses et perspectives : comment expliquer l'échec des études cliniques utilisant des anti-oxydants. **Journal de La Société de Biologie**, 203(3), 271–280.
40. Eder, K., Flader, D., Hirche, F., & Brandsch, C. (2002). Excess Dietary Vitamin E Lowers the Activities of Antioxidative Enzymes in Erythrocytes of Rats Fed Salmon Oil. **The journal of Nutrition**, 132(11), 3400-3404

## Références bibliographiques

---

41. El-Hak, H.N.G., ELaraby, E.E., Hassan, A.K., Abbas, O.A. (2019). Study of the toxic effect and safety of vitamin E supplement in male albino rats after 30 days of repeated treatment. **Heliyon**, 5(10), e02645.
42. Elisia, I., Young, J. W., Yuan, Y. V., & Kitts, D. D. (2013). Association between tocopherol isoform composition and lipid oxidation in selected multiple edible oils. **Food Research International**, 52(2), 508–514.
43. Fang, Y.-Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, 18(10), 872–879.
44. Favier, A. (2003). Le stress oxydant. **L'actualité chimique**, 108.
45. Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, 64(6), 390–396.
46. Favreau, F., Giraud, S., Bon, D., Chatauret, N., Thuillier, R., & Hauet, T. (2013). L'ischémie reperfusion. **Médecine/sciences**, 29(2), 183–188.
47. Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative Stress. **Sports Medicine**, 36(4), 327–358.
48. Fryer, M. J. (1997). Vitamin E may slow kidney failure owing to oxidative stress. **Redox Report**, 3(5-6), 259–261.
49. Galaz, G.B., Kim, S.S., Lee, K.J. (2010). Effects of Different Dietary Vitamin E Levels on Growth Performance, Non-specific Immune Responses, and Disease Resistance against *Vibrio anguillarum* in Parrot Fish (*Oplegnathus fasciatus*). **Asian-Aust. J. Anim. Sci**, 23(7), 916 – 923.
50. Garrido-Polonio, C., García-Linares, M. C., García-Arias, M. T., López-Varela, S., García-Fernández, M. C., Terpstra, A. H. M., & Sánchez-Muniz, F. J. (2004). Thermally oxidised sunflower-seed oil increases liver and serum peroxidation and modifies lipoprotein composition in rats. **British Journal of Nutrition**, 92(02), 257.

## Références bibliographiques

---

51. Gilbert, T., Drai, J., & Bonnefoy, M. (2013). Stress oxydant et maladie d'Alzheimer. **Traité Sur La Maladie d'Alzheimer**, 175–194.
52. Gill, S.S., Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, 48(12), 909–930.
53. Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, 11(2), 115–120.
54. Guillard, J.-C. (2011). Les interactions entre les vitamines A, D, E et K : synergie et/ou compétition. **Oléagineux, Corps Gras, Lipides**, 18(2), 59–67.
55. Gutteridge, J. M. C., & Halliwell, B. (1989). Iron toxicity and oxygen radicals. **Baillière's Clinical Haematology**, 2(2), 195–256.
56. Gülçin, İ. (2011). Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, 86(3), 345–391.
57. Hajiani, M., Golestani, A., Sharifabrizi, A., Rastegar, R., Payabvash, S., Salmasi, A.H., Dehpour, A.R., Psalar, 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.
58. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J-O., Charlier, C., Chapelle, J-P. (2007). Le stress oxydant. **Rev Med Liege**, 62 (10), 628-638.
59. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (2015). Free radicals in biology and medicine. 4th E
60. Heerspink, H. J.L., Rabelink, T.J., de Zeeuw, D. (2015). Albuminuria: A Target for Treatment in Diabetic and non- Diabetic Nephropathy. **In chronic Renal Disease** (pp. 663-673). Academic Press.
61. Holmström, K. M., & Finkel, T. (2014). Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. **Nature ReviewsMolecularCellBiology**, 15(6), 411–421.
62. Jadot, G. (1981). Le rat de laboratoire. **Réactifs biologie**. Paris : Masson 115p.

