

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur 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 NATIONALE DES PRODUITS PHARMACEUTIQUES ET
TOXICOLOGIQUES

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE MASTER EN SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUES

OPTION : BIOCHIMIE

THEME

**L'évaluation sur culture cellulaire de l'effet
photoprotecteur du thé vert**

Présenté par :

M^{elle} Ayad meriem et M^{me} Belaribi chafika

Soutenu le:30/09/2020

Devant le jury :

Présidente M^{me}	Saidi F.	Pr	USDB-1
Examinatrice M^{me}	Touaibia M.	MCA	USDB-1
Promoteur M^r	Chader H.	Pr	LNCPP
Co-Promotrice M^{me}	Drouche I.		USDB-1

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2019/2020

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant de nous avoir données La santé, la puissance la volonté pour réaliser ce mémoire

Nous avons eu la chance et plaisir d'effectuer ce travail de recherche à la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Saad Dahleb -1-, ce pendant, nous tenons à remercier tous les enseignant sans exception et surtout de notre spécialité biochimie : « **M^{me} Saidi, M^{me} Drouche, M^{me} Touaibia** » .

- Nos remerciements vont également à :
- Notre encadreur d'avoir accepte nous encadre pour son suivie et ses orientations .
- Le président du jury et les membres du jury pour l'honneur que nous ont fait pour évaluer notre travail.

J'exprime ma profonde gratitude au professeur « **Chader.Henni** » pour son précieux conseil au laboratoire ainsi que pour l'intérêt et le soutien chaleureux dont il a toujours fait preuve un personnage exceptionnel qui nous a transmis la passion de la science, Je prie le miséricordieux de l'accueillir dans son vaste paradis.

Nous adressons, notre profonde gratitude et tout notre amour à nos sœurs et frères, oui ont su nous faire confiance nous soutenir en toutes circonstances, Et toute les professeurs qui nous ont enseigné à la cour de notre cursus universitaire.

Enfin, à tous ceux et celles qui nous ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette étude on présent nos remerciements et notre gratitude.

Un grand merci a tous

Meriem et Chafika

Dédicaces

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

A mes très chers parents :

Pour tous leurs sacrifices, leur patience, soutien et leurs prières tout au long de mes études vous étiez toujours là pour m'écouter, me réconforter et m'encourager dans les moments de doute, tous les mots ne suffiraient pas Qu'Allah le Tout Puissant vous procure, santé et longue vie.

A mes chères frères et ma chère sœur Imen, Rahma, wissem, Amina
Pour leurs encouragements permanents, leur affection et leur soutien moral je Vous souhaite beaucoup de succès.

A la mémoire de mon cher grand-père maternel, la mémoire de mes deux grand'mères
Qui ont été toujours dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

Meriem

Dédicaces

Je commence mes dédicaces au nom du dieu et le salut sur Mohammed le messager de dieu

A **mon cher mari** qui a me pousse dans mes choix, et qui m'encourage toujours à aller plus loin, ta patience m'a toujours égaye même dans les moments les plus durs, sans toi je ne serai pas arrivée jusque la.

que vous dire « **mon cher bébé youcef** », mon fis j'aime beaucoup

Merci à mes proches notamment **mes sœurs**, ma belle famille mes amis pour votre présences à mes cotes

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude à **mestres chers parent** en témoignage de ma reconnaissance pour leur patience leurs sacrifices et leur soutien, tout au long de mes études qu'Allah leur prête santé a

Chafika

Résumé

La présente étude a pour objectif d'évaluer l'effet photoprotecteur (antioxydant) de thé vert et comparé par l'activité antioxydant de vitamine C ,lors un stress oxydant engendré par l'exposition de les deux lignées RD et HP2 aux rayonnements UVB / UVA avec une dose phototoxique correspondante à une durée de irradiation de 3 heures

L'activité antioxydant de thé vert est mise en évidence par l'estimation de la viabilité cellulaire (rouge neutre).

Au terme de cette étude. Les principaux résultats obtenus elle est confirmé le pouvoir photoprotecteur de thé vert, qui maintient la viabilité cellulaire, Où il a fournée la protection des cellules irradiées contre le stress oxydant.

Mots clés : photoprotecteur, thé vert, UVA, UVB, phototoxique, viabilité cellulaire, lignées cellulaire RD / HP2

Abstract :

The present study aims to evaluate the photoprotective effect (antioxidant) of green tea and compared by the antioxidant activity of vitamin C, during an oxidative stress generated by the exposure of the two lines RD and HP2 to UVB / UVA radiation with a phototoxic dose corresponding to an irradiation period of 3 hours.

The antioxidant activity of green tea is demonstrated by the estimation of cell viability (neutral red).

At the end of this study. The main results obtained confirm the photoprotective power of green tea, which keeps the cell viability, where it provided protection of irradiated cells against oxidative stress.

Keywords: photoprotective, green tea , UVA, UVB, phototoxic, cell viability ,cell lines RD/HP2

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير الواقي من الضوء (مضادات الأوكسدة) للشاي الأخضر ومقارنته بالنشاط

المضاد للأوكسدة للفيتامين C ، أثناء الإجهاد التأكسدي الناتج عن تعرض الخلايا RD و HP2 للإشعاع UVB / UVA

مع جرعة ضوئية سامة لفترة إشعاع تقدر مدتها 3 ساعات.

يتضح النشاط المضاد للأوكسدة للشاي الأخضر من خلال تقدير حيوية الخلية (أحمر محايد).

في نهاية هذه الدراسة. أكدت النتائج الرئيسية التي تم الحصول عليها على فعالية الحماية من الضوء للشاي الأخضر ،

مما يحافظ على حيوية الخلية ، حيث يوفر الحماية للخلايا التي تتعرض للإشعاع ضد الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: الحماية من الضوء، الشاي الأخضر ، UVA ، UVB ، ضوئية سامة ، قدرة الخلية على البقاء. الخلايا

HP2/RD

Liste d'abréviation

A : Absorbance.
ADN : Acide désoxyribonucléique.
AGPI : Acide gras polyinsaturés.
ATP : Adénosine triphosphate.
CAT : Catalase.
CH₂ : Groupement méthylène.
DMEM: Dulbecco's modified eagle medium.
ERO : Espèces réactives oxygénées.
Gly : Glycine.
GPX : Glutathion peroxydase.
GS• : Glutathion oxydé.
GSH : Glutathion réduit.
H : Hydrogène.
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.
HO°: Radical hydroxyle.
LNCPP: Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques.
MDA : Malonaldialdéhyde.
MEC : Matrice extracellulaire.
MMP : Matrix Métallo Protéases
NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit.
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide phosphate réduit.
NO° : Oxyde nitrique.
ONOO- : Peroxynitrite.
NOX: NAD(P) H Oxydase.
O₂°- : Radical superoxyde.
PBS: Phosphate buffered saline.
pH : Potentiel hydrogène.
PPS: Produit de protection solaire.
RL: Radical Libre.
ROO° : Radical peroxy.
SOD : Superoxyde Dimustases

TBARS : Thiobarbiturique

7DHC : 7-Déhydrocholéstérol

25 OHD₃ : 25 Hydrox-VitD₃

1 ; 25 OHD₃ : 1 ; 25-Dihydroxy-Vit D₃

Glossaire

Le Vieillissement :

Correspond à l'ensemble des processus physiologiques et psychologiques qui modifient la structure et les fonctions de l'organisme à partir de l'âge mûr. Il est la résultante des effets intriqués de facteurs génétiques (vieillissement intrinsèque) et de facteurs environnementaux auxquels est soumis l'organisme tout au long de sa vie. Il s'agit d'un processus lent et progressif qui doit être distingué des manifestations des maladies. L'état de santé d'une personne âgée résulte habituellement des effets du vieillissement et des effets additifs de maladies passées (séquelles), actuelles, chroniques ou aiguës.

La photocarcinogénèse :

Se définit comme l'ensemble des phénomènes aboutissant à la survenue de tumeurs cutanées provoquées par le soleil ou des sources lumineuses. il s'agit d'un processus à étapes multiples faisant intervenir des altérations de l'ADN cutané.

Photoimmunosuppression : Les rayons ultraviolets (UV), par des actions directes et indirectes, diminuent l'intensité des réactions immunitaires cutanées, Chez l'animal, il existe un lien étroit entre la photoimmunosuppression (PIS) et la promotion des cancers de la peau . Chez l'homme, il n'y a pas de preuve expérimentale permettant d'affirmer que les effets photo-immunologiques sont impliqués dans le développement des cancers cutanés.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Schéma de rayonnement émis par le soleil	03
02	La structure de la peau	05
03	Compartiment cellulaire d'épiderme	07
04	Pénétration UVA et UVB dans la peau	08
05	Le stress oxydant	10
06	Conséquences du stress oxydant	15
07	Lésion de l'ADN formée par attaque radicalaire	15
08	la peroxydation lipidique	16
09	Nature de quelque modification des chaînes latérales des acides aminés	17
10	Action des antioxydants au cours des métabolismes drivés réactifs	17
11	La feuille de camellia sinensis	18
12	Préparation de l'infusion de thé	23
13	Schéma reposit la préparation de milieu de culture	27
14	ensemencement des cellules RD	29
15	Schéma récapitulatif de protocole d'essai de la photoprotection de thé vert	32
16	Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale de test de viabilité	33
17	Effet prétraitement de thé vert sur la morphologie des cellules RD après l'exposition aux UVB	34
18	Effet prétraitement de thé vert sur la morphologie des cellules HP2 après l'exposition aux UVB	36
19	Effet de thé vert sur la morphologie des RD a la dose phototoxique des UVA	37
20	La viabilité cellulaire de l'effet photoprotecteur de thé vert	38
21	La mortalité cellulaire à l'exposition aux UVA	40

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
I	Risque des lésions cutanées en fonction d'index UV	05
II	Les principales espèces réactives de l'oxygène	13
III	Les principales sources des ROS	14
IV	Composition chimique de la feuille de thé vert	24
V	L'élément qui se trouve dans 100 g de thé vert	24
VI	L'effet photoprotecteur de the vert à l'exposition des UVA	39

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
المخلص	
Liste des abréviations	
glosaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	

Premier partie : Etude bibliographique

Chapitre I : rayonnement solaire

I-1 Généralité	03
I-2 Les rayonnements ultraviolets	
I 2-1 Définitions.....	04
I-2-2 Les sources des ultraviolets.....	04
I-2-3 l'index UV	04
I-2-4 la diffusion de les UV à travers la peau	
a) Petite rappel de la physiologie de la peau	05
b) La diffusion des rayons UV dans la peau	08
I-3 les effets biologiques des rayonnements solaires	
I-3-1 Les effets bénéfiques	
I-3-1-1 La synthèse de la vitamine D	09
I-3-2 les impacts des rayonnements solaires sur l'organisme humain	
I-3-2 –1 photovieillissement	09
I-3-2 -2 Photocarcinogénèse	10
I-3-2 -3 Photo immunosuppression	10
I-3-2 –4 Photogénotoxicité	11
I-3-2 -5 Photodermatoses	11

I-3-2 -6 Le stress oxydant

- a. – Définition.....11
- b. - Les radicaux libres11
- c. La production des ERO13
- d. - Rôle physiologique des ERO14
- e. - Les cibles moléculaires des ROS.....15-16-17

Chapitre II : la photoprotection

II-1 Photoprotection naturelle

II-1-1 Système antioxydant endogène18

II-1-2 Système de réparation de l'ADN19

II-1_3 vitamine D19

II-2 photoprotection interne

II-2-1 Caroténoïdes.....20

II-2-2 La photoprotection diététique et anti radicalaire 20

II-3 La photoprotection externe

II-3-1 Les produits de la protection solaire20

II-3-2 Photoprotection vestimentaire21

Chapitre III : thé vert

III-1 Classification systématique22

III-2 Description botaniques22

III-3 La récolte de **Camellia Sinensis**.....23

III-4 Les compositions chimiques de thé vert

III-4-1 Les composés phénoliques.....25

III-4-2 Source de vitamines.....25

III-4-3 La théine.....25

III-4-4 Autres composants.....25

III-5 Avantages pour la santé de la consommation de thé chez les êtres humains

III-5-1 Agit comme antioxydant.....	26
III-5-2 L'activité antivirale.....	26
III-5-3 L'activité anti- inflammatoire et cytotoxique.....	26
III-5-4 Prévention du Cancers.....	26

Deuxième partie : étude expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I-1 Matériels	27
I-2 Méthodes	
I-2-1 l'infusion de thé vert	28
I-2-2 préparation de milieu de culture	29
I-2-3 l'évaluation de l'effet photoprotecteur de thé vert	30
I-3 expression des résultats	35

Chapitre II : résultats Discussion

36

Conclusion

44

Références bibliographiques

Annexes

Introduction :

La lumière solaire est essentielle pour la vie humaine, en tant que source d'énergie et d'alimentation, mais aussi parce qu'elle intervient dans certains processus biochimiques et métaboliques, régule les rythmes biologiques et contribue au bien être psychologique (**Bazanella et al.,2012**), mais aussi est responsable de plus de 80 % des altérations cutanées dermo-épidermiques visibles cliniquement et histologiquement ,Il est directement corrélé à la quantité d'UV reçue au cours de la vie (**Bédane et Roelandts ,2007**).

Les UVB peuvent être génotoxiques, entraîner des anomalies de l'ADN cellulaire ou induire une immunosuppression, une inflammation et un stress oxydatif (**Bazanella et al., 2012**).

Si tous les organes peuvent être atteint par les réactions radicalaires, par des agressions de l'environnement lumineux ,particulièrement par les photons UVB et UVA capables de générer des espèces réactives de l'oxygène, toxiques pour des cellules épidermiques et dermiques et d'autre cellules de l'organisme (**Gendrom ,2005**).

En raison des effets secondaires indésirables des substances médicamenteuses (les antioxydants et les anti- inflammatoires) et les produits de la protection soleil sur l'homme et l'environnement, le retour à guérir avec des ressources naturelles et vertes comme les plantes, qui se caractérisent par leur richesse en biomolécules, est devenue une nécessité. (**Khair-Eddine, 2014**).

Parmi ces ressources le thé vert, obtenu par infusion des feuilles de *Camellia*, L'extrait de thé vert contient un cocktail des composés caractérisés par leur activité antioxydant et antibactérienne, parmi ces composés: les polyphénols (**Boubekri, 2014**).

La forte exposition de la population du désert algérien aux rayonnements solaires avec une faible incidence de cancer, sachant qu'ils boivent un litre de thé vert par jour.

Introduction :

Les effets bénéfiques de thé vert sont attribués à ses polyphénols qui possèdent une forte propriété antioxydants, et c'est dans ce contexte que s'insère cette étude, dont l'objectif est d'étudier et évaluer l'activité antioxydant et l'effet photoprotecteur de l'infusion de thé vert sur d'autres lignées cellulaires (sauf les cellules épidermiques).est appliqué sur les deux lignées cellulaires RD et AP2, suite a la phototoxicité induite par les rayons UVB/ UVA en étudiant la viabilité cellulaire pour les deux lignées cellulaire .

I-1 Généralité :

Le soleil émet de l'énergie principalement sous la forme de rayonnements électromagnétiques dont l'ensemble forme le rayonnement solaire. Il s'agit de la seule source externe notable d'énergie pour l'atmosphère (Maiola ,2013).

Selon Gonzalez (2008) Le spectre solaire électromagnétique regroupant l'ensemble des ondes électromagnétiques en fonction de leur longueur d'onde et leur fréquence : ondes radio, rayons cosmiques, gamma, ultraviolets, visibles, infrarouges. Les rayonnements qui atteignent la Terre sont constitués à 50 % de lumière visible, 40 % d'infrarouges et à 10 % d'ultraviolets (Olivia ,2012).

