

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences Saad Dahlab, Blida
Faculté des Sciences Agro-vétérinaire
Département d'Agronomie

Mémoire du projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme Du
Diplôme

Master en Nutrition et contrôle des aliments

Thème

***Effet du lycopéne sur la structure
cardiaque des rats
hyperhomocystéinémiques***

Encadré par :

M^{me} IDRES Aicha

Présenté par :

BELKERMI Dalila

Devant le jury composé de :

Promotrice : Mme IDERES Aicha

Présidente : Mme DEFFAIRI Djamila

Examinatrice : Mme ABDLAOUI Zakia

Examinatrice : Mme ACHEHEB Hakima

2011-2011

Remerciements

*Je tiens à remercier très sincèrement **Madame le professeur BENAZZOUG. Y**, chef de l'équipe biochimie et remodelage de la matrice extracellulaire pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire, sa présence et son soutien. .*

*Je remercie chaleureusement **Madame IDRES Aicha** pour avoir accepté d'être la promotrice de mon mémoire, ainsi que pour son esprit de responsabilité et pour son encadrement scientifique, qui ont conduit à ce travail.*

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à **Madame OTHMANI Khira**, **Mr TAGHLIT Rachid**, notre ingénieur, **Mme KHEDIS Lila**, **Mr Hamdis nacim** et à tous les chercheurs de l'équipe de Biochimie et remodelage de la matrice extracellulaire d'USTHB .*

*Un grand merci à docteur **SAIDI.M** et docteur **KESSI** et à toute l'équipe de laboratoire des analyses biochimiques de la polyclinique de BORDJ EL KIFANE.*

Pour le membre de jury

Madame DEFFAIRI D, Madame ABDLAOUI Z, Madame ECHHEB.H,

Je vous suis reconnaissante d'avoir bien voulu accepter de participer au jury de soutenance de mon mémoire.

DÉDICACE

Je salue ici la mémoire de mon père, Repose en paix...

Je dédie ce modeste travail

A ma mère...

Pour son amour, son aide et son soutien si précieux,

Elle me donne le sourire, me rends heureux,

Pour toute son affection depuis l'enfance,

Pour tous ces moments précieux à ses côtés

*A mes chers grands parents qui ont toujours été à mes côtés, m'encourager, me soutenir
tout au long de mes études et qui m'ont donné un magnifique exemple de labeur et de
persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout
mon amour.*

*A mes chers frères et sœurs et toute ma famille pour leurs patiences et leurs soutiens
qu'ils n'ont cessés d'apporter au cours de mes études.*

Un très grand merci A Asma, Ryme, Kahina, et tous mes amis

Samira, Jasmine, Meriem, Zineb, Amina, Hanan, mehdi, ali, Hicham et toute la promo

SMU 2012.

Merci à tous ceux que j'aime.

DALILA

Table de matière

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : L'HOMOCYSTEINE ET L'HYPERHOMOCYSTEINEMIE	
I. L'HOMOCYSTEINE.....	2
I.1. HISTORIQUE.....	2
I.2. DEFINITION.....	2
I.3. METABOLISME DE L'HOMOCYSTEINE.....	3
I.3.1. DEMETHYLATION DE LA METHIONINE EN HCY.....	3
I.3.2. REMETHYLATION DE L'HCY EN METHIONINE.....	3
I.3.3. TRANS SULFURATION DE L'HCY.....	3
I.4. LES DIFFERENTES FORMES PHYSICOCHIMIQUES D'HOMOCYSTEINE CIRCULANTES.....	4
II. L'HYPERHOMOCYSTEINEMIE.....	5
II.1. DEFINITION.....	5
II. 2. CLASSIFICATION DES HYPERHOMOCYSTEINEMIES.....	5
II.3. PRINCIPAUX FACTEURS FAVORISANT L'HYPER-HOMOCYSTEINEMIE.....	6
II.3.1. ORIGINE GENETIQUE.....	6
II.3.2. DEFICIT NUTRITIONNEL.....	7
II.3.3. MEDICAMENTS.....	7
II.3.4. SUBSTANCES.....	7
II.3.5. CONDITIONS MEDICALES.....	7
III. HYPERHOMOCYSTEINEMIE ET LES MALADIES CARDIOVASCULAIRES :.....	8
IV. L'HOMOCYSTEINE ET LES MALADIES CARDIOVASCULAIRES.....	8
V. HYPERHOMOCYSTEINEMIE ET STRESS OXYDATIF.....	8
CHAPITRE II : LYCOPENE	
II.1. HISTORIQUE	9
II.2. DEFINITION	10
II.3.STRUCTURE CHIMIQUE.....	10
II.4. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES	11
II.5. SOURCES ALIMENTAIRES DE LYCOPENE	12
II.6. NIVEAU DE CONSOMMATION DU LYCOPENE.....	13
II.7. ABSORPTION ET METABOLISME DU LYCOPENE.....	14