## Références bibliographiques

---

63. Jenkins, M. Y., & Mitchell, G. V. (1975). Influence of Excess Vitamin E on Vitamin A Toxicity in Rats. **The Journal of Nutrition**, 105(12), 1600–1606.
64. Jensen, S.K., Lauridsen, C. (2007).  $\alpha$ - Tocopherol Stereoisomers. **Vitamins & Hormones**, 76, 281–308.
65. Juhász né Tóth, R., Csapó, J. (2018). The role of selenium in nutrition –A review. **Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria**, 11(1), 128–144.
66. Kabel, A.M. (2014). Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. **World Journal of Nutrition and Health**, 2(3), 35-38.
67. Kadiam, C., Venkata, S., Lokanatha, V., Wudayagiri, R., Chiteti, R., Chinnasamy, T., Rajagopal, S. (2015). Newcastle disease virus (NDV) induces protein oxidation and nitration in brain and liver of chicken: Ameliorative effect of vitamin E. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 64: 97-106.
68. Kamal-Eldin, A., Appelqvist, L.Å. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, 31(7), 671–701.
69. Kanane, A., Rouaki, F., Errahmani, M.B., Laraba, A., Mesbah, H., Ammouche, A. (2018). Pro-oxidant effects of a high  $\alpha$ -tocopherol dose on kidney antioxidant biomarkers and histopathological aspects. **Int. J. Vitam. Nutr. Res** , 1-12.
70. Kasai, S., Ito, A., Shindo, K., Toyoshi, T., Bando, M. (2015). High-Dose  $\alpha$ -Tocopherol Supplementation Does Not Induce Bone Loss in Normal Rats. **PLOS ONE**, 10(7), 1-13.
71. Khalil, A. (2002). Mécanisme moléculaire de l'effet protecteur de la vitamine E dans l'athérosclérose. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, 80(7), 662–669.
72. Kiron, V., Puangkaew, J., Ishizaka, K., Satoh, S., & Watanabe, T. (2004). Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources. **Aquaculture**, 234(1-4), 361–379.
73. Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, 20(4), 165–177.

## Références bibliographiques

---

74. Kontush, A., Finckh, B., Karten, B., Kohlschu, A., Beisiegel, U. (1996). Antioxidant and prooxidant activity of  $\alpha$ -tocopherol in human plasma and low density lipoprotein. **Journal of Lipid Research**, 37, 1436-1448.
75. Kuciel-Lewandowska, J., Kasperczak, M., Bogut, B., Heider, R., Laber, W. T., Laber, W., & Paprocka-Borowicz, M. (2020). The Impact of Health Resort Treatment on the Nonenzymatic Endogenous Antioxidant System. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2020, 1–9.
76. Kurutas, E. B. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. **Nutrition Journal**, 15(1), 1-22.
77. Kutlubay, R., Oğuz, E. O., Güven, C., Can, B., Sinik, Z., & Tuncay, Ö. 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(2), 95–101.
78. Landrier, J.-F. (2011). Vitamine E et physiologie du tissu adipeux. **Oléagineux, Corps Gras, Lipides**, 18(2), 83–87.
79. Lawani, R. ., Pommier, S. ., Roux, L., Chazalon, E. ., Meyer, F. (2007). Magnitude et strategies de prise en charge de la cataracte dans le monde. **Médecine tropicale**. 67(7), 644-6
80. Lee, J., Koo, N., & Min, D. B. (2004). Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 3(1), 21–33.
81. Leger, C.-L. (2000). La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardio-vasculaire, biodisponibilité. **Oléagineux, Corps Gras, Lipides**, 7(3), 258–265.
82. Leverve, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ?. **Cahiers de Nutrition et de Diététique**, 44(5), 219–224.
83. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 193, 265-275.
84. Magdy, B. W., Mohamed, F. E., Amin, A. S., Rana, S. S. (2016). Ameliorative effect of antioxidants (vitamins C and E) against abamectin toxicity in liver, kidney and testis of male albino rats. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, 77, 69–82.