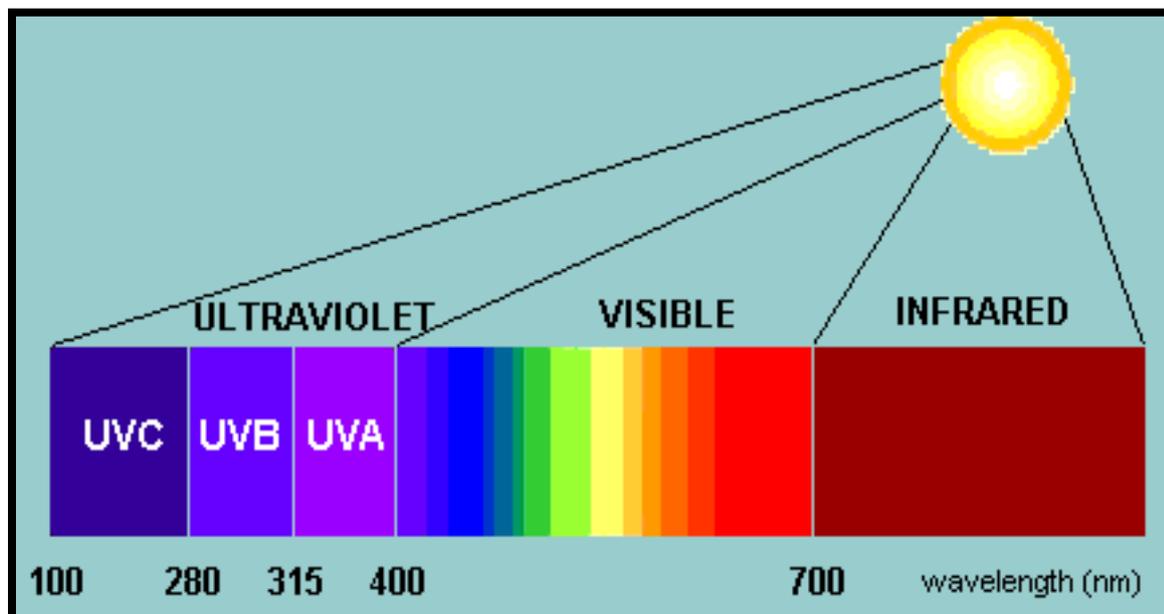


Figure 01: Schéma des rayonnements émis par le soleil atteignant la Terre (Kabouche, 2010)

Tableau I : Risque de lésions cutanées en fonction de l'index UV (Afssaps, 2006)

Index UV	Risque de lésions cutanées
1 à 2	Faible
3 à 5	Modéré
6 à 7	Fort
8 à 10	Très fort
11+	Extrême

I-2-4 la diffusion de les UV à travers la peau :

a) Petite rappel de la physiologie de la peau :

La peau est l'enveloppe de notre corps, elle est en continuité avec les muqueuses qui recouvrent les cavités naturelles de notre organisme (**Hamda et Hadreb, 2018**), et l'organe le plus vaste et le plus lourd de notre corps (environ 3,5 kg en poids et 1,5 m² de surface pour un individu de 75 kg), et est structurée en trois couches superposées de la plus externe à la plus profonde : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (**Orazio et al.,2013**)

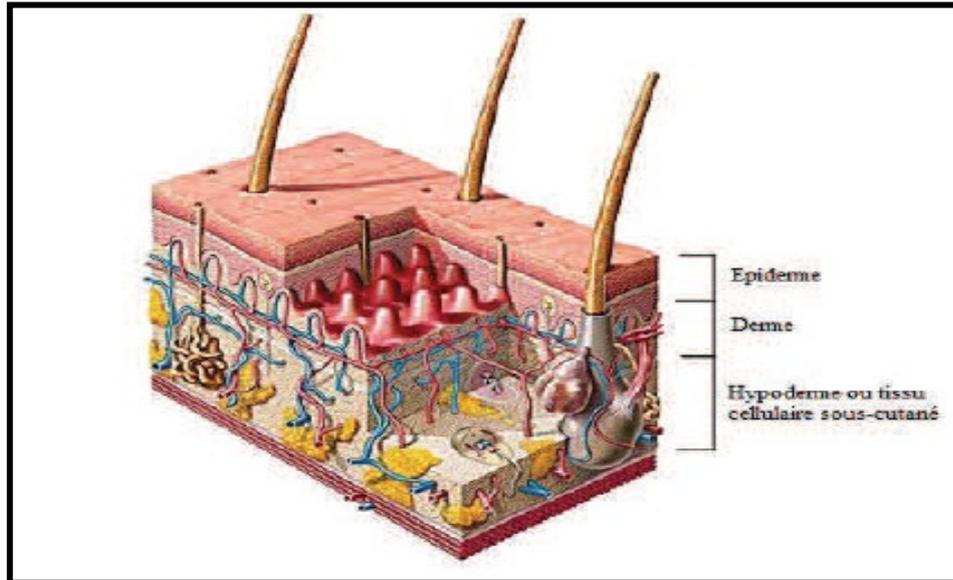


Figure 2 : la structure de la peau (Dermatole ,2005).

La structure de la peau se subdivise en 3 tissus superposés qui sont de la superficie à la profondeur :

1- L'épiderme :

D'origine ectodermique, l'épiderme est un épithélium pavimenteux kératinisé pluristratifié richement innervé et non vascularisé. Son épaisseur varie de 1µm à 4mm selon sa localisation anatomique (**Démarchez ,2015**). Est un enveloppe externe de la peau sa fonction principal est la lutte contre les agressions extérieures (**Pissavini et al.,2012**) , C'est un tissu vivant renouvellement permanent dans le quel les cellules vont se transformer au fur et à mesure de leur déplacement de la profondeur vers la surface (**Heath et al ., 2010**) .

Quatre principales populations de cellules composent l'épiderme : les kératinocytes, Les mélanocytes , les cellules de langerhans et les cellules de Merkel (**Dreno , 2008**).(figure 03)

➤ **Les kératinocytes :**

Les kératinocytes représentent 80% des cellules de l'épiderme, et ont la capacité de se diviser activement et de se différencier.

La fonction essentielle de ces cellules est la synthèse de kératine, protéine insoluble dans l'eau et très résistante, représentant 95% des protéines de l'épiderme et qui lui confère en partie sa fonction de protection (**Avril et al.,2002**) .

➤ **Les mélanocytes :**

Les mélanocytes sont des cellules d'origine nerveuse qui ont colonisé secondairement l'épiderme. A terme, ils sont exclusivement situés dans la couche basale de l'épiderme. leur fonction est d'assurer la synthèse des mélanines dans des organites spécialisées, les mélanosomes, et qui sont ensuite transférées aux kératinocytes. Chaque mélanocyte appartient à une unité de mélanisation épidermique qu'il constitue avec les trente cinq quarante kératinocytes voisins ; il leur délivre la mélanine par le biais de ses dendrites (**Martini ,2011**)

➤ **Les cellules de Langerhans :**

Elles représentent 4% de la population cellulaire de l'épiderme ce sont des cellules dendritiques situées dans la couche épineuse placées coté à-côté, leur rôle est de capturer les corps étrangers (virus, bactéries, allergène) pour pouvoir stimuler le système de défense immunologique de l'organisme ces cellules sont capables d'absorber des particules de la taille d'un microbe de les digérer et d'aller en présenter les caractéristiques aux lymphocytes (globules blancs) ,cellules de défense de l'organisme (**Pineau , 2005**)

➤ **Les cellules de Merkel :**

Ce sont des cellules neuroendocrines, localisées dans la couche basale de l'épiderme et associées à des terminaisons nerveuses. Elles contiennent des granules neurosécrétoires dans lesquelles sont stockés les neuromédiateurs (**Guillot , 2012**)

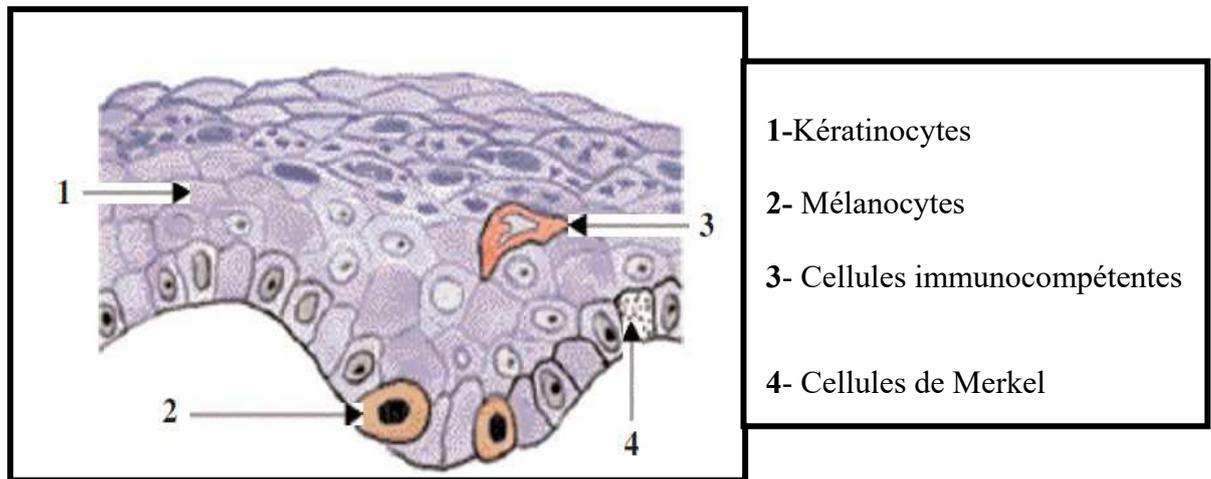


Figure 3 : le compartiment cellulaire de l'épiderme (Guillot, 2012)

2 – Derme :

Le derme est un tissu fibreux, élastique et conjonctif. Il apporte la souplesse, la résistance de la peau et joue un rôle dans la thermorégulation. De plus, il est le lieu d'implantation des annexes cutanées comme les poils et du système de vascularisation de la peau. Il est composé de Collagène et de fibres élastiques formant la Matrice Extra Cellulaire, synthétisées et sécrétées par les fibroblastes. D'autres cellules, du Système Immunitaire sont présentes : des leucocytes, les cellules dendritiques dermiques et des macrophages (Rassner , 2006)

Ce tissu est composé de deux parties :

- **Le derme papillaire** : les fibres de Collagènes sont entrelacées et arrivent perpendiculaires à l'épiderme. Les plexus nerveux, lymphatiques, artériels et veineux logent dans cette partie (Crickx , 2005).
- **Le derme réticulaire** : les fibres de Collagène sont épaisses et entrelacées. Les vaisseaux sanguins présents permettent la liaison entre le plexus du derme papillaire et la jonction dermo-épidermique (Welsch , 2004).

3- L'hypoderme :

L'hypoderme est un tissu adipeux séparant le derme et les plans aponévrotiques et musculaires sous-jacents. Il est constitué de septa conjonctifs qui cloisonne les lobes adipeux. Les cellules adipeuses qui le constituent sont des cellules mésenchymateuses

différenciées, rondes ou polygonales, possédant un noyau triangulaire périphérique et un cytoplasme riche en triglycérides et en acides gras. Outre son rôle énergétique dû à la réserve de graisse qui le constitue, l'hypoderme possède également un rôle de protection mécanique et thermique. (Avril et al., 2008).

b) La diffusion des rayons UV dans la peau :

La peau représente la première ligne de défense contre les agressions extérieures telles que les germes pathogènes, les rayons UV et les chocs (Ferraq, 2007).

La couche cornée de l'épiderme filtre incomplètement les radiations solaire mais, fort heureusement, celles courtes longueurs d'ondes, les plus agressives sont les mieux filtrées : on estime que 10 % des UVB et 20% des UVA atteignent le derme (Richard, 2004).

D'éviter le rachitisme. Par ailleurs, cette vitamine intervient autant qu'immunosuppresseur s'opposant à certaines maladies auto-immunes (Meunier, 2012).

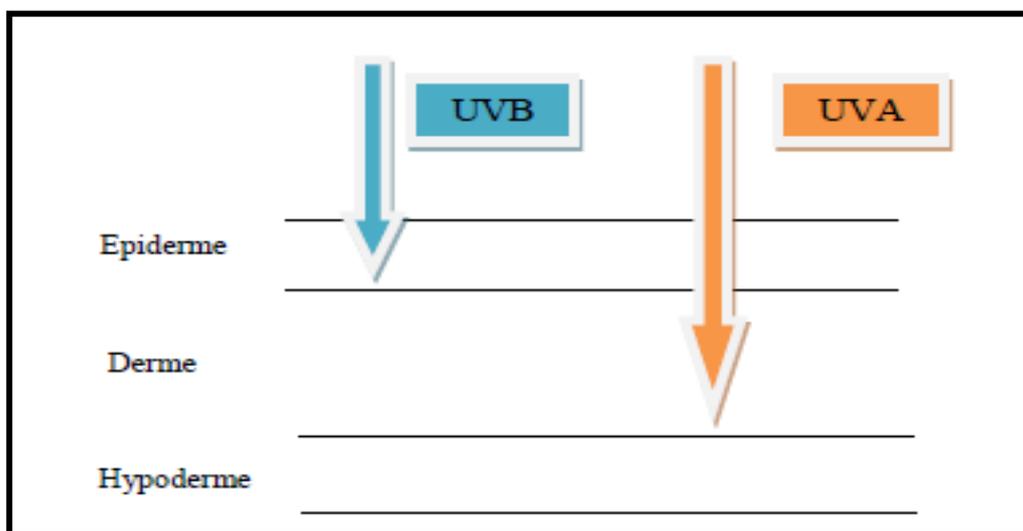


Figure 4 : Pénétration des UVA et UVB dans la peau (Martini, 2011).

I-3 les effets biologiques des rayonnements solaires :**I-3-1 Les effets bénéfiques :****I-3-1-1 La synthèse de la vitamine D :**

Chez l'être humain, les rayons solaires constituent la principale source de vitamine D (de type D3) puisque 90 % de cette molécule est synthétisée à partir d'un dérivé du cholestérol par l'action des rayons UVB (**Sanbandan et al., 2011**). Ces derniers agissent sur la membrane des kératinocytes et sont responsables de l'isomérisation réversible du 7-déhydrocholéstérol (7DHC) en provitamine D3, Puis sous l'action de la chaleur, le 7DHC est transformé en vitamine D3. La vitamine D3 est ensuite transportée vers le foie où elle est hydroxylée en 25-hydrox-vitD3 (25OHD3), puis dans le rein où elle sera transformée en métabolite actif la 1;25-dihydroxyvitD3 (1 ;25OHD3) ou calcitriol (**Meunier , 2008**).

La vitamine D est essentielle pour la santé car elle contribue au bon développement du squelette par l'accroissement de l'absorption du calcium et du phosphore permettant ainsi d'éviter le rachitisme. Par ailleurs, cette vitamine intervient autant qu'immunosuppresseur s'opposant à certaines maladies auto-immunes (**Meunier ,2012**).

I-3-2 les impacts des rayonnements solaires sur l'organisme humain :

Les UV sont responsables de dommages différents en fonction de la longueur d'onde des rayons incidents. Une exposition aux rayons UV va entraîner des modifications physico-chimiques responsables des effets néfastes sur l'organisme humain. Les effets biologiques du rayonnement UV sont : l'érythème solaire, le photovieillissement, la photo-immunosuppression, la photogénotoxicité, la photocarcinogénèse cutanée, et enfin les photodermatoses et le stress oxydant (**Brunet, 2014**) :

I-3-2-1 Le photovieillissement :

Le photovieillissement appelé également héliodermite est le vieillissement cutané qui résulte, de l'exposition chronique de la peau au soleil. Il touche les zones photo-exposées. Au niveau de l'épiderme Les radiations UV vont amincir le derme et aplatir la jonction épiderme/derme (**Humbert, 2012**). De plus, les kératinocytes, sous effet des UVB, vont produire des cytokines pro-inflammatoires qui vont augmenter la synthèse de l'élastase (enzyme dégradant l'élastine, protéine responsable de l'élasticité de la peau) et des MMPs (Matrix Métallo protéases). Au niveau du derme Les effets majeurs de l'héliodermite vont se

Produire au niveau du derme. En effet, les radiations UV vont désorganiser les fibres d'un constituant majeur, la Matrice Extracellulaire (MEC) (**Hlachmi et al ., 2005**).

I-3-2-2 Photocarcinogénèse :

Le rôle de l'exposition solaire dans l'apparition d'un carcinome est établi sur des arguments cliniques, épidémiologiques et expérimentaux. La photocarcinogénèse cutanée est attribuée pour 65% aux UVB et 35% aux UVA selon un calcul effectué à partir de la courbe de- Gruijld (**De Laat A ; et coll., 1997 ; Béatrice et Jacques, 2005**)

Les effets aigus de l'exposition UV sont des dommages de l'ADN et une peroxydation lipidique. Les UVB vont former des dimères de pyrimidine et des 6-4 photo produits alors que les UVA vont également agir sur l'ADN par les biais de la production d'espèces réactives de l'oxygène, anion superoxyde, oxygène et peroxydes qui sont des molécules très agressives pour les bases puriques qui constituent l'ADN. La protéine p53 régule et normalise le cycle cellulaire en induisant l'apoptose des cellules qui présentent des lésions sévères de leur ADN. Ces cellules sont remplacées par des cellules hyper prolifératives d'où la survenue d'une hyperplasie épidermique (**Bédane, Roelandts, 2007**).