II.8. LES CONCENTRATIONS TISSULAIRES DE LYCOPENE.....	17
II.9. MECANISMES D'ACTION.....	18
II.10. LES EFFETS DU LYCOPENE.....	19
II.10.1 LES MALADIES CARDIOVASCULAIRES :.....	19
II.10.2 LYCOPENE ET L'INFLAMMATION	19

III PARTIE MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL :.....	21
I. 1. CHOIX DES ANIMAUX.....	21
I. 2. DONNEES BIOLOGIQUES DU RAT	22
a. CONDITION D'ELEVAGE EN ANIMALERIE	23
b. REGIME ALIMENTAIRE	23
c. PROTOCOLE EXPERIMENTAL	23
II.METHODES :.....	25
1- METHODES OPERATOIRES :.....	25
A- TECHNIQUE D'ADMINISTRATION PAR GAVAGE ORAL.....	26
B- EVOLUTION DU POIDS CORPOREL ET	
C- DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES	26
D- LE SUIVI DES PARAMETRES PLASMATIQUES.....	26
E- PRELEVEMENT DES ORGANES.....	26
2- METHODES ANALYTIQUES	27
2.1 DOSAGE DE L'HOMOCYSTEINE :.....	27
2.2 DOSAGE DU CHOLESTEROL.....	28
2.3DOSAGE DES TRIGLYCERIDES.	28
2.4DOSAGE DU HDL- CHOLESTEROL.....	29
2.5DOSAGE DU LDL-CHOLESTEROL.....	29
2.6DOSAGE DE L'UREE.....	30
2.7DOSAGE DES ACTIVITES ENZYMATIQUES	
DANS LE SERUM DES RATS.....	31
2.7.1 LES TRANSAMINASES SERIQUES OU AMINO	
TRANSFERASES.....	31
2.7.1.1LA TRANSAMINASE GLUTAMIQUE OXALOACETIQUE	

(ASAT).....	31
2.7.1.2 LA TRANSAMINASE GLUTAMO-PYRUVIQUE (ALAT)..	32
2.8 DOSAGE DE LA CREATINE KINASE MB (CK-MB).....	33
3. METHODES HISTOLOGIQUES.....	33
3.1.FIXATION	34
3.2.DESHYDRATATION.....	34
3.3. ECLAIRCISSEMENT.....	34
3.4.IMPREGNATION	34
3.5.INCLUSION	34
3- COLORATION TOPOGRAPHIQUE.....	34
4- METHODES STATISTIQUES.....	34
IV.RESULTAS	36
1. POIDS DES ANIMAUX	36
2. EVOLUTION DES PARAMETRES DE LA BIOCHMIE PLASMATIQUE.....	37
2.1L'HOMOCYSTEINEMIE.....	38
2.2 LES LIPIDES PLASMATIQUES	38
2.2.1 CHOLESTEROL TOTAL	38
2.2.2LA TRIGLYCEREDEMIE	39
2.2.3 LE CHOLESTEROL HDL	40
2.2.4LE CHOLESTEROL LDL	41
2.3L'UREMIE.....	42
.2.4 LES TRANSAMINASES SERIQUES OU AMINO TRANSFERASES.....	42
2.4.1 ASAT PLASMATIQUE	42
2.4.2 ALAT PLASMATIQUE	43.
2.5 MARQUER CARDIAQUE CREATINE KINASE MB(CKMB).....	44
3. STRUCTURE HISTOLOGIQUE DE LA PAROI CARDIAQUE	45
3.1 EFFET DU LYCOPENE SUR LES CHANGEMENTS HISTOPATHOLOGIQUE DU MUSCLE CARDIAQUE DES RATS HYPERHOMOCYSTEINEMIQUE.....	46
V.DISCUSSION	50
CONCLUSION	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	
ANNEXE	