## Références bibliographiques

---

85. Maiorino, M., Zamburlini, A., Roveri, A., Ursini, F. (1993). Prooxidant role of vitamin E in copper induced lipid peroxidation. **FEBS Letters**, 330(2), 174–176.
86. Mandelker, L. (2008). Introduction to Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 38(1), 1–30.
87. March, B.E., Wong, E., Seier, L., Sim, J., & Biely, J. (1973). Hypervitaminosis E in the Chick. **The Journal of Nutrition**, 103(3), 371–377.
88. Marreiro, D., Cruz, K., Morais, J., Beserra, J., Severo, J., & de Oliveira, A. (2017). Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. **Antioxidants**, 6(2), 24.
89. Martoja, R., Martoja-pierson, M. (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. **Paris : Masson**.345.
90. Massion, P., Preiser, J.-C., & Balligand, J.-L. (2002). Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères ?. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, 16(4), 248–252.
91. Matés, J.M., Sánchez-Jiménez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. **Frontiers in Bioscience**, (4), 339-345.
92. Mehrad, B., Jafaryan, H., Taati, M.M. (2012). Assessment of the effects of dietary vitamin E on growth performance and reproduction of zebrafish, *Danio rerio* (Pisces, Cyprinidae). **Journal of Oceanography and Marine Science**, 3(1), 1-7.
93. Menvielle-Bourg, F. J. (2005). La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. **Phytotherapie**, 3(3), 118–121.
94. Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Draï, J., Théron, P. (2008). Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques. **Ann Biol Clin**, 66 (6), 605-20.
95. Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. **Médecine/sciences**, 27(4), 405–412.
96. Miller, E. R., Pastor-Barriuso, R., Dalal, D., Riemersma, R. A., Appel, L. J., Guallar, E. (2005). Meta-Analysis: High-Dosage Vitamin E Supplementation May Increase All-Cause Mortality. **Annals of Internal Medicine**, 142(1), 37.

## Références bibliographiques

---

97. Misbahuddin, M., Mohiuddin, M., Wali, M.A. (2013). Protective effect of vitamin E treatment on cold restraint induced oxidative stress in rats. **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**, 3 (4), 116-120.
98. Miyazawa, T., Burdeos, G.C., Itaya, M., Nakagawa, K., Miyazawa, T. (2019). Vitamin E: Regulatory Redox Interactions. **IUBMB Life**, 1-12.
99. Morel, Y., & Barouki, R. (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. **Biochemical Journal**, 342(3), 481–496.
100. Moukette, B. M., Pieme, C. A., Njimou, J. R., Biapa, C. P. N., Marco, B., & Ngogang, J. Y. (2015). In vitro antioxidant properties, free radicals scavenging activities of extracts and polyphenol composition of a non-timber forest product used as spice: *Monodora myristica*. **Biological Research**, 48(1).
101. Muchlisin, Z. A., Arisa, A. A., Muhammadar, A. A., Fadli, N., Arisa, I. I., & 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). **Archives of Polish Fisheries**, 24(1), 47-52.
102. 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.
103. 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  $\alpha$ -T induce cardiotoxicity in Wistar rats determined by echocardiography and histology. **Human and Experimental Toxicology**. 30(10), 1540-1548.
104. Nekoubin, H., Hosseynzadeh, M., Imanpour, M.R., Asgharimoghadam, A., Raki, M., Montajami, S. (2012). Effect of Vitamin E ( $\alpha$ -Tocopheryl) on Growth and Reproductive Performance and Survival Rate of Angel Fish (*Pterophyllum scalare*). **World Journal of Zoology**. 7 (4): 285-288.



## Références bibliographiques

---

105. Nicole, S. (1999). France Désilets MOA, audiologiste institute Raymond-Dewar.
106. Nie, B., Gan, W., Shi, F., Hu, G.X., Chen, L.G., Hayakawa, H., Cai, J.P. (2013). Age-Dependent Accumulation of 8-Oxoguanine in the DNA and RNA in Various Rat Tissues. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2013, 1-9.
107. Niki, E., Traber, M.G. (2012). A History of Vitamin E. **Annals of Nutrition and Metabolism**, 61(3), 207–212.
108. Nockels, C.F., Menge, D.L., Kienholz, E.W. (1976). Effects of excessive dietary vitamin E on the chick. **Poultry Sci**, 55:649-652.
109. Noori, S. (2012). An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. **Open Access Scientific Reports**, 1(8), 1-8.
110. Olorunnisola Olubukola, S., Ajayi Ayodeji, F., Okeleji Lateef, O., Oladipo Abimbola, A., Emorioloye Johnson, T. (2019) Vitamins as Antioxidants. **Journal of Food Science and Nutrition Research**, 2 (3), 214-235.
111. Omura, T. (2010). Structural diversity of cytochrome P450 enzyme system. **Journal of biochemistry**, 147(3), 297-306.
112. Ortuño, J., Esteban, M. , & Meseguer, J. (2000). High dietary intake of  $\alpha$ -tocopherol acetate enhances the non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, 10(4), 293–307.
113. Otani, H., Mune, M., Yukawa, S., Smith, D., Meydani, M., & Blumberg, J. (1999). Vitamin E treatment of experimental glomerular disease in rats. **Kidney International**, 56, S66–S69.
114. Pandey, K.B., Rizvi, S.I. (2009). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2(5), 270–278.
115. Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. **Revue Française Des Laboratoires**, 1995(276), 87–92.
116. Pastre, J., Priymenko, N. (2007). Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. **Revue de Médecine Vétérinaire**, 1 (4). 180-189.