I-3-2-3 Photoimmunosuppression :

-La diminution réversible du système immunitaire par les UVB et UVA, entraîne l'apparition de pathologies estivales comme l'herpès labial, l'impétigo, les mycoses... _

- Les altérations immunitaires induites par les UVB sont les suivantes :

- Diminution du nombre de cellules de Langerhans et altération de leur fonction, entraînant une altération de la présentation des antigènes dans la peau,

- Diminution de la réponse à l'hypersensibilité de contact,

- Diminution des lymphocytes T circulants,

- Induction de la libération de cytokines immunoactives par les kératinocytes (TNF α),

- Altération des fonctions lymphocytaires.

-L'immunosuppression induite par les UVB est sélective et la totalité des réponses immunitaires n'est pas modifiée (par exemple, la production d'anticorps n'est pas modifiée)

(**Dubertret, 2006**).

I-3-2-4 Photogénotoxicité :

L'altération de la structure chimique de l'ADN peut être à l'origine de l'apparition de mutations ou conduire à la mort cellulaire. Les principaux types de dommages induits par les Composants UVB et UVA du rayonnement solaire dans l'ADN sont les coupures de la chaîne

nucléotidique, des adduits covalents avec les protéines et des produits de modification des bases. La nature des processus physico-chimiques qui sont à l'origine des modifications induites par une exposition au rayonnement UV dépend de la longueur d'onde des photons incidents (Puzenat, 2010).

I-3-2-5 Photodermatoses :

sont des lésions dermatologiques induites par les différents types de rayon ultraviolets qui peuvent survenir sur des terrains génétiquement prédisposés ou être acquises suite à des photo-traumatismes. La réaction phototoxique est une réaction photochimique comparable à la dermatite d'irritation. Elle s'observe une fois que la dose tolérable d'ultraviolets (UV) est dépassée. C'est le cas à l'occasion d'un coup de soleil et quand les rayonnements solaires sont potentialisés par certaines substances ou médicaments, ou encore par un végétal (bergamote, céleri, citron vert, figue, panais, persil...) .Ainsi, la dermatite des prés survient après un bain en rivière, quand le sujet s'allonge sur l'herbe au soleil du mois de juin ; quelques heures plus tard, un érythème vésiculo-bulleux reproduit le dessin d'une herbe sur la peau (Pillon ,2016).

I-3-2-6 Le stress oxydant :

a)Définition :

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense antioxydant de l'organisme (Bruno .B .2020), peut être induit lors de la surproduction d'espèces réactive et/ou par suite d'inhibition des systèmes antioxydants qui peuvent être inactives soit par défaut de synthèse (Peltier et al ., 2004) ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece et al., 2007).(figure 05)

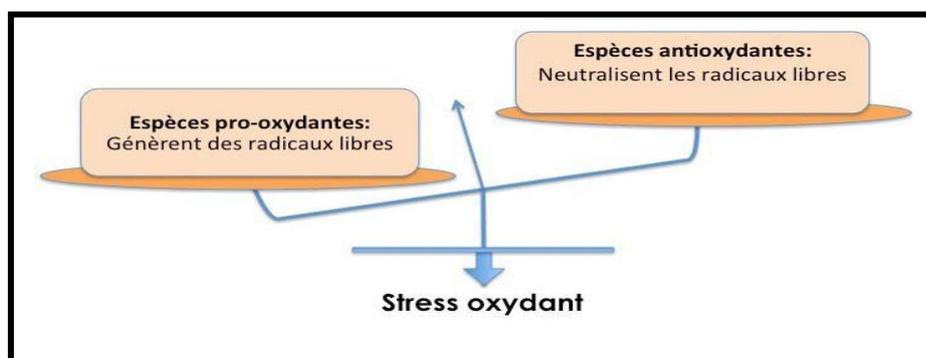


Figure 5 : le stress oxydant (Ece et al., 2007)

b) Les radicaux libres :

➤ Définition :

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, Cela lui confère une grande réactivité et donc une demi-vie très courte. (Blandine, 2006)

En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable, il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Marfak, 2003).

La réactivité chimique des radicaux libres de l'oxygène est variable selon la molécule Considérée, mais ce sont pour la plupart de puissants oxydants. Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes et hydroxyle, mais d'autres dérivés de l'oxygène jouent également un rôle important dans le stress oxydant, en particulier le peroxyde d'hydrogène et le peroxy-nitrite. C'est pourquoi le terme d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est préféré à celui de radicaux libres puisque le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre (Asmus et Bonifac, 2000).(Tableau II)

Tableau II : Les principales espèces réactives des l'oxygène (Migdal , 2011)

Espèces radicalaire	Espèces non radicalaire
Anion superoxyde $O^{\cdot-}$	Peroxyde d'hydrogène
Radical hydroxyle HO^{\cdot}	Acide hypochloreux $HOCl$
Monoxyde d'azote NO	Peroxy-nitrite $ONOO^{\cdot-}$
Grande instabilité par réaction avec les constituants cellulaire	Elément de décomposition pour laa détoxification par les systèmes de décence enzymatique

c) La production des ERO :

➤ La production endogène :

Les sources endogènes potentielles comprennent :

- des réactions impliquées dans la chaîne respiratoire, le système du cytochrome P450 au niveau du réticulum endoplasmique lisse (Engwa, 2018),
- de plus, les réactions impliquant le fer et d'autres métaux de transition, les peroxyosomes,

La xanthine oxydase (Engwa, 2018). Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH).

➤ La production exogène :

Les êtres vivants sont exposés quotidiennement à des polluants (fumée de cigarette, rayons ultraviolets, radiations...) susceptibles d'être à l'origine de la production de radicaux libres. (Justine et al., 2005). (Tableau III)

Tableau III: principales sources des ROS (Durackova et al., 2008) .

Source endogés	Source exogène
NADPH Oxydases	Tabagisme
Chaîne respiratoire mitochondrial	Cytokine pro- inflammatoire
Xanthine Oxydase	Chimiothérapie
Atherogénèse	Radiation ionisantes
Lipo-Oxygénase	Radiation UV
Phagocytes	Toxique environnementaux
Inflammation	Champs électriques
Etat d'ischémie –répercussion	Xénobiotique pro –oxydant

d) Les cibles moléculaires des ROS :

La production excessive des ERO provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), (Tomomi et al., 2017).

message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (Haleng et al., 2007).(figure 06)

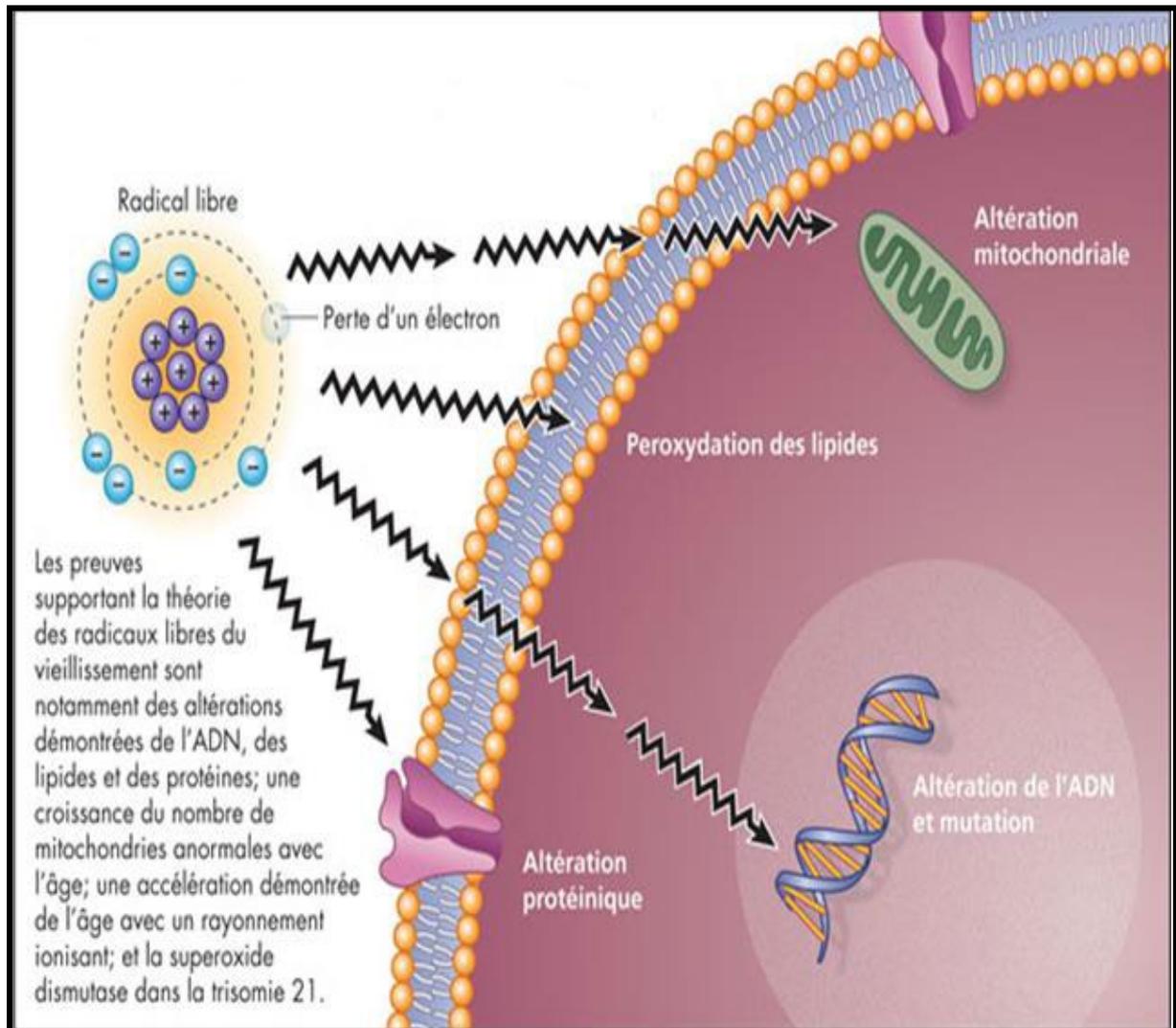


Figure 06: Les conséquences du stress oxydant (Bonnet et al., 2010)

➤ **Oxydation de l'ADN :**

Les dommages oxydatifs de l'acide désoxyribonucléique (ADN) peuvent être causés par les ERO (Jean, 2012). L'ADN est une cible privilégiée pour les ERO.

La guanine, par exemple, peut réagir avec OH. 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 (Favier, 2003).(figure 07)

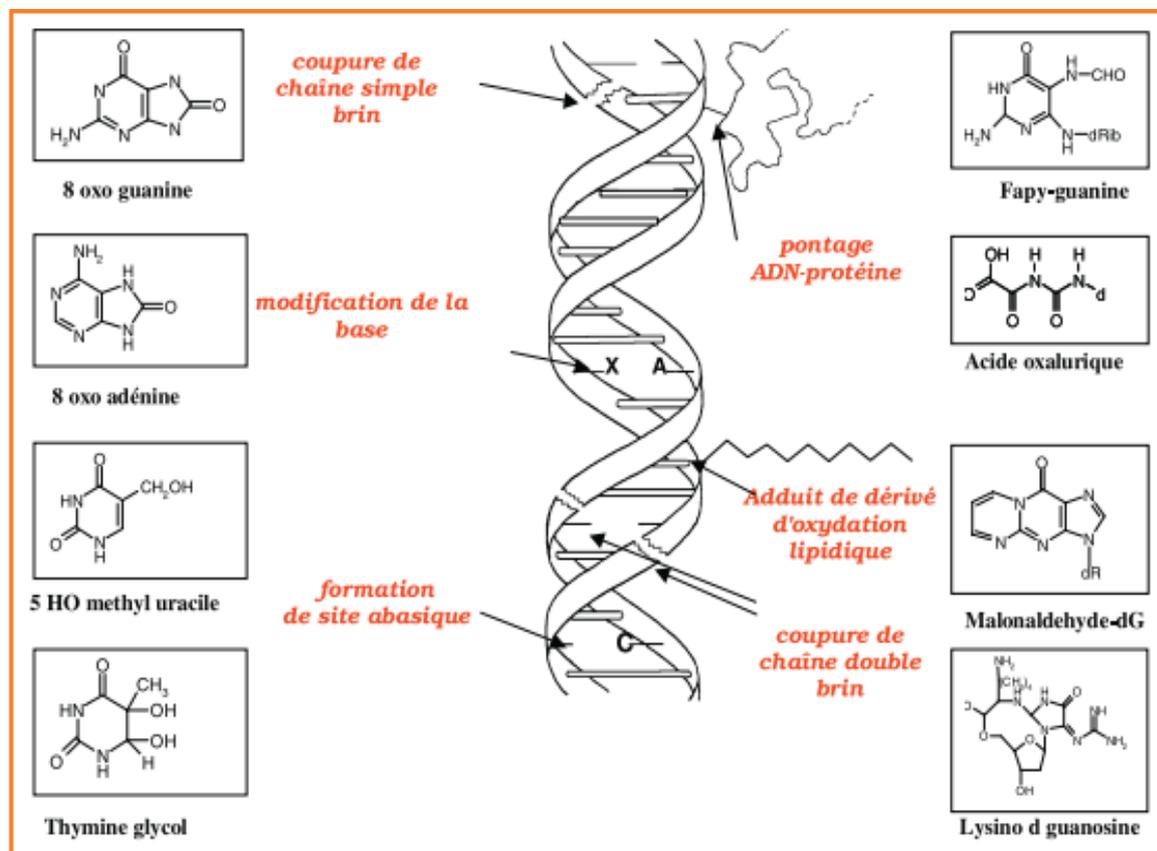


Figure 07: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules. (Favier, 2003).

➤ **Oxydation des lipides :**

Les premières cibles des ROS sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés(AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Hulbertl, 2005) .sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle

Capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons (Favier, 2003). Cette réaction appelée la peroxydation lipidique génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs. Qui induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), l'acide thiobarbiturique (TBARS) et le hydroxynonanal (4-HNE) sont étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (Echtay *et al.*, 2003).

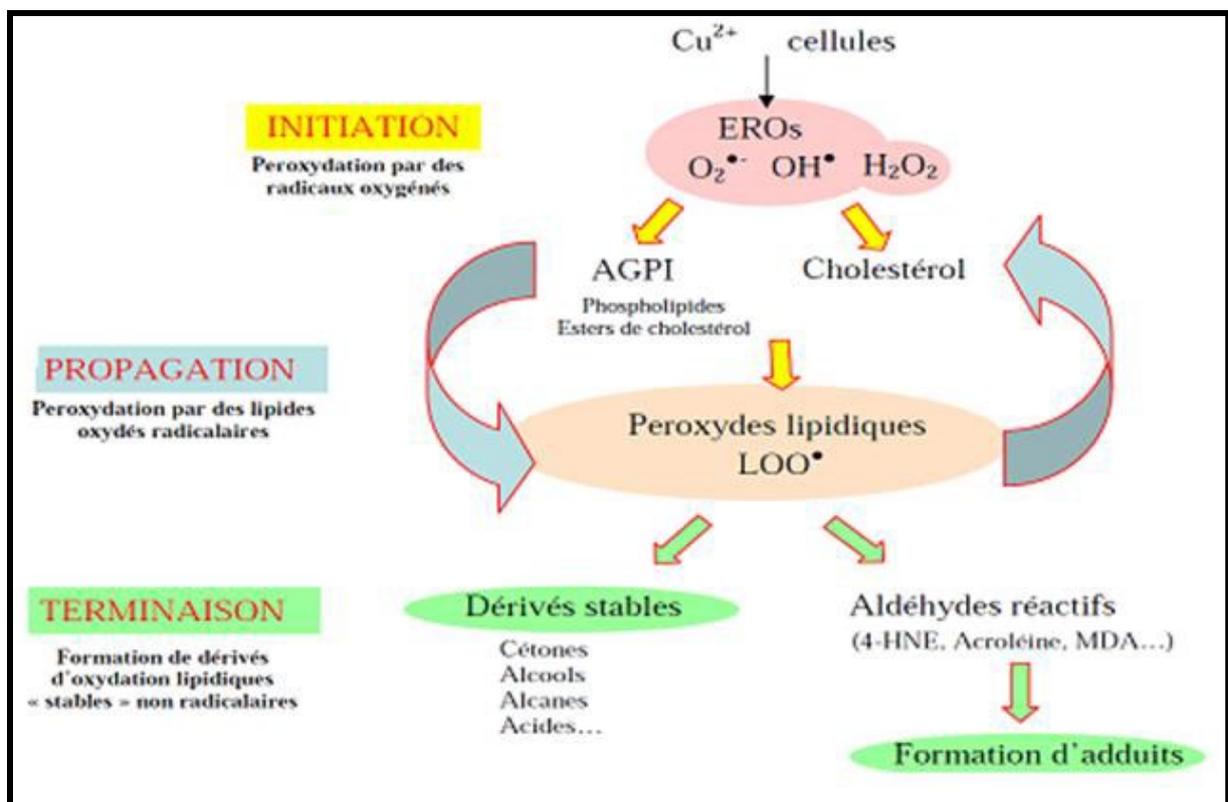


Figure 08 : la peroxydation lipidique (Echtay *et al.*, 2003)

➤ Oxydation des protéines :

L'oxydation des protéines est définie comme une modification covalente d'une protéine induite par des REO ou des sous-produits du stress oxydatif. La plupart des types d'oxydes protéiques sont essentiellement irréversibles, alors que quelques-uns impliquant des acides aminés soufrés sont réversibles. La carbonylation des protéines est largement utilisée comme marqueur de l'oxydation des protéines (Møller *et al.*, 2007)(figure 09).