Abréviations

5-MTHF	: 5-méthyl-tétrahydrofolate.
ADN	: Acide désoxyribonucléique.
ADP	: Adenosine diphosphate.
AGPI	: acides gras polyinsaturés acides .
ALAT	: Alanine AminoTransférase.
ASAT	: Aspartate AminoTransférase.
BHMT	: Bétaïne-homocystéine methyltransferase.
C β S	: Cystathionine-β-synthase.
CK-MB	: Créatine kinase band myocardique.
CK	: Créatine kinase.
CMO	: carotène 9,10-oxygénase enzymatique.
EDTA	: Acide éthylènediamine-tétraacétique.
FPIA	: Immuno-assay par polarization fluorescente.
GPT	: Glutamate pyruvate transaminase.
GPX	: glutathion peroxydase .
HDL	: High density lipoprotein.
Hcy	: Homocystéine.
Hhcy	: Hyperhomocystéinémie.
HMG-CoA	: Hydroxy-méthyl-glutaryl-CoA.
HO-1	: Hème oxygénase-1
IL-6	: Interleukin-6.
LDH	: Lactate DesHydrogénase.
LDL	: Low density lipoprotein.
lyc-tomate	: lycopène-tomate .
MAT	: Méthionine adénosyl transférase.
MDH	: malate déshydrogénase .

MMP	: Métalloprotéinase matricielle.
MS	: Méthionine synthase.
MTHFR	: Methylene tetrahydrofolate réductase
MAT	: Methionine-adenosyl-transférase
NADPH	: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogene.
ROS	: Espèce réactive de l'oxygène.
SAH	: S -adénosyl- homocystéine.
SAM	: S –adénosylméthionine.
SR-BI	: Receptor Class B Type I
TBARS	: Substances Réagissants avec l'Acide Thiobarbiturique.
TGO	: Glutamate oxaloacetate.
tHcy	: Homocystéine plasmatique total.
THF	: Tétrahydrofolate.
HS	: Thiol libre .
VLDL	: Very low density lipoprotein.

Listes des figures

Figure	Titre	page
1	La structure chimique de l'homocystéine (Luciene de Souza <i>et al.</i> 2010).	2
2	Métabolisme de l'homocystéine (Caussé., 2008).	4
3	La formule chimique de l'homocystéine et ses formes circulantes dans le plasma (Guilland <i>et al.</i> , 2003 et Thomas et Williams, 2004).	5
4	Structure moléculaire du lycopène (Rao <i>et al.</i> , 2006).	10
5	Schéma représentatif du métabolisme du lycopène (Supidita, 2008).	15
6	Structure de trois caroténoïdes : β -carotène, α -carotène et les isomères géométriques du lycopène (Ngyuen & Schwartz 1999).	16
7	Schémas de la voie métabolique du lycopène (jonathan R <i>et al.</i> , 2012).	17
8	Pastilles de lycopène (lyc-o-mato, 10mg).	24
9	Evolution pondérale (g) des rats des différents lots	36
10	Evolution de l'homocystéinémie ($\mu\text{mol/L}$) des rats des différents lots.	38
11	Evolution de cholestérolémie (g/L) des rats des différents lots.	39
12	Evolution de triglyceredmie (g/L) des rats des différents lots .	40
13	Evolution de HDL (g/L) des rats des différents lots.	41
14	Evolution LDL(g/L) des rats des différents lots.	41
15	Evolution de l'urémie (g/L) des rats des différents lots	42
16	Evolution d'ASAT (g/L) des rats des différents lots	43
17	Evolution d'ALAT (g/L) des rats des différents lots	44
18	Evolution de CK-MB (U/L) des rats des différents lots	45
19	Structure de myocarde des rats témoins colorée par e trichrome de masson.	48
20	Structure de myocarde des rats hyperhomocysteinemiques colorée par le trichrome de masson.	48
21	Myocarde du rat hyperhomocysteinemique coloré par le trichrome de masson.	48
22	Structure du myocarde des rat soumis a la méthionine et au lycopène colore par le trichrome de masson.	49