## Références bibliographiques

---

117. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2014). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, 30(1), 11–26.
118. Piechota-Polanczyk, A., & Fichna, J. (2014). Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, 387(7), 605–620.
119. Pilař, J., Šlouf, M., Michálková, D., Šloufová, I., Vacková, T., Dybal, J. (2017). Pro-oxidant activity of  $\alpha$ -tocopherol during photooxidative degradation of polyolefins. ESRI and IR microspectroscopy studies. **Polymer Degradation and Stability**, 138, 55–71.
120. Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J.-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, 16(4), 233–239.
121. Pisoschi, A.M., Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 97, 55–74.
122. Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2013, 1–11.
123. Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. **Physiological Reviews**, 88(4), 1243–1276.
124. Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. **Clinical Interventions in Aging**, 2(2), 219–236.
125. Rahman, T., Hosen, I., Islam, M., Shekhar, H. (2012). Oxidative stress and human health. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, 3, 997-1019.
126. Ramsammy, L. S., Josepovitz, C., Ling, K.-Y., Lane, B. P., Kaloyanides, G. J. (1987). Failure of inhibition of lipid peroxidation by vitamin E to protect against gentamicin nephrotoxicity in the rat. **Biochemical Pharmacology**, 36(13), 2125–2132.

## Références bibliographiques

---

127. Rietjens, I.M.C. M., Boersma, M.G., De Haan, L., Spenkelink, B., Awad, H. M., Cnubben, N. H. P., Van Zanden, J.J., Van der Woude, H., Alink, J.M., Koeman, J.H. (2002). The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 11(3-4), 321–333.
128. Rigotti, A. (2007). Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E. **Molecular Aspects of Medicine**, 28(5-6), 423–436.
129. Rostan, E.F., DeBuys, H.V., Madey, D.L., Pinnell, S.R. (2002). Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin. **International Journal of Dermatology**, 41(9), 606–611.
130. Rouaki, F., Kanane, A. (2019). Modifications biochimiques et histologiques du foie de rat soumis a un régime contenant une huile oxydée et supplémenté en vitamine E. **Revue Agrobiologia**, 9(1): 1188-1199.
131. Rouaki, F., Mazari, A., Kanane, A., Errahmani, M.B., Ammouche, A. (2013). Cardiotoxicity Induced by Dietary Oxidized Sunflower Oil in Rats: Pro- and Antioxidant Effects of  $\alpha$ -Tocopherol. **Int. J. Vitam. Nutr. Res**, 83 (6), 367–376.
132. Seifi, B., Kadkhodae, M., Karimian, S.M., Zahmatkesh, M., Shams, S., Bakhshi, E. (2009). Reduction of Kidney Damage by Supplementation of Vitamins C and E in Rats with Deoxycorticosterone-Salt-Induced Hypertension. **Iranian Journal of Kidney Diseases**, 3(4), 197-202.
133. Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., Cillard, J. (2001). Alcool et stress oxydatif. **Pathologie Biologie**, 49(9), 689–695.
134. Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, 2012, 1–26.
135. Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, 82(2), 291–295.
136. Sinha, S., Chakraborty, A., Mondal, C., & K Chandra, A. (2018). Effect of vitamin e acetate supplementation on thyroid hormone-sensitive organs following exogenous l-thyroxine treatment. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, 11(4), 123.