Définition :

La photoprotection correspond à l'ensemble des moyens naturels et/ou artificiels capables de s'opposer aux effets délétères du soleil (Meunier, 2009).

II.1 Photoprotection naturelle

C'est l'ensemble des moyens existant à l'état basal mais encore stimulés lors d'une irradiation, qu'elle soit aigue ou chronique, et visant à protéger la peau contre l'agression actinique. (Sevy, 2016 ; Meunier ,2008)

II-1-1 Système antioxydant endogène :

Les kératinocytes possèdent des systèmes de défense antiradicalaire de 2 types. Il y a tout d'abord les constitutifs :

a) Système antioxydant enzymatique :

Il existe Trois types d'enzymes antioxydants sont mis en œuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène, Les superoxyde dismutases (SOD) qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène La catalase (CAT) qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau permettant l'élimination de celui-ci.

La glutathion peroxydase (GPX) qui décompose aussi le peroxyde d'hydrogène en utilisant le glutathion comme donneur d'hydrogène (Boubekri, 2014) (Figure10)

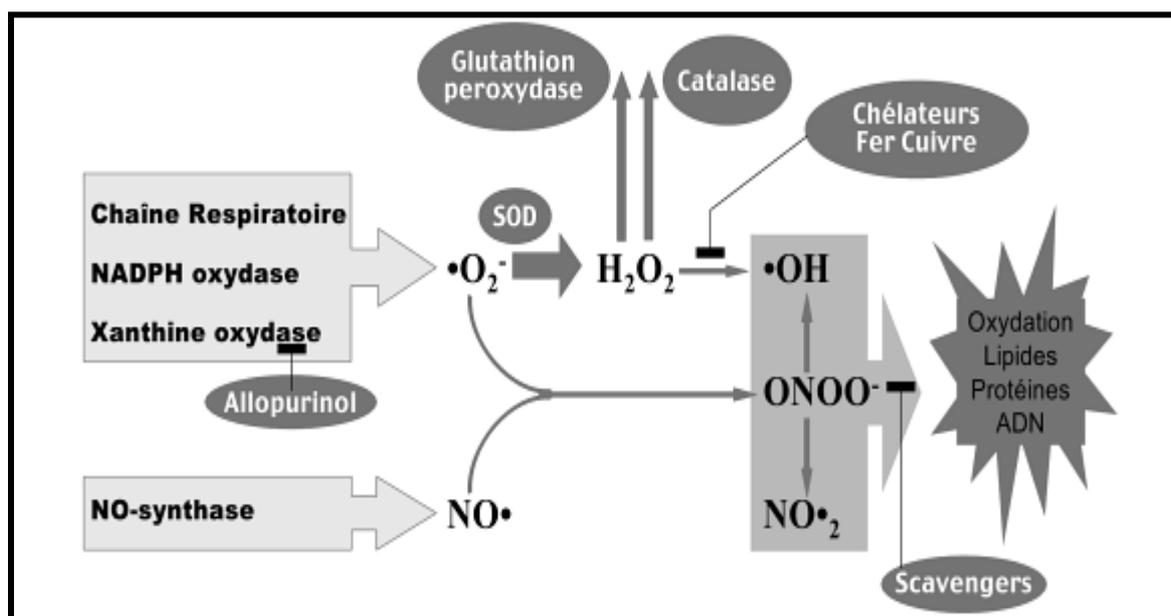


Figure 10: Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène (Bédane ,2008)

b) système antioxydant non enzymatique :

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules pro-oxydantes ou indirectement, Ce type d'antioxydants regroupe un grand nombre de substances hydrophiles ou lipophiles et ils sont en partie produits par l'organisme au cours de processus biosynthétiques. Néanmoins le nombre d'antioxydants produits *in vivo* est très limité ; on peut citer parmi les plus actifs : le glutathion, le NADPH, les dipeptides, l'acide urique, la bilirubine. (Piquet et al., 2007).

II-1-2 Système de réparation de l'ADN :

Il existe dans la peau des systèmes de réparation permettant de maintenir l'intégrité de l'ADN et d'éviter la survenue de mutation photo-induite.

➤ Mécanisme d'excision-réparation :

il s'agit du système de réparation par excision de base (Base Excision Repair, BER) qui va réparer les lésions de bases mineures et du système de réparation par excision de nucléotides (Nucléotide Excision Repairs, NER)

qui excise et répare des lésions au sein de la molécule d'ADN (Bupha , 2013) .

➤ **La photoréactivation :** Une enzyme, la photolyase, se fixe aux photos lésions et après Absorption de la lumière visible catalyse la transformation du dimère en monomère. (Adamski et al., 2008)

II-1-3 vitamine D :

La vitamine D, produite dans la peau sous l'effet des rayons UV, a des effets photoprotecteurs. En présence de 1 ;25-dihydroxyvitamine D₃, les kératinocytes ont moins de dégâts de l'ADN et plus de protéine p53 dans le noyau après l'exposition aux rayons UVB (Meunier ,2014)

II-2 la photoprotection interne

Elle pour objectif de renforcer des mécanismes de la photoprotection naturelle :

II-2-1 Caroténoïdes :

Comme photoprotecteurs, par effet filtre et mécanisme antiradicalaire. Les caroténoïdes utilisés en dermatologie sont le beta-carotène (précurseur de la vitamine A) et la canthaxanthine. Les caroténoïdes ont une faible activité en tant que filtre UV.

Selon **Meunier (2008)** Leur spectre intéresse les UVA longs. L'action photoprotectrice est due surtout à l'activité antiradicalaire. Ils inhibent les produits de la photo-oxydation de l'oxygène. Ils empêchent leur formation, en absorbant l'énergie libérée lors de la désactivation de l'oxygène radical. Ils préviennent ainsi la photodégradation des membranes cellulaires et la photocarcinogénèse (**Gerogescu et Eyeve ,2003**)

II-2-2 La photoprotection diététique et antiradicalaire :

- Les polyphénols sont définis comme ayant « tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques, est possède des propriétés antioxydants ,sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV (**Marcheix et al., 2005**). De très nombreuses études épidémiologiques se sont consacrées aux relations entre cancer et régime riche en flavonoïdes. Elles ont montré qu'une administration orale de thé vert ou noir (riche en flavonoïdes) prévient significativement l'apparition des tumeurs UV-induites (**Meunier ,2014**).
- La vitamine C : antioxydant puissant qui neutralise les radicaux libres, la est également un cofacteur de la synthèse de collagène. Elle participe à l'hydroxylation du procollagène ainsi qu'à la stimulation de la synthèse du collagène en activant sa transcription (**Beylot,2010**)

II-3 La photoprotection externe :

II-3-1 Les produits de la protection solaire :

Les produits de protection solaire (PPS) sont définis comme toute préparation destinée à être mise en contact avec la peau humaine dans le but exclusif ou principal de la protéger du rayonnement ultraviolet en absorbant et/ou réfléchissant ce rayonnement.

Les PPS ne font pas l'objet d'une autorisation préalable de mise sur le marché. Le fabricant doit s'assurer de la sécurité de son produit et constituer un dossier technique répondant aux exigences législatives et réglementaires. Ce dossier devra se tenir à disposition des autorités de contrôles nationaux. (**Romain, 2017**)

II-3-2 Photoprotection vestimentaire :

C'est le moyen de photoprotection externe le plus efficace. Un habillement adapté réalise un écran contre la pénétration des radiations néfastes. Le coefficient de protection des vêtements est très variable selon la texture, la couleur, l'épaisseur. Ceci a conduit à définir un facteur de protection UV des tissus (UPF), équivalent du SPF (**Romain, 2017**).

Le thé vert est tiré du théier un arbuste originaire de la Chine et de la Thaïlande.

Le théier est maintenu à une petite taille, alors qu'il peut atteindre plusieurs dizaines de mètres de hauteur, cela pour faciliter le ramassage de ses feuilles qui sont l'ingrédient principal du thé.

Tous les thés, quelques que soient leurs appellations ou couleurs, proviennent d'une seule et même espèce de théier. Le thé noir, par exemple, provient de feuilles de théiers fermentés. Le thé vert, lui, n'a pas subi d'oxydation, et c'est celui auquel on prête le plus de Vertus thérapeutiques.

En effet, le thé vert semble renfermer des substances favorisant l'élimination de la graisse, la diminution du cholestérol, la prévention de certains cancers et la réduction de l'hypertension. De plus, on lui attribue des effets stimulants et désintoxiquant.

Certains de ces effets pourraient provenir des catéchines contenues dans le thé vert, d'autres de la théine (Namita et al., 2012).

III -1- Classification systématique :

Règne :	Plantae
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Theales
Famille	Theaceae
Genre	Camellia
Espèce	<i>Sinensis</i>

III - 2-Description botaniques :

A l'état sauvage, le théier (*Camellia sinensis*) est un arbuste de cinq à dix mètres de haut, mais dans la plupart des plantations, il est taillé à environ 1,20 m pour faciliter la cueillette des feuilles. Les jeunes feuilles à l'extrémité des branches donnent les meilleurs thés, alors que les quatre ou cinq feuilles suivantes servent à la production courante. Les facteur

environnementaux comme le climat, le type de sol et l'altitude contribuent à la teneur en tanins (responsable de la couleur et de la saveur) et en théine (la caféine du thé) (Pei –Gen ,2002). (Figure 11)



Figure 11 :les feuilles de *Camellia sinensis*(Namita. et al., 2012).

III- 3 La récolte de *Camellia Sinensis*:

Dans XVIe siècle, les colons britanniques ont commencé à cultiver le thé en Inde avec des graines (**variété sinensis**) en provenance de Chine. La découverte en 1823 d'un thé de haut arbre (**variété assamica**) de plus en plus à l'état sauvage dans l'Assam province a été suivie par bien d'autres découvertes de théiers sauvages qui poussent dans la région. Aujourd'hui, le thé est largement cultivé et consommé en thé vert ou noir et non seulement en chine mais à travers le monde. La superficieensemencée totalise environ 2,3 millions d'hectares 75% de la superficie totale plantée (Namita et al., 2012).

III-4 Les compositions chimiques de thé vert :

Quand on analyse un jeune pousse de thé vert, on trouve une composition chimique sensiblement similaire à celle ci-dessous (**Fujihara et al ., 2003**).

N.B : La composition peut varier nettement en fonction du type d'arbre à thé, de la localisation géographique, de la qualité, du domaine, du processus de transformation etc.

Tableau IV: Composition chimique de la feuille de thé, exprimée en pourcentage par Rapport au poids sec de la drogue (**Fujihara et al ., 2003**) :

Jeune pousse de thé vert en % de masse sèche	% de la matière sèche
Polyphénols (simples)	25-35%
Cellulose, Lignine, Amidon etc.	20-30%
Protéine	10-20%
Lipides	3-9%
Minéraux	4-8%
Polysaccharides	4-7%
Acides Aminés	3-4%
Caféine	2-4%
Chlorophylle & Caroténoïdes	2-3%
Composés volatiles	Traces

Tableau V : Les éléments qui se trouvent dans 100g de thé vert (**Fujihara et al ., 2003**) .

Potassium	2000-2500 mg
Phosphore	200-300 mg
Calcium	40-60 mg
Fer	20-30 mg
Sodium	2-5 mg
Vitamine C	200-300 mg
Vitamine B2	1-5 mg
Vitamine B3 (Niacine)	2-5 mg
Vitamine E	50-70 mg
Carotène	10-20 g

III- 4-1 Les composés phénoliques:

Le thé est particulièrement riche en composés phénoliques, puisque ceux-ci représentent le tiers de la matière sèche de la feuille (**Namita et al., 2012**).Les polyphénols représentent **44 %** de l'extrait sec (en poids) de la feuille de thé et sont constitués par des flavonoïdes et des acides phénoliques.

Les flavanols communément appelés catéchines sont les Polyphénols quantitativement Prédominants dans le thé vert (environ **27 %**) (**Glauzure , 2007**).

On distingue l'(-)-épicatéchine, l'(-)-épicatéchine-3-gallate, l'(-)-épigallocatechine et l'(-)-épigallocatechine-3-gallate (ou EGCG).Ce dernier est le polyphénol majeur du thé vert (**Nkhili et al ., 2009**).

III-4-2 Source de vitamines:

Le thé est riche en vitamines du groupe B telles que thiamine (B1), riboflavine (B2), niacine (B3). La vitamine C se trouve aussi en quantité significative dans le thé vert. Enfin l'infusion de thé contient la vitamine P qui favorise la perméabilité capillaire et l'élasticité de la paroi des vaisseaux sanguins (**Nacer et Bouras ,2014**)

III- 4-3 La théine:

1 à 5 % de théine, la théine et la caféine sont une seule et même substance appelée triméthylxanthine. Dans le thé, l'action stimulante de la théine est significativement modifiée par la présence des polyphénols qui génèrent un effet prolongé et modéré . L'analyse pharmaceutique met en évidence le phénomène d'effet retard et confirme la tradition populaire qui rapporte que le thé est moins excitant que le café (**Benaraba ,2007**).

III- 4-4 Autres composants:

A l'état frais, le thé renferme **27%** de matières sèches dont, en moyenne : **40%** de glucides, **15 à 23 %** de protides et **2 à 3%** de lipide, de faible quantité de chlorophylles et de Caroténoïdes. Ces substances sont faiblement extraites lors de l'infusion (**Nkhili ,2009**).

Les principaux minéraux du thé sont le potassium, le calcium, le phosphore, le manganèse, le cuivre, le sodium, le silicium, le zinc, le bore, le plomb, le chrome, le fer, le nickel, et le baryum. Le thé est, de plus, une source importante de fluor (**Kabouche ,2010**).

III-5- Avantages pour la santé de la consommation de thé chez les êtres humains :

Thé en général et le thé vert en particulier a longtemps été apprécié par les êtres humains à travers le monde pour ses propriétés médicinales. Un bon nombre d'études animales et cliniques suggèrent que les composants chimiques du thé jouent un rôle important dans la santé globale de l'homme (Mossion ,2007)

III- 5-1 Agit comme antioxydant

Le thé vert est une source puissante d'antioxydants bénéfiques, comme ceux que l'on trouve dans les fruits et les légumes. Le thé est particulièrement riche en Polyphénols, notamment les catéchines, les thé flavines et les thearubigines, qui contribuent aux bienfaits du thé sur la santé. Les études animales offrent une occasion unique d'évaluer la contribution des propriétés antioxydants du thé et des Polyphénols du thé aux effets physiologiques de l'administration du thé dans différents modèles de stress oxydatif (Frei et al ., 2015) .

III- 5-2 L'activité antivirale

Les substances actives principales du le thé vert sont les composés polyphénoliques, les activités antivirales des Polyphénols sont associés à de diverses étapes dans cycle de vie de virus de grippe. L'effet antiviral différentiel de la catéchine. Parmi les composés, les EGCG et les ECG étaient trouvé pour être inhibiteurs efficaces de croissance de virus de grippe, et ce effectués observés dans tous les sous-types de virus examinés, incluant Virus d'A/H1N1, d'A/H3N2 (Jae _Min et al ., 2005).

III -5-3 L'activité anti- inflammatoire et cytotoxique

Le thé vert possède des propriétés anti-inflammatoires, il a été étudié pour son rôle dans le traitement des maladies provoquées par une inflammation. Les dérivés de thé flavine ont été employés pour évaluer l'activité anti-inflammatoire. La plupart des composés dérivés de thé flavine ont une plus grande inhibition que EGCG, la catéchine principale composé dans le thé vert. Quoique le thé vert ait une plus haute catéchine (Shengmin et al ., 2004).

III -5-4 Prévention du Cancers: De nombreuses études épidémiologiques ont recherché si des populations asiatiques consommant quotidiennement du the vert présentaient moins de cancers que les autres. Une revue de la littérature du groupe Cochrane mise a jour en 2009 a retenu 50 études épidémiologiques Résultats (Huet et al., 2013).

Notre étude a été menée au niveau de l'unité de la culture cellulaire du service de pharmacotoxicologie du laboratoire national de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP)

I - 1 - l'infusion de thé Vert :

I -1-1 Principe :

L'infusion de thé vert est une méthode d'extraction qui consiste à verser de l'eau chaude sur des feuilles de *Camellia sinensis* et laisser infuser pendant l'infusion les feuilles vont libérer de leur principe actif.

I -1 -2 Matériels

Matériels végétale

-3g de poudre de thé

Equipements

Plaque chauffant

Balance de précision.

Bécher

I - 1 -2 Mode opératoire

Verser 3g de la poudre de thé vert (*Camellia sinensis*) dans 200ml d'eau chaude à 85°C ; et laisser infuser pendant 2 min, à la fin en va filtrer l'infusion de thé vert (**figure 13**)

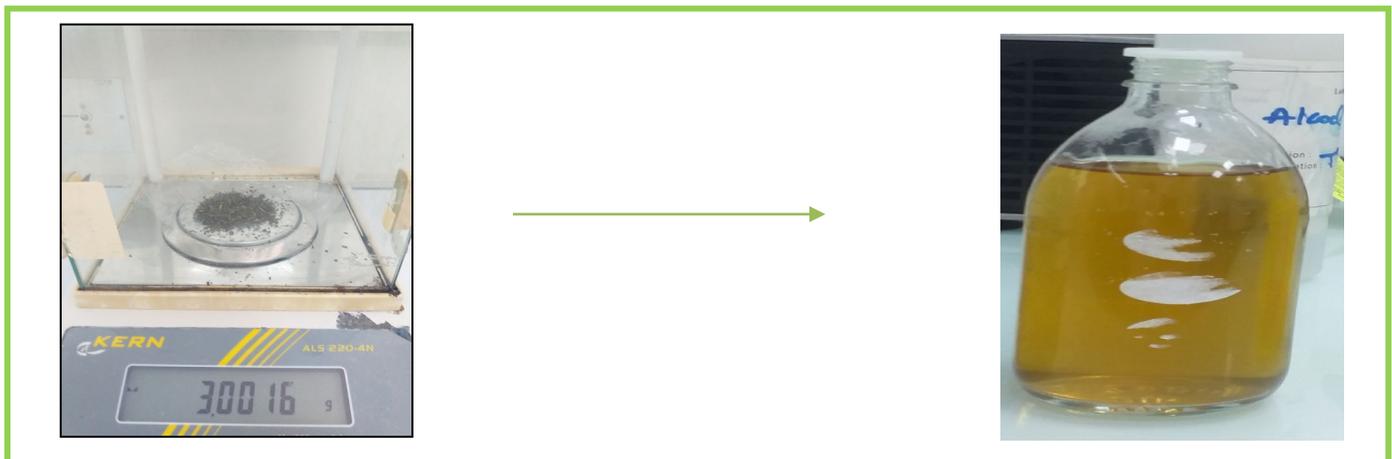


Figure13 : Préparation de l'infusion de thé

I-2 -Préparation de milieux de culture :**I-2-1 Principe**

C'est une préparation qui contient tout les substances nutritives (sels minéraux, acides aminés, lipides, glucides, lipides, glucides, vitamines) nécessaires aux cellules .en quantités suffisantes et dans des conditions de vie favorables. Cela implique une composition qui répond aux besoins nutritifs des cellules étudiées, mais également présenter des conductions optimales de croissances (pH, force ioniques).

I-2- 2Matériels**➤ Réactive et produites**

- Milieu de culture MEM /DMEM
- SVF (sérum de veau foetal)
- Antibiotique (Gibco Pénicilline – streptomycine)

➤ Equipements

- Centrifugeuse
- Hotte à flux laminaire vertical munie d'une lampe ultra-violette.
- Incubateur thermostat à CO₂.

➤ Consumable (annexe 5) .**I- 2-3Mode opératoire**

À partir de milieu MEM 10X incomplet, on souhaite préparer 16 mL de milieu MEM 1X complet à 5 % (V/V) de SVF décomplémenté – 0,1 % de solution d'antibiotiques(Gibco Pénicilline – streptomycine)

**Milieu MEM 1X****Milieu MEM 1X +Solution
antibiotique + SVF****Figure14 : schéma représenté la préparation de milieu de culture**

I – 3 – 1 L'évaluation de l'effet photoprotectrice de thé vert

I-3 – 1 Principe :

Cette étude est basée sur L'évaluation de l'effet photoprotectrice de thé vert sur culture cellulaire , Les cellules de les lignée RD et HP2 sont d'abord traitées par concentration non cytotoxique (prétraitement) de thé vert puis irradiée aux rayons UVB ou UVA à la dose phototoxique (prétraitement): afin d'évaluer l'effet photoprotecteur est appréciée par l'évaluation du taux de viabilité cellulaire par rapport à un témoin négative (non irradié /non traité), et deux témoins positive (Irradié /non traité , et irradié traité par le vitamine C), estimée par le test de relargage du rouge neutre (RN,3-amino-7-diméthylamino-2-méthylphénazinehydrochloride

I-3- 2 Matériels :

➤ Matériels biologiques :

Cellules RD : est une lignée cellulaire musculaire adhérente, humain,

Cellules AP2 : est une lignée cellulaire épithéliale adhérente du carcinome laryngé humain.
(ATCC, code CL23)

➤ **Matériel végétal :**

- Infusion du thé
- **Equipements (annexe 5).**

➤ **Réactifs**

- Milieu de culture nutritif liquide MEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium).
- Milieu de culture nutritif liquide DMEM (milieu sans rouge phénole)
- Sérum de veau fœtal (SVF) décomplémenté à 56°C.
- Solution de révélation DMSO
- Trypsine
- Solution de pénicilline
- Vitamine C
- Acétate Réactif de dragendorff
- Réactif de valser Mayer.
- Réactif de bouchardât de sodium.
- Solution de rouge neutre dilué au 1/80 dans RPMI
- Tampon PBS

➤ **Consommables (annexe 5)**

I-3-3 -Mode opératoire

I-3-3_1 à L'exposition AUX rayons UVB

❖ **sur les cellules RD et HP2**

➤ **Pré traitement**

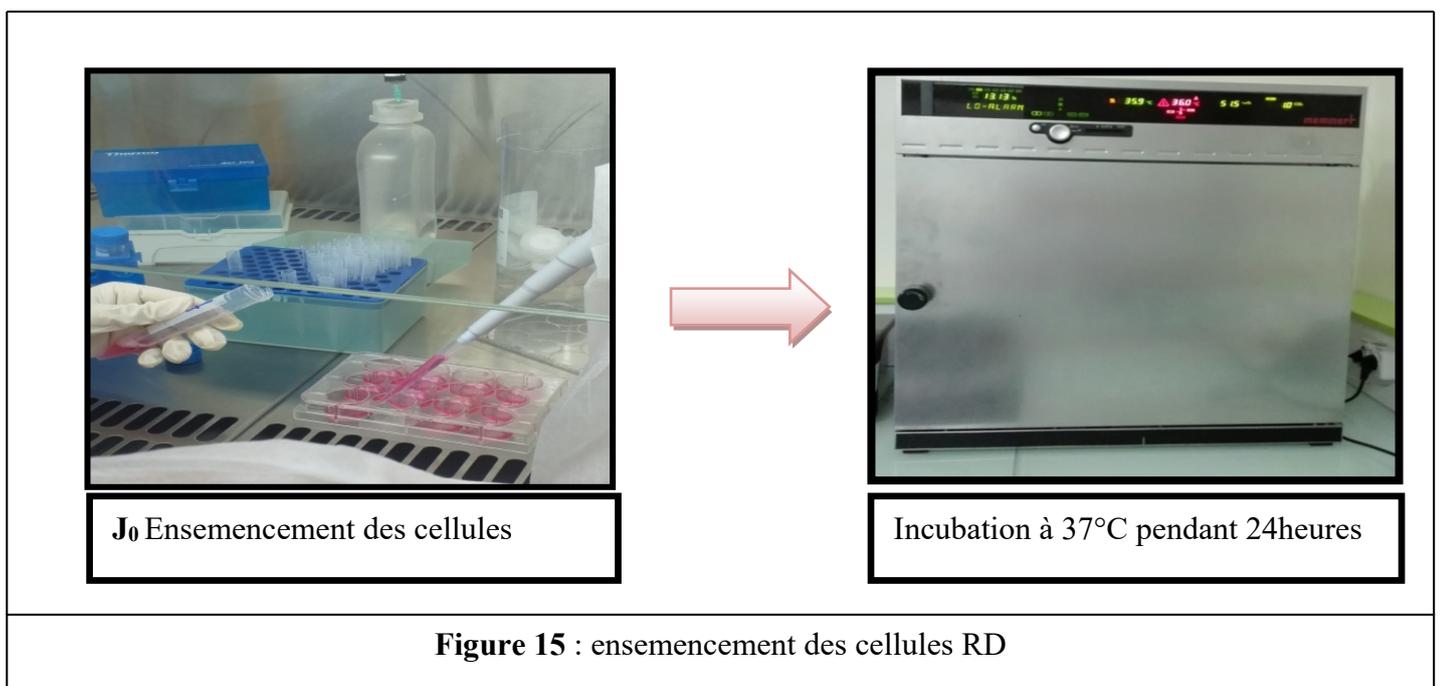
- ✓ **J₀** Ensemencement des cellules après préparation de la suspension cellulaire, pour cela 10⁶ cellules (dénombrées par la cellule de malassez) sont mise en culture dans chaque puits de la microplaque (T-, 2 T-(+), et traité) contenant chacune 1ml de milieu de culture MEM.
 - Les microplaques sont placées 24 heures dans un incubateur réglé à la température de 37° C 5% de CO₂, et 88% d'humidité
- ✓ **J₁** prétraitement par le thé
 - Pré traitement des cellules par la solution de thé à la concentration non cytotoxique (**1/10**)
 - Incuber les cellules pendant 24 heures à l'étuve réglée à 37°c
- ✓ **J₂** irradiation aux rayons UVB à une dose phototoxique.
 - Éliminée le milieu de culture avant l'exposition aux UVB est remplacée par le PBS
 - Les cellules exposées aux UVB à la dose phototoxique, où elles seront irradiées à une distance de 20 cm pendant 3heuers, puis elles sont remises en incubation pendant 24 heures et après avoir éliminé le BPS et le remplacer par le milieu de culture MEM

- Les témoins positifs est exposé aux radiations UVB phototoxique
- Le témoin négatif n'pas exposé aux radiations.
- ✓ **J₄**, test de viabilité cellulaire au rouge neutre
 - Eliminer le milieu de culture de chaque puis ;
 - Déposé 1ml de colorant rouge neutre dans chaque puis et incubé pendant 3 heures à 37°C ,88% D'hygrométrie et 5% de CO₂
 - Eliminer le RN et remplacer le par 1ml de solution de révélation (acide acétique a 1% de l'éthanol à 50°);
 - Agitation pendant 15min
 - Déposer 200ul de chaque puis de culture dans microplaque à 96 puits en triplicata
 - Lecteur au spectrophotomètre à 550 nm.

I-3-3-2 à l'exposition aux UVA

Cette expérience se fait sur les cellules RD, On va Refaire les mêmes étapes qui sont fait sur les cellules HP2 sauf en va exposée à l'irradiation UVA et changé le milieu de culture MEM par DMEM

a) Mode opératoire



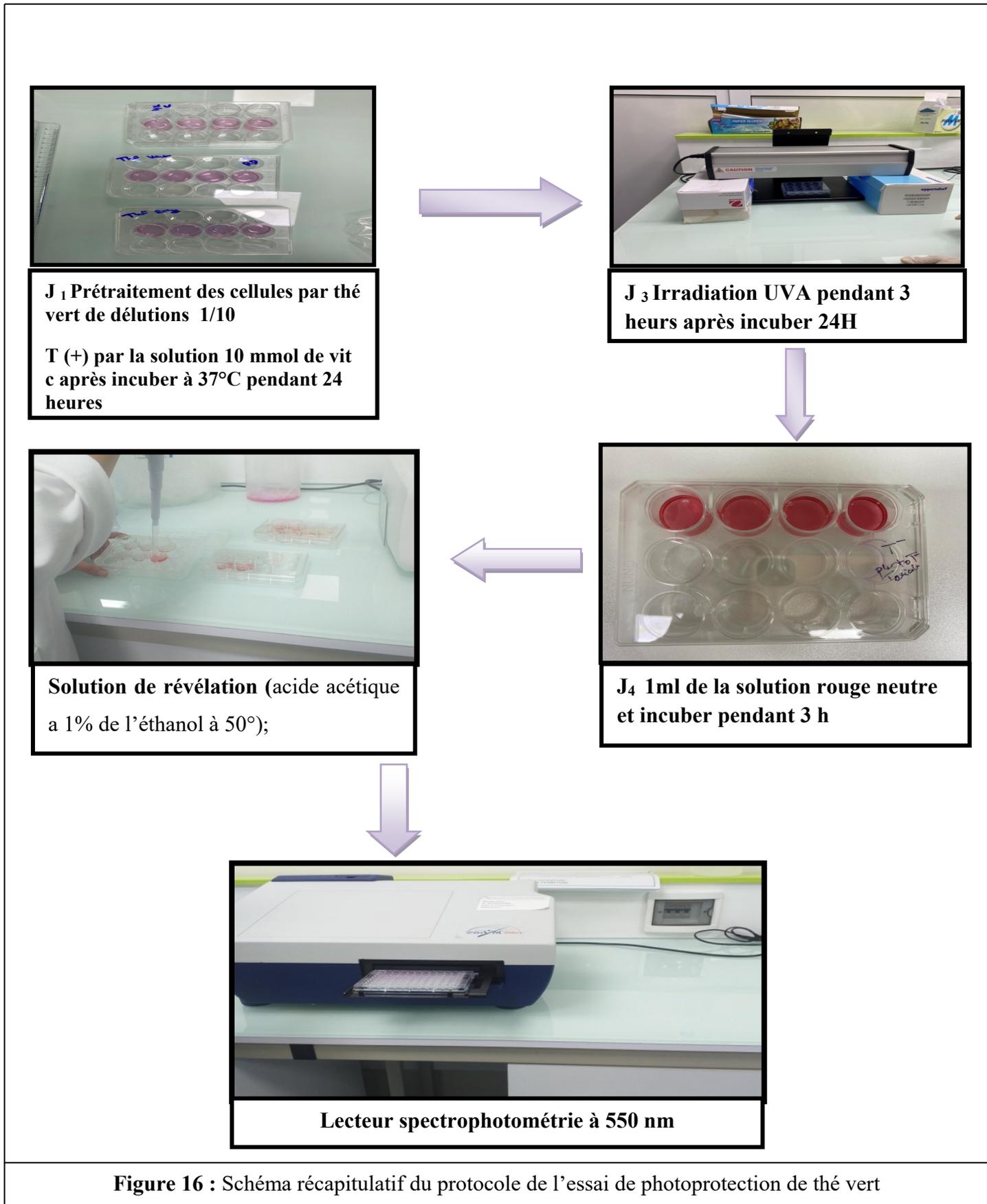


Figure 16 : Schéma récapitulatif du protocole de l'essai de photoprotection de thé vert