## Références bibliographiques

---

137. Stocker, R. (1999). The ambivalence of vitamin E in atherogenesis. **Trends in Biochemical Sciences**, 24(6), 219–223.
138. Suárez-Jiménez, G., López-Saiz, C., Ramírez-Guerra, H., Ezquerra-Brauer, J., Ruiz-Cruz, S., & Torres-Arreola, W. (2016). Role of Endogenous and Exogenous Tocopherols in the Lipid Stability of Marine Oil Systems. **International Journal of Molecular Sciences**, 17(12), 1968.
139. Tappel, A. L. (1954). Studies of the mechanism of vitamin E action. II. Inhibition of unsaturated fatty acid oxidation catalyzed by hematin compounds. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 50(2), 473–485.
140. Tbahriti, H. F., Messaoudi, A., Kaddous, A., Bouchenak, M., & Mekki, K. (2014). Le degré de l'insuffisance rénale chronique est associé aux taux de cytokines pro-inflammatoires, à l'hyperhomocystéinémie et au stress oxydant. **Annales de Cardiologie et d'Angéiologie**, 63(3), 135–138.
141. Tessier, F., Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. **Science et Sports**, 10(1), 1–13.
142. Théron, P. (2003). Le sélénium: Un oligo-élément essentiel pour la santé humaine. **Cahiers de nutrition et de diététique**, 38(4), 250-256.
143. Therond, P. (2006). Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, AND) par le stress oxydant. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, 64(6), 383–389.
144. Tinggi, U. (2008). Selenium: its role as antioxidant in human health. **Environmental Health and Preventive Medicine**, 13(2), 102–108.
145. Traber, M.G., Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. **Free Radical Biology and Medicine**, 43(1), 4–15.
146. Turrens, J. F., Freeman, B. A., Levitt, J. G., & Crapo, J. D. (1982). The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 217(2), 401–410
147. Vamecq, J., Vallee, L., Storme, L., Gele, P., Bordet, R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. **La lettre du pharmacologue (Boulogne)**, 18 (1), 16-23.

## Références bibliographiques

---

148. Vik, S., & Capaldi, R. (1977). Lipid requirements for cytochrome c oxidase activity. **Biochemistry**, 16(26), 5755–5759.
149. Wheldon G. H., Bhatt A., Keller P. & Hummler H. (1983). d,l- $\alpha$ -tocopheryl acetate (vitamin E): a long term toxicity and carcinogenicity study in rats. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, 53, 287.
150. Yang, N.Y. J., Desai, I.D. (1977). Effect of High Levels of Dietary Vitamin E on Hematological Indices and Biochemical Parameters in Rats. *The Journal of Nutrition*, 107(8), 1410–1417

# Annexes

## Annexes

### Annexe 01

**Tableau I** : Constitution du régime alimentaire (g/100g)

Ingrédient	RS	RSE	RSE	RSE	RSE	RSE	RSE	RSE	RSE	RSE	RSE
		500	600	650	700	750	800	850	900	950	1000
Mais	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8	52.8
Son	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8
Soja	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1	32.1
Calcaire	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 minarleaux- vitaminique	02.0	02.0	02.0	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	0.850	0.09	0.095	0.01

**Mélange minérale contenu dans 100g d'aliment :**  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  20,0 mg ;  $\text{CaCO}_3$  34,6mg ;  $\text{CaHPO}_4$  26,55mg ; 13,70 mg de NaCl ; 3,42mg de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0,042mg ;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0,27mg ;  $7\text{H}_2\text{O}$  1,02mg  $\text{FeSO}_4$  ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.15mg ;  $\text{CaCO}_3$  0,0008 mg ; Ki 0,0016mg

**Mélange vitaminique contenu dans 100g d'aliment :** vitamine A 19,800 UI ; D3 2,500 mg ; B1 20mg ; B2 15mg ; B3 70mg ; B6 10mg ; B7 150mg ; B12 0.05mg ; C 800mg ; E (dl- $\alpha$ -tochopherol acétate ) 170 mg ; K3 40mg ; PP100 mg ; chlorure de choline 1,360mg ; acide folique 5mg ; AcPAB 50mg ; 0,3 mg de biotine.

## **Annexe 02 :**

### **I.1. verrerie et autres :**

- Pissette.
- Compresse.
- Lame de bistouri.
- Ciseaux.
- Pince.
- Flacons.
- Micropipette (10µl a 1000 µL).
- Pipette graduer ( 1ml, 5ml, 10ml).
- Tubes a essai.
- Tubes en verre
- Portoirs
- Becher de 50 ml et 250 ml,
- Erlenmeyer de 250 ml
- Cuve de spectrométrie
- Boites de pétri
- Lame et lamelle
- Embouts de contenance de 1000 µl.
- Embouts de contenance de 200 µl.
- Spatule
- Entonnoir.
- Papier absorbant.
- Cassette d'inclusion.