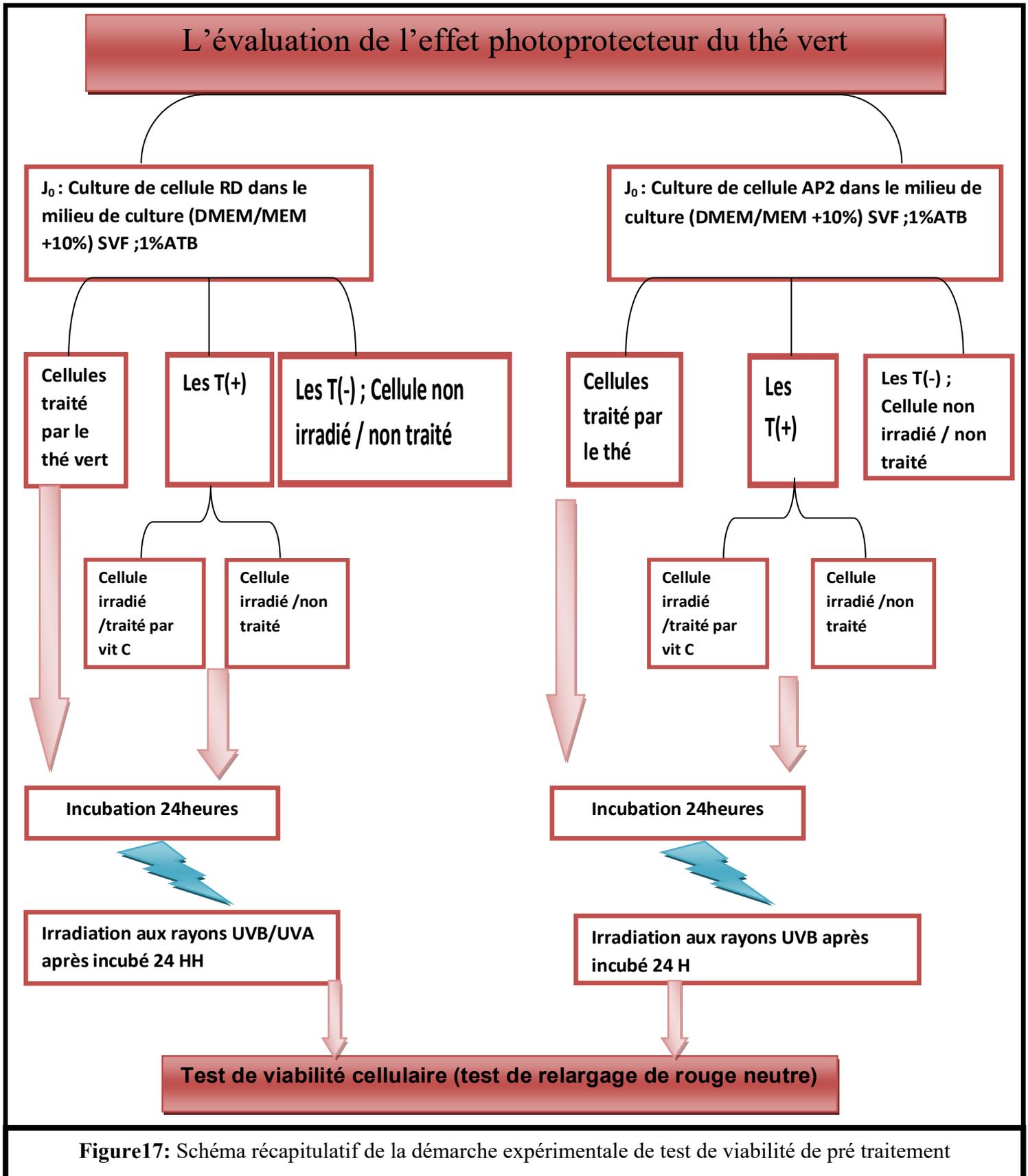


Figure17: Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale de test de viabilité de pré traitement

I – 3 Expression des résultats

- Le pourcentage de viabilité et de mortalité cellulaire est calculé selon la formule :

$$\% \text{ viabilité cellulaire} = \frac{DO \text{ moyenne des puits traités}}{DO \text{ moyenne des puits témoins}} \times 100$$

$$\% \text{ mortalité cellulaire} = 100 - \frac{DO \text{ moyenne des puits traités}}{DO \text{ moyenne des puits témoins}} \times 100$$

Test utilisé : ANOVA suivie par un test de comparaison par paire de Tukey au risque de 5%
(Logiciel : XLSTAT, 2014)

II- 1 L'effet photoprotecteur de thé vert sur la cytotoxicité des UVB /UVA sur les cellules de la lignée RD et HP2

II-1-1 à L'exposition aux UVB :

II-1-1-1 sur la morphologie des cellules

a)les cellules RD

A partir de l'observation microscopique, les cellules traitées à Thé vert montrent un changement dans la morphologie des cellules devient sphérique au lieu de l'aspect fusiforme.

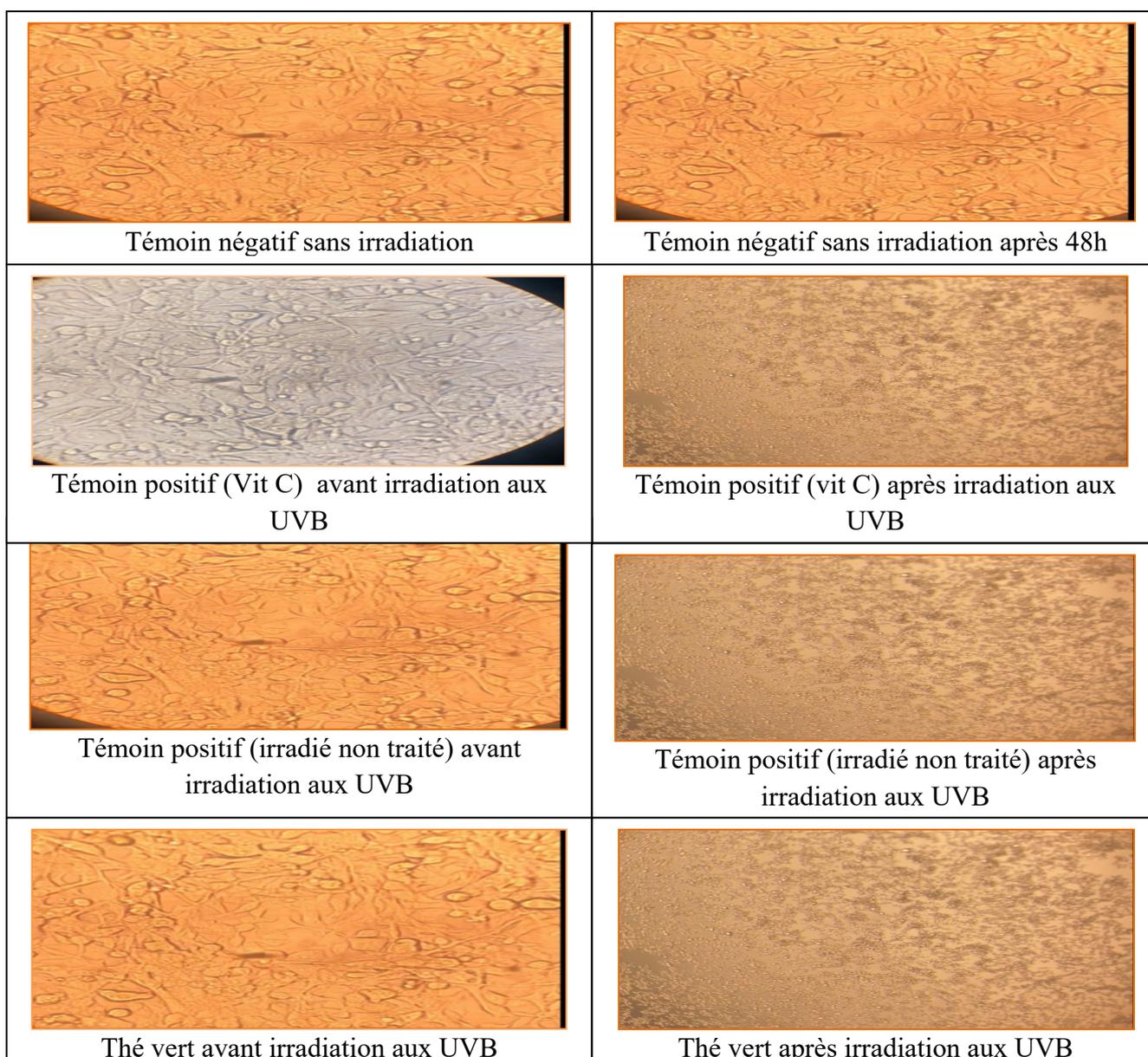


Figure18 : Effet du prétraitement avec du thé vert sur la morphologie des cellules RD irradiées en comparant avec les témoins négatif et positif (GX20).

b) les cellules HP2 :

L'irradiation UVB des cellules à la dose phototoxique en absence de et présence traitement (témoin positif) est représentée à l'échelle morphologique par :

- ✓ Le changement de la forme qui devient sphérique au lieu de l'aspect fusiforme, La perte d'adhérence, La diminution de la densité cellulaire (figure 19)

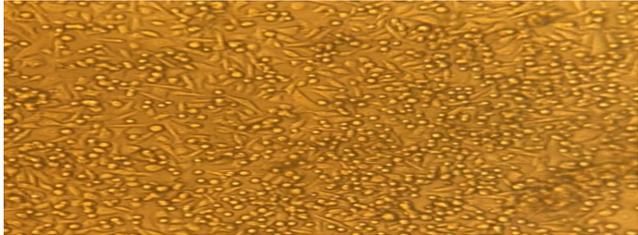
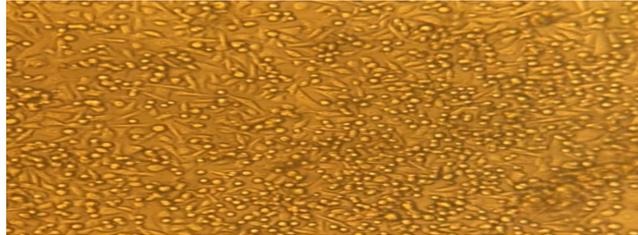
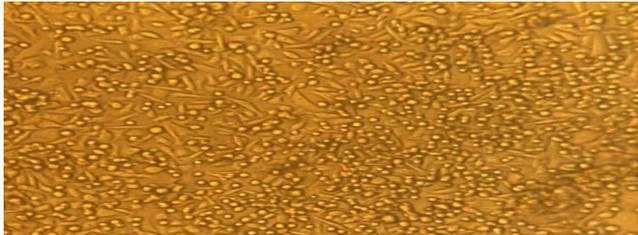
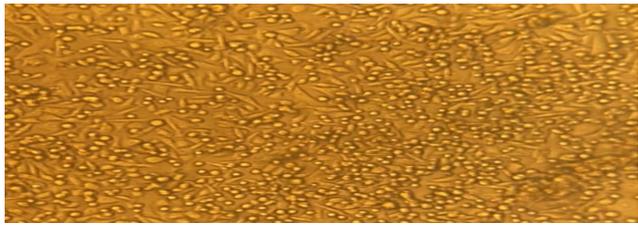
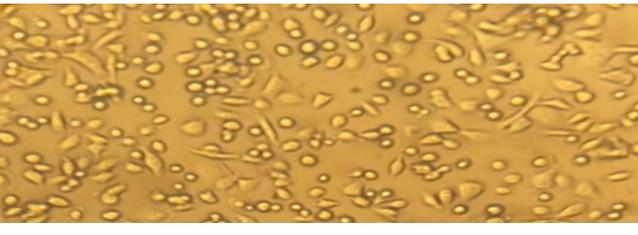
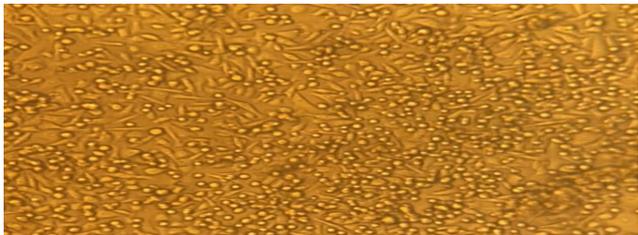
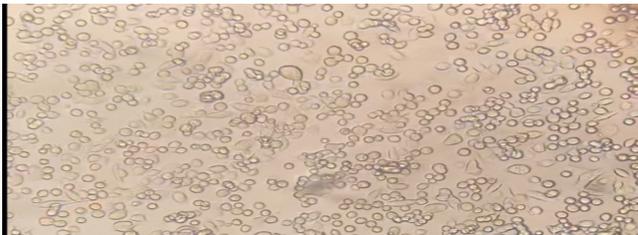
 <p>Témoin négatif sans irradiation</p>	 <p>Témoin négatif sans irradiation après 48 H</p>
 <p>Témoin positif vit C avant irradiation UVB</p>	 <p>Témoin positif vit C après irradiation aux UVB</p>
 <p>Témoin positif (irradié /non traité) avant irradiation UVB</p>	 <p>Témoin positif après (irradié /non traité) irradiation UVB</p>
 <p>Thé vert avant irradiation aux UVB</p>	 <p>Thé vert après irradiation aux UVB</p>

Figure 19: Effet du prétraitement avec du thé vert sur la morphologie des cellules HP2

Irradiées en comparant avec les témoins négatif et positif (GX20).

II-1-1-2 Test de viabilité cellulaire

➤ Cellules RD et HP2

Nous, ne pouvons pas utiliser le test de viabilité cellulaire, car il ya une mortalité total des cellules de les deux lignées ,cette résultat obtenu elle est signifié par deux hypothèse : une erreur de manipulation (utilisation de PBS pendant 3 heures ,elle était une dose hautement cytotoxique ,ou par l'influence de couleur de milieu MEM qui contient le rouge de phénol sur l'irradiations UVB), ou les deux lignées cellulaire sont hautement photosensible a l'exposition aux UVB . Les résultats ont démontré une contradiction avec l'étude de (Hassaine et al ., 2015) effectuée au centre de pharmacotoxicologie au niveau du LNCPP qui confirme la sensibilité de la lignée cellulaire Hep2 aux rayons UVA/B.

II-1-2 l'exposition aux UVA :

II-1-2-1 sur la morphologie des cellules

A partir des observations microscopiques, les cellules de la lignée RD traitées à l'extrait de thé vert ou à la vitamine C, ne montrent pas un changement dans la morphologie des cellules après l'exposition aux UVA (figure 20)

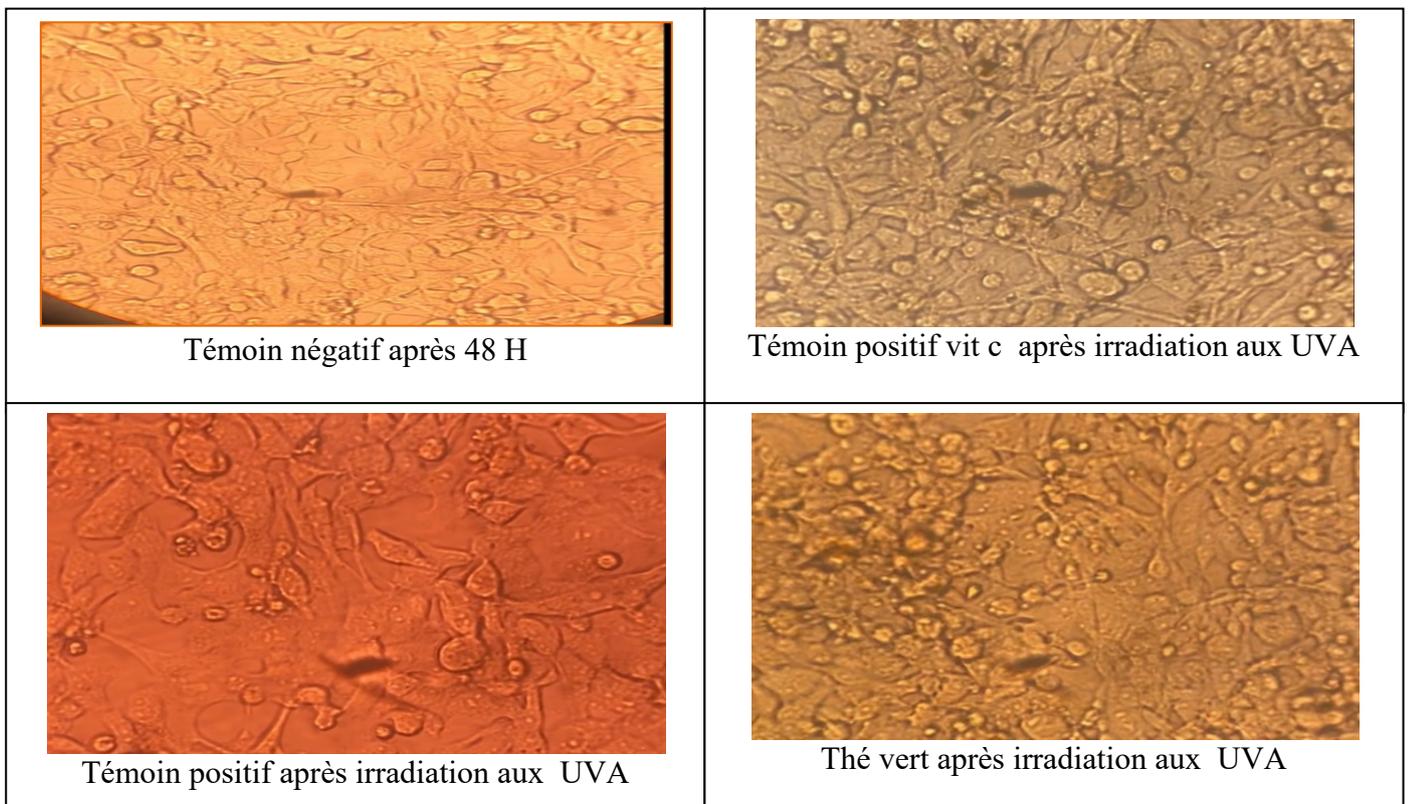


Figure 20 : L'effet photoprotecteur du thé vert à la dose phototoxique des UVA (GX20)

II-1-2-2 Etude Statistique : Viabilité

Test utilisé : ANOVA suivie par un test de comparaison par paire de Tukey au risque de 5% (Logiciel : XLSTAT, 2014).

Tableau 06 : l'effet photoprotecteur du thé vert à l'exposition aux UVA

TRT / Tukey (HSD) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (% VIABILITE) :					
Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr> Diff	Significatif
T (+) vs T (-)	-76,293	-13,620	3,202	< 0,0001	Oui
T (+) vs TV	-53,833	-9,610	3,202	< 0,0001	Oui
T (+) vs VIT C	-44,363	-7,919	3,202	0,000	Oui
VIT C vs T (-)	-31,930	-5,700	3,202	0,002	Oui
VIT C vs TV	-9,471	-1,691	3,202	0,387	Non
TV vs T (-)	-22,459	-4,009	3,202	0,016	Oui
Valeur critique du d de Tukey :			3,475		
Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)	Groupes
T (+)	23,707	3,961	14,573	32,841	A
VIT C	68,070	3,961	58,936	77,204	B
TV	77,541	3,961	68,407	86,675	B
T (-)	100,000	3,961	90,866	109,134	C

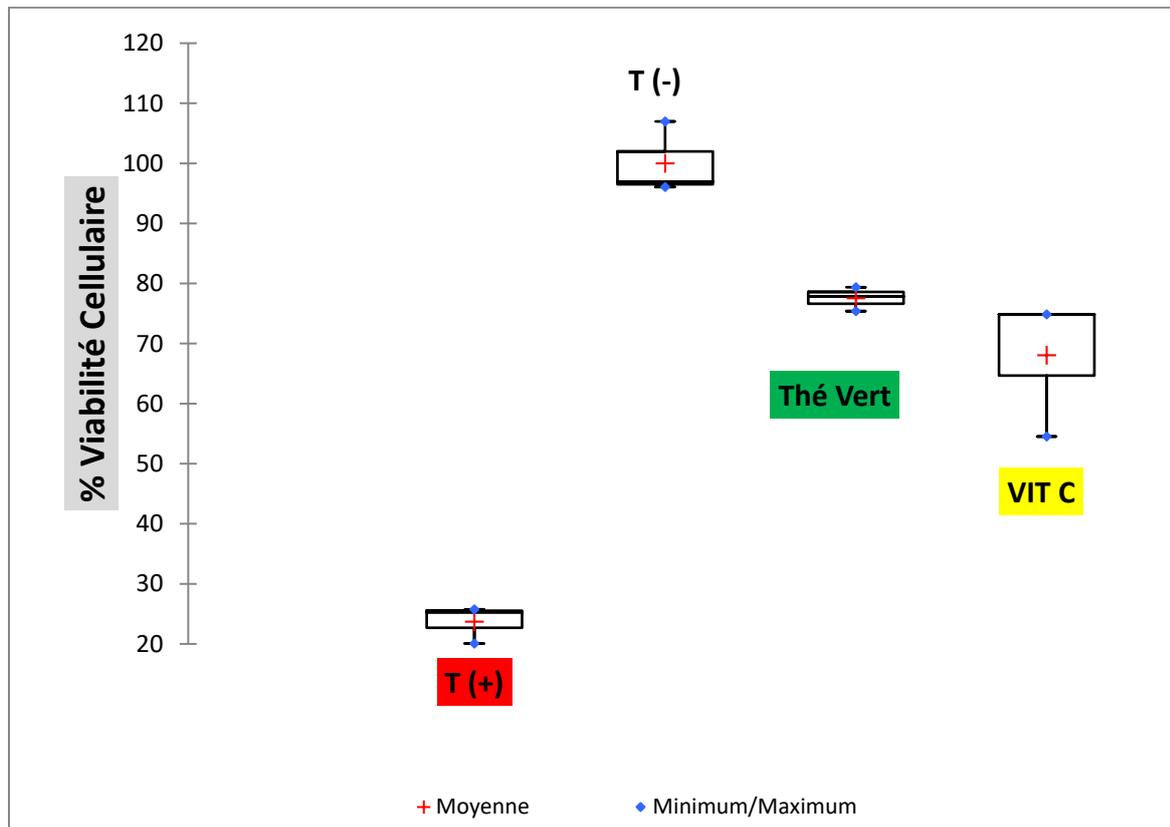


Figure 21 : la viabilité cellulaire de l'effet photoprotecteur du thé vert à l'exposition aux UVA

ns : Différence non significative ($p > 0.05$) ; *** : Différence très hautement significative ($p < 0,0001$) au test ANOVA suivi par un test de comparaison par paire de Tukey.

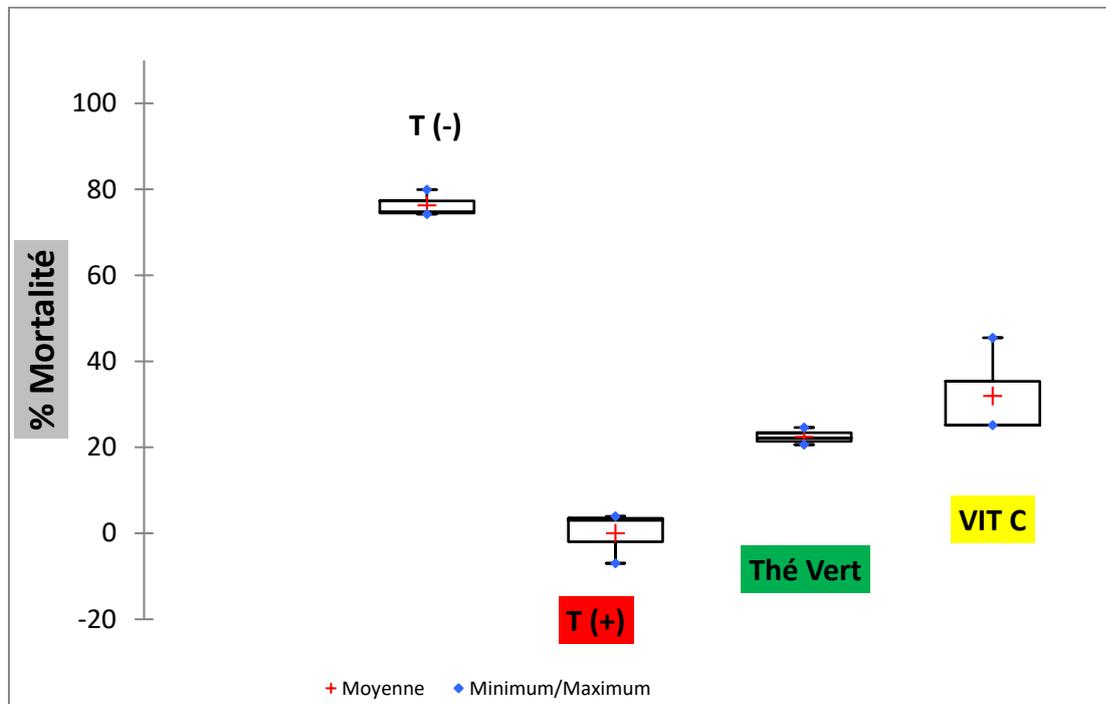


Figure 22 : la mortalité cellulaire à l'exposition aux UVA après traitement

ns : Différence non significative ($p > 0.05$) ; *** : Différence très hautement significative ($p < 0,0001$) au test ANOVA suivi par un test de comparaison par paire de Tukey.

Le thé vert peut réagir avec les espèces réactives de l'oxygène (anion super oxyde O_2^- , radical hydroxyle (OH)), pour produire des radicaux phénoxy stable. Il peut aussi agir comme un antioxydant grâce à leur capacité à complexer les ions métalliques (Frei et al., 2015).

Notre étude elle conduite pour évaluer l'effet photoprotecteur de thé vert lors un stress oxydant induit à l'exposition aux rayons UVA/UVB sur les deux lignées cellulaire RD et HP2.

A l'échelle morphologique, nous avons étudié l'effet photoprotecteur de thé vert sur l'aspect morphologique des cellules RD, après l'exposition à la dose phototoxique d'UVA, On observe que la densité cellulaire dans les lignées traités, à l'extrait de thé vert ou de la dose de vitamine C, elle hautement important par rapport le témoin positif irradié non traité.

Selon l'étude de **Bouguerra (2017)**, se constaté une augmentation de viabilité par rapport à celle des cellules irradiées, par ailleurs, l'absence de modification de la morphologie cellulaire par rapport aux cellules non irradiées et non traitées

D'autre étude, qui montre que le thé vert pourrait être considéré comme un traitement prophylactique antioxydant de l'insuffisance rénale (**Gruau et Sigrist, 2010**).

D'après les résultats de l'étude statistique, ont montré que le thé vert possède un effet protecteur similaire que la vitamine C : C'est –à-dire qu'il n'y a aucune différence significative ($p > 0.05$). Le thé vert a le même effet protecteur que la vitamine C.

Par contre, une différence très hautement significative ($p < 0,0001$) a été notée entre le thé vert et le Témoin positive irradié non traité, qui confirme que le thé vert a un effet photoprotecteur contre les irradiations UVA.

D'autre étude, qui montre que le prétraitement des cellules avec les dilutions 1/32 et 1/64 du thé vert révèlent des taux de viabilité nettement plus élevés qui sont très proche de façon significative de ceux de Témoins négative avec uniquement 9% de mortalité (**Bouguerra, 2017**).

Dans notre résultats en obtient que le prétraitement des cellules RD avec le thé vert diminue la mortalité des cellules après irradiation aux Ultraviolet de 19% par rapport le témoin positive irradié non traité.

Conclusion et perspectives

Dans la présente étude, notre travail consistait à compléter le domaine de la photobiologie, évaluant l'effet photoprotecteur de thé vert contre le rayonnement ultraviolet et l'implication du stress oxydatif dans sa survenue.

Le modèle *in vitro* choisi pour mener notre étude est la culture cellulaire qui est une technique expérimentale alternative à l'expérimentation animale en pharmacologie et toxicologie de but d'évaluation l'effet antioxydant du thé vert sur d'autres lignées cellulaires (sauf les cellules dermiques), et on a réalisé notre expérience sur les deux lignées cellulaires RD et HP2

- Au terme de cette étude expérimentale, il ressort clairement que :
 - Sur le plan cellulaire :
 - ✓ Le thé vert possède un effet similaire à la vitamine C dans la protection des cellules contre l'exposition de rayonnement ultraviolet
 - ✓ Le thé vert protège la morphologie de la cellule contre le dommage induit par le stress oxydatif.

En perspective, il serait intéressant d'effectuer :

- ❖ Le dosage des biomarqueurs de stress oxydatif (glutathion peroxydase, superoxyde dismutase, LDL oxydées.....).
- ❖ L'évaluation de l'effet de la combinaison extrait de thé vert-et l'extrait de propolis afin d'étudier la synergie entre ces deux produits.
- ❖ L'étude *in vivo* de l'activité antioxydant du thé vert.
- ❖ L'étude de l'effet antioxydant de thé vert contre le stress oxydant induit par les microorganismes dans le milieu aquatique (les moules).

Références bibliographiques

- Admaski,H.,Anblard,P;Verret,d.L.(2008).photodermatologie 1er partie malanan son .**Arnette.153:483-494.**
- Ahira,S.(2012).les filtres U.V et les nanoparticules de dioxyde de titane.Thèse de doctorat ,pharmacies ,université de Lille ,107.
- Asmus,K,D.,Bonifacie,M.(2000).Inseuck packer Hanninen Oeditors H andbook of oxidants in exercices **Amesters.132(53).804-823.**
- Avril,M.F.,Brodine,M.(2002).soleil et peau risque prévention édition **Masson.138:20-23.**
- Avril,M.F.,Brodin.,M.,Dreno.P.,maitre.M.(2008).soleil et peau,benefices,risques et prévention .édition **Masson 138:33-66.**
- Bazanella,F .,Ferrara,C., Catucci ,A ., Boga,J.(2012).photoprotection et maladie cutane,**139(9): 583-599.**
- Belot,A.(2005).cancer incidence and mortality . Stress: an essential factor in the pathogenesis **Physiological reviews, 94(2), 329-354.**
- Beaudeau,J.,delattre,P,thernod,D.,Bonnefot.,rousselot.A.(2006).pynet.le stresse oxydants composante, physiopathologie de l'athérosclérose-**21: 144-150.**
- Bersno,B.(2019). Oxidative stress and its possible relation to lower urinary tract functional pathology. **BJU international, 121(4), 527-533.) Applied Physiology, 103(6), 1917-1918.**
- Benarafa,R. (2007).Insulinoresistance et stresse oxydants dans le syndrome métabolique .Thèse de doctorat , médecine, université Algérie , **180**
- Beatrice,S., christiaine,G. Jean,P.C.(2005).état des connaissances sur l'exposition à les risques sanitaires.**177(8): 15-17 .**
- Bedane,C.,Raclandts,R.,(2007).rayonnement ultraviolet si tous les organes peuvent être attient les réactions radicalaire -**134(7): 411- 459.**

Références bibliographiques

- Bedane,C.(2008).photodermatologie.photobiologie cutanee,photoprotection et photothérapies **édition,WoltersKluwer P20**
- Blandine,G.(2006).le stress oxydants induit par voie métaboliques ou par voie gazeuse .Thèse de doctorat ,Médecine , Toulouse , 157 .
- Boubekri, CH. (2014) .études de l'activité antioxydants des polyphénols .Thèse de doctorat, biotechnologie, **Constantine, 121.**
- Brumet,CH.(2014).évaluation du bon usage des produits de production solaires et conseils à l'officine , Thèse de doctorat , **Sétif , 147**
- Bupha,T.(2013).bénéfice et danger du rayonnement solaire et la photoprotection. Thèse de doctorat, Pharmacie, université lorraine ,170 .
- Chapelle,J.P.(2007). Quercetin increases oxidative stress resistance and longevity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of agricultural and food chemistry*, **55(6), 2446-2451.**
- Crickx,B.(2005) comprendre la peau histologie et histophysiopathologie. **Edition : privat , Toulouse , p 96 .**
- D'arazio,J.,Jarret.S.,Amans-ortiz.A.,scorrt.T.(2013).UV radiation and the skin *International Journal of molecular sciences*-**144:6.P.12222-12248.**
- -Deparois,D.(2014).les effets des rayonnements ultraviolettes sur la peau **thèse .157.(30-41).**
- Dermatol.,V.(2005).histologie et histophysiologie de la peau et des annexes In comprendre la peau **édition real: 132: 855-48.**

Références bibliographiques

- Dreno ,B.(2008).anatomie immunologie de la peau et de ses annexes.annales de dermatologie et de vénéréologie-**135:149-152**.
- Dubertret,L. (2006).soleil et sante edition: la voisier:**94-32-39**.
- Duranchova,Z.,D,rolo,F.,houngbe,H.Avode,G.,Amoulou,V.,addia,B,kodjar,N.,Avinradj,M. (2002).oxidants,antioxidants and oxidative stress. **PI Phys & Bioch. 48:909-930**.
- Elhachmi.,S.,year.M.,Gilchrest,B.A.(2005).Avancées dans le domaine du photovieillissement. Contrôle et cause de cancer : **CCC, 12(1), 69-82**.
- Ferraq,M.y.(2007).développement d'un modèle de cicatrisation épidermique après une des épidémisation :photochimie et photobiologie , **126(1), 104-11** . .
- Frei,B.,Higdon,J.v.antioxydant activity of tea,polyphenols in vivant evidence . Jornal animal studies.**32755-32845**.
- Jae-Mim,S.Kurang,H-L (2005).Antiviral effet catechins in grunte a on infleuenza virus antiviral research , 3rd . Springer, **Dordrecht, pp 494 – 506**.
- Jean,N.R.(2012).DNA damage by reactive species:Mechanisme mutation and repair.**Bixa37: 503-517**.
- Justine O.,carole,P.(2005).interjeté de la supplée métafiction en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques . **Science & Sport, 10: 1- 13**.
- Halenz,J.,pincemaif,J.,Defraigen ,J.O,Charlier.,C(2005).espèces réactive au niveau moléculaire. **Pharmacognosy Reviews, 1(1): 30- 40**.
- Hamda,F/Z.,Hadre b.M. (2008) Initiation à l'étude in vitro de l'effet des rayonnement U.V.B l U.V.A à dose non phototoxique.**These de doctorat , pharmacie , université Aen Aknoun alger , 165** .
- Headlam,A.,Michacl,J.,Davies.(2003). all Mediated Reduction of protein and peptide hydroperoxide to reactive free radicals. **Redox Rep. 13: 60 – 66**.