### **I.2. réactives chimiques**

- Vitamine E.
- Ether éthylique.
- Triton X-100.
- Acide trichloroacétique
- Alcool
- Hydroxyde de sodium NaOH
- Tartrate de Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>



## Annexes

---

- Sulfate de cuivre  $\text{CuSO}_4$
- Sulfate de carbonate de sodium  $\text{Na}_2 \text{CO}_3$
- Folin ciocalteu.
- Phosphate de potassium monobasique  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- Butyle-hydroxtoluene BHT
- Phosphate disodique  $\text{Na}_2 \text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- Peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$
- L'eau distillé

### I.3. Appareillage

Appareillage nessecaire pour le dosage des paramètres du stress oxydatives sont :

- Broyeur homogénéiseure (Potter de Thomas)
- Balance de précision (KERN)
- Centrifugeuse (Hettich EBA20)
- Spectrophotomètre UV- visible (Shimadzu UV-1601)
- Bain-marie ( SLEE MAINZ)
- Agitateur (VELP SCIENTIFICA)
- Vortex (VWR VV3)
- PH mètre
- Réfrigérateur (Samsung)
- Automate de traitement des tissus (Leica)
- Automate de coloration des lames ( SLEE MAINZ)
- Module de refroidissement de paraffine ( SLEE MAINZ)
- Microtome (Leica)
- Plaque chauffante ( SLEE MAINZ)
- Etuve (BINDER)
- Distilateur
- Microscope optique (OPTICA)
- Appareil photo (Leica)
- Application EZ (LASEZ)

## Annexes

---

### Annexe 03 :

Préparation des solutions de dosages des protéines

**Solution A** : préparée par mélange des trois solutions suivants :

- 0.5ml de la solution de tartrate de  $Na^+$ ,  $K^+$  a 2% (p/v)
- 0.5ml de la solution de sulfate de cuivre  $CuSO_4$  a 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 04 :

Préparation des solutions de dosage de la catalase

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

- Dissoudre 6,81g de  $KH_2PO_4$  dans de l'eau distillée est complété à 1000ml **(a)**
- Dissoudre 8,82g de  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  dans de l'eau distillée est compléter a 100ml **(b)**
- Mélanger 1ml de la solution (a) avec 1,5ml de la solution (b)
- Ajuster le pH=7

**Solution II : peroxyde d'hydrogène (30 mM)**

- Diluer 0.34ml de  $H_2O_2$  a 30% avec la solution I jusqu'à 100ml

## Annexes

### Annexe 5 :

**Tableau II** : la variation du taux d'évolution du poids corporel et le poids rénale chez les rats wistar. (témoin : RS, supplémenter en 500 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>500</sub>, 600 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>600</sub>, 650 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>650</sub> , 700 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>700</sub>, 750 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>750</sub> , 800 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>800</sub> , 850 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>850</sub> , 900 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>900</sub> , 950 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>950</sub> 1000 mg d' $\alpha$ -T/ kg d'aliment : RSE<sub>1000</sub> ).

Lots	Taux d'évolution du poids corporel	Poids rénal (g)
RS	115% $\pm$ 28%	1,36 $\pm$ 0,15
RSE <sub>500</sub>	100% $\pm$ 22%	1,2 $\pm$ 0,17
RSE <sub>600</sub>	101% $\pm$ 22%	1,26 $\pm$ 0,30
RSE <sub>650</sub>	110% $\pm$ 26%	1,50 $\pm$ 0,10
RSE <sub>700</sub>	102% $\pm$ 26%	1,53 $\pm$ 0,11
RSE <sub>750</sub>	89% $\pm$ 20%	1,33 $\pm$ 0,25
RSE <sub>800</sub>	73% $\pm$ 18%	1,33 $\pm$ 0,11
RSE <sub>850</sub>	70% $\pm$ 14%	1,36 $\pm$ 0,20
RSE <sub>900</sub>	77% $\pm$ 18%	1,43 $\pm$ 0,05
RSE <sub>950</sub>	72% $\pm$ 17%	1,33 $\pm$ 0,15
RSE <sub>1000</sub>	79% $\pm$ 18%	1,46 $\pm$ 0,20