Références bibliographiques

- Huet,M.F., leurentin,J.curacuma.(2013).the vert et chardon-mauce: **Revue médicale de Liège, 62(10), 628-38. .**
- Gendron,B. (2005).ce que doit savoir la pharmacie peau et soleil **Edition , Masson , 188**
- Gerogescu,V,Esteve,E.(2003) .photoprotection antiesythenale systemique . Journal of the National Cancer Institute, **97(3). 199-209**
- Glauzure,C.(2007) . méta-analyses des effets chimi -protecteurs de la curcumine et de the vert sur la cancérogenèse colorectale chez les rangeuses .**Université d'Auvergne-Clermont-Ferrand I).**
- Gonzaly,S.,Fernandey,L.M.,laberte-calzada,Y. (2008).The latest onskin photoprotection . **In Chronic Renal Disease (pp. 663-673).** Academic Press. .
- Guide-OMS.lit de bronzage artificiel risques et recommandation bibliothèque de l'OMS **(2004).IS.BN.124 1590807.**
- Kabouche,S.(2010).étude de la relation du the vert .maladies cardiovasculaires et stressse oxydant . These de doctorat , biologie végétale , **Galma Algérie , 181**
- Khireddine,H. (2014) comprimés des poudres de dattes comme support universel des principes actif de quelque plantes medicinals **d'Algérie .Thèse de doctorat ,phytochimie , Alger , 176 .**
- Cour,J.P., Et Beani,J,C. (2007).photoprotection naturelle photoprotection externe : **The need for vigilance . 135, 807—809 .**
- Maiolo,E.(2013).Benefices et dangers du rayonnement solaires et de sa composants ultraviolet de l'utilisation médicale au nouvelles habitudes de loi .**silts 140(29): 54-69.**
- Marcheix,J.,fleuriet ,A.J.,Allemand,C. (2005) les composants phénoliques des végétaux PPUR presses polytechnique **ISBN.288746.84-84.**
- Martini,M.C.(2011) .Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie .**Edition ,Dunod, paris , p 684 .**
- Martini,M.C.(2009).Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie-Lavoisier **édition 3: 38-63.**
- Mayen ,D.(2005) l'effet sur la sante de l'expression professionnelle aux rayonnement ultraviolet **édition , Masson ,p 154.**
- Meunier ,L. (2008).exposition Solaires et vitamine D.Annales de dermatologie et de vénéréologie.**135:549-550.**

Références bibliographiques

- Meunier,L.(2012).Rayonnements solaire: bases physiques :effet cutané biologique et chimique: E.M.C 7 . **334:1145—9.**
- Meunier,L.(2009).le photoprotection de l'enfant et de l'adolescents .journal de pédiatrie de puériculture **In : Traité EMC : France. p3-5.**
- Moller,I.,jense,P.E.,Hansson ,A.(2007).oxydative modification to cellular components in plants ,Annu .**Rev.plant biol .58:459-481.**
- Mossion,A. (2007).étude de la composition minérale et organique des liqueurs de the et de leur caractéristiques organoleptiques influences des paramètres physico-chimiques de l'eau . Thèse de doctorat, chimie organique , **Lille ,P 204 .**
- Nacer,A.,Bouras,. (2014) the vert.catechines et sante. Mémoire de master, sciences biologiques, université 8mai 1945 Guelma , **105**
- Namita,P,Mukerh,R,Vijay,J. (2012).cemellia sinensis (Greentea). A revue .Global journal of pharmacology.**6(2):52-59.**
- Paky,J.L.,Jekabsons,MB .,lambert,A .J.,porters-oten, MP.,Ampessna,R.Vidalpung,AJ;Wang.S.,Roebuck .(2013). Stresse oxydants conséquences sur la santé .**334:225-265.**
- Pei-gen,X.,Zhen,Y. Teabioactivity and potontiel CRC press 2002.**17-34.**
- Peltier,J,Bytterbery;A.j,sun,Q.,vanwidk,K.J. (2004) new.functions of the membrane proteome of Arabidopsis .**297.49367-49383.**
- Pillon,F.(2016).la photodermatoses . **Edition, Masson, P 38**
- Pineau,P.(2005).peau et soleil revue : **Physico-biological foundation of skin fluorensence (61): 380–386.**
- Piquet,M.A.,hebuterme;X.(2007).Nutrition un pathologie digestives édition **Wolters Kluwer France P.93.**
- Pissarrini,M., (Diffey,B., Marguerie,S.,Carayol,T.,et doucet.D.(2012).predicting the efficacy of sunscreens in vivo veritas – international. Jornal of cosmetic science-**34:44-48.**
- Puzenat,E(2010).pourquoi et comment protège les enfants de soleil. Ardives de pédiatrie.**17(6):914-5.**
- Rassner,G. (2006).Dermatologie manuel et état primerez partie structure et fonction de la peau . **Edition, BioMed Central, P 87.**
- Richard,F. (2004).photoprotection by, sunscreens with topical antioxidants ,and,systemic antioxidants to reduce sun **EX. Bsure.14(4)-317-340.**

Références bibliographiques

- RoetLandts,R. (2007).rayonnements solaires –annales de dermatologie veneteologie .**P134**
- Romaine, P.H. (2017).connaissances et comportent vis-à-vis des risques lies à l'exposition solaire. Thèse de doctorat, médecine, lorraine, **208**
- Rubert,P.(2012).l'apport de cosmétologie dans le photovieillissement : Considerations on photoprotection and **skin disorders** , **139, S83-S91**
- Seny,R.(2016).la photoprotection externe: revue de la littératures et contribution expérimentale à l'évaluation de coefficient de protection **d'une premak antisolaire medicin et pathologie .84-313-490.**
- Shenguin,S.,Joshua,Dlanbert,S.Hou,J.(2004). The vert et leur activité antioxydants : Food Compos. Crit. Rev. **Food Sci. Nutr, 37, 693–704**
- Sies,H.,cadenas,E: oxidative stress-dommage to intact celle and organs philostrans.**R.S.x lond.B Bio.sci.311:617-631.**
- Sigrsit . S.,Gruau,E.(2010).Complication hyperaldosternise et du diabete .Mémoire de master , biochimie , **université de NANTES . 68**
- Spitilles,G.(2007).the important role of lipid per oxidation processuces in Ageing and. **Age.37(1):5-12.**
- Srand,MD-(2003).Ascagnalling rolfor 4 by droscopy-2-nsnenal irregulation of mitochondrial uncompling **embo,22:4103-4110.**
- Stanfield,J.W., Wang ,S.a.,osterwalder,U (2017).comparison of ultraviolet Aligh protection standards in the united states . Evidence from animal studies. Journal of Nutrition, **133(10), 3275S–3284S.**
- Tamomi,M,Masamitsu,S.Hidenki,H.(2017)retinal diseases associated with oxidative stress and the effet of a free radical **Scavenger pharmacologie 83:16-110.**
- Welsch,U.(2004).cytologie histology,anatomie microscopique . **Editeures : Elsevier, paris , p67 .**

Références bibliographiques

-Afssaps produits cosmétiques de protection solaire rapport de synthèse élaboré par groupe de réflexion de l'AFSS sur les produits de protection solaire janvier 2006. (Consulte le 24 juin 2020)(15 :45).

<http://www.gret-landxape.photography.com/ultraviolet.filtration.htm> (consulte le 26/08/2020)(10h : 34).

-Demarchez, M.l'épiderme et la différenciation des kératinocytes biologie de la peau .25 octobre 2015 Disponible sur: «<http://biologie.de.la.peau.fr/spip.php?photoprotection?article10>» (consulte, le 26juin2020)(23h :05).

Annexe I

Tableau : les différents types des rayons ultraviolets et leurs principales caractéristiques

Type de rayons ultraviolets	Longueurs d'onde (nm)	Caractéristiques principales
UV A	<p>UVA 1 (320 à 340 nm)</p> <p>UVA 2 (340 à 400 nm)</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Très peu absorbées par l'atmosphère, ils représentent 95% des UV atteignant la surface de la Terre. -Traversent le verre. -Présents tout au long de l'année et à toute heure. -Considérés pendant longtemps comme inoffensifs, ils sont aujourd'hui reconnus comme néfastes à long terme. -Ils pénètrent jusqu'au derme et sont responsables de la pigmentation immédiate quelques heures après exposition. -Action lente et cumulative, ils participent au photovieillissement et sont cancérigènes.
UV B	280 à 320 nm	<ul style="list-style-type: none"> -Partiellement absorbées par la couche d'ozone, ils représentent 5% des UV atteignant la surface de la Terre. -Ne traversent pas le verre. - Leur intensité varie au cours de l'année et de la journée. -Absorbés très rapidement par l'épiderme, leurs effets s'observent à court terme : ils sont responsables des coups de soleil et du bronzage retardé. -Ils ont également une action cumulative qui présente des risques à long terme : participent au photovieillissement et cancérigènes.
UV C	100 à 280 nm	<ul style="list-style-type: none"> -Complètement absorbé par la couche ozone, ils n'atteignent pas la surface de la terre. -Ce sont les plus dangereux car les plus énergétiques-Brûlent la peau et cancérigène

Annexes

Annexes 2

Définition de la culture cellulaire

Selon la définition du comité de terminologie de l'association américaine de culture de tissu, la culture cellulaire correspond au maintien en dehors de l'organisme de cellules non organisées en tissu mais capable de se diviser et d'exprimer *in vitro* des métabolismes et des fonctions spécifiques.

Une culture cellulaire représente un système expérimental beaucoup plus simple qu'un animal entier se reposant sur la reconstitution *in vitro* des conditions environnementales et nutritionnelles fournies *in vivo* à la cellule.

Méthode de culture cellulaire

VI.2.1 Cultures stationnaires ou en monocouche

Ce type de culture est basé sur l'affinité des cellules pour un support fixe (le fond de la paroi d'un flacon ou de la boîte de culture) où elles vont s'y développer.

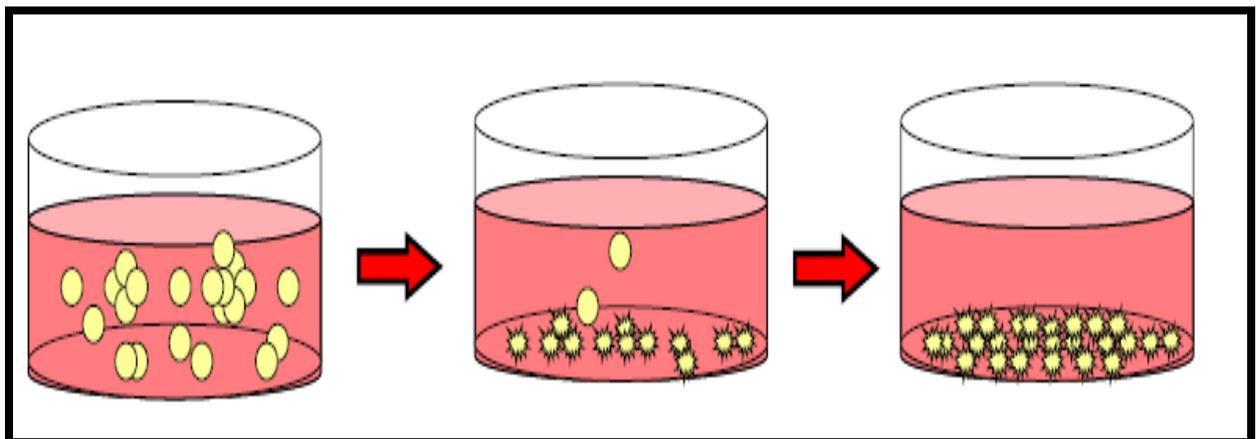


Figure : Cellules en suspension

Annexes 3: Préparation des solutions

Préparation de la solution du rouge neutre :

Le rouge neutre : le rouge neutre est un composé aromatique hétérocyclique. Est un indicateur de PH, rouge en milieu acide ou neutre. A très faible concentration il pénètre dans la cellule puis dans la vacuole dont il colore le contenu. il se comporte comme un colorant vital.

- Préparer une solution mère de rouge neutre à la concentration de 0.4% (4mg/1mL) dans de l'eau distillée.
- Diluer cette solution mère au 1/80 dans du milieu de culture complet (RPMI avec du SVF) : concentration finale de 50 µg/mL.
- Incuber la solution fille pendant 18 heures à 37°C, puis la centrifuger à 1800 rpm pendant 10 minutes avant l'utilisation.

Préparation de la solution de révélation :

Solution d'acide acétique-éthanol à 1% : ajouter 1 mL d'acide acétique glacial à 99 mL d'éthanol 50°.

Préparation de PBS (solution tampon)

-Dissoudre les composants suivants dans 1000ml d'eau distillé.

- 8g de chlorure de sodium NaCl.
- 0.2g de chlorure de potassuim KCl.
- 1.15g de Na²HPO₄.
- 0.2g de KH² PO₄.

-Ajuster PH à 7.4, et le volume à 1 ml d'eau distillé.

-Stériliser la solution à l'autoclave.

-Après refroidissement, l'isotonie du tampon PBS est vérifiée.

-vérification de la stérilité de la préparation au niveau de laboratoire de microbiologie.

Annexes 04

Préparation de la solution trypsine (0.25%)-EDTA (0.53 mmol/L) :

-Dissoudre les composants suivants dans 1000 mL d'eau distillée.

-8g de chlorure de sodium (NaCl).

-0.2g de chlorure de potassium (KCl).

-1.15g d'hydrogène-phosphate de sodium (Na^2HPO_4).

-0.2g de dihydrogène-phosphate de potassium (KH_2PO_4).

-2.5g de trypsine.

-0.16g d'EDTA (2N).

- Ajuster le volume à 1L avec de l'eau distillée

Annexe 5

Materiels

❖ **Préparation de milieu de culture**

Consommables

- Tubes à fond conique.
- Pipettes en verre stériles (10ml 5ml).
- Micropipettes
- Tubes à essais

❖ **L'évaluation de l'effet photoprotecteur de thé vert**

➤ **Equipements**

- Balance de précision.
- Portoirs..
- Spatule.
- Centrifugeuse
- Hotte à flux laminaire vertical munie d'une lampe ultra-violette.
- Incubateur thermostaté à CO₂.
- Microscope inversé.
- Lampe UVA/B à 8 watt.
- Spectrophotomètre UV/Visible.

➤ **Consommables**

- Tubes à fond conique.
- Pipettes en verre stériles (10ml 5ml).
- Micropipettes. .
- Microplaque à 96 puits.