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
1	Classification des hyperhomocystéinémies (Mouchabac ,2008).	6
2	Contenu en caroténoïdes ($\mu\text{g}/100\text{g}$) des tomates et du jus de tomate (Canene-Adams, 2005).	11
3	Propriétés du lycopène (Shie et Le Maguer, 2000).	11
4	Taux de perte du lycopène lors de la cuisson du jus de tomate (Shie, Le Maguer, 2000).	12
5	Apport, en lycopène, de la tomate et des produits à base de tomate (Agarwal et Rao, 2000).	12
6	Concentration en lycopène ($\text{mg}/100\text{g}$) contenue dans différents aliments (Khachik et <i>al.</i> , 2002).	13
7	Teneur en lycopène de produits issus de la transformation des tomates.	14
8	Quantité de lycopène (nmol/g) dans les tissus humains (Agarwal S et Rao A., 2000). Source: USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21(μg) Content of selected food per common Measure,lycopene sorted by nutrient content.	18
9	Paramètres du milieu ambiant de l'animalerie.	21
10	Traitements administrés aux rats suivant les lots.	23
11	Evolution pondérale (g) des rats des différents lots	36
12	Evolution de l'homocystéinémie ($\mu\text{mol}/\text{L}$) des rats des différents lots.	37
13	Evolution de cholestérolémie (g/L) des rats des différents lots.	38
14	Evolution de triglycéridémie (g/L) des rats des différents lots.	39
15	Evolution de HDL (g/L) des rats des différents lots.	40
16	Evolution LDL (g/L) des rats des différents lots.	41
17	Evolution de l'urémie (g/L) des rats des différents lots.	42
18	Evolution d'ASAT (g/L) des rats des différents lots.	43
19	Evolution d'ALAT (g/L) des rats des différents lots.	44
20	Evolution de CK-MB (U/L) des rats des différents lots.	45

Résumé

De nombreuses études épidémiologiques ont démontré que l'augmentation de l'homocystéine constitue un facteur de risque des maladies athérosclérotiques et thrombotiques. Plus personne ne conteste aujourd'hui l'impact positif de la consommation de fruits et légumes sur la santé. En effet, ils participent à la prévention des principales pathologies qui affectent nos sociétés occidentales : cancers, maladies cardio-vasculaires. Leur consommation se traduit par une augmentation de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Au niveau de notre expérimentation, Une **hyperhomocystéinémie** expérimentale a été induite par une administration *per os* de la **méthionine** (500mg/kg de pc/j). L'impact de ce facteur de risque des maladies cardio-vasculaires a été analysé au niveau, pondéral, plasmatique par le dosage de certains paramètres biochimiques (Homocystéine, Cholestérol, Triglycérides, HDL- cholestérol, LDL-cholestérol, L'Urée, ASAT, ALAT la CK-MB), et au niveau tissulaire. Il consiste en l'analyse des répercussions d'une hyperhomocystéinémie sur la biochimie plasmatique et l'histologie de la paroi cardiaque de *Rattus norvegicus* d'une part et de montrer que le lycopène administré de façon préventive, est susceptible de réduire ou prévenir l'apparition de dérégulations métaboliques causées par une hyperhomocystéinémie d'autre part.

Nos résultats révèlent que l'hyperhomocystéinémie engendre une augmentation du poids corporel, des perturbations de nombreux paramètres biochimiques plasmatiques, Alors que le prétraitement par le lycopène à raison de (5mg/kg/pc/j) a un effet bénéfique, pour la prévention des **maladies cardiovasculaires** causées par une hyperhomocystéinémie, chez le rat *Wistar* mâle traités pendant 03 mois.

Nos résultats montrent, également, qu'au niveau tissulaire, les altérations observées touchent essentiellement la modulation de la composition de la matrice extracellulaire, les cardiomyocytes et la vascularisation cardiaque mettant en exergue un remodelage cardiaque.

Mots clés :

Hyperhomocystéinémie, Maladies cardiovasculaires, Lycopène.

Abstract

Numerous epidemiological studies have shown that increased homocysteine is a risk factor for atherosclerotic and thrombotic diseases. No one today disputes the positive impact of the consumption of fruits and vegetables on health. In fact, they contribute to the prevention of major diseases affecting Western societies: cancer, cardiovascular disease. Consumption results in an increase in the antioxidant capacity of plasma in the hours after a meal. At our experiment, experimental Hyperhomocysteinemia was induced by oral administration of methionine (500mg/kg bw / day). The impact of this risk factor for cardiovascular disease was analyzed level, weight, plasma for the determination of certain biochemical parameters (Homocysteine, Cholesterol, Triglycerides, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, the urea, AST, ALT the CK-MB), and at the tissue level. It consists of analyzing the impact of hyperhomocysteinemia on plasma biochemistry and histology of the heart wall *Rattus norvegicus* one hand, and to show that lycopene administered preventively can reduce or prevent appearance of metabolic dysregulation caused by hyperhomocysteinemia other. Our results show that hyperhomocysteinemia causes an increase in body weight, disturbances of many biochemical plasma While pretreatment with lycopène because (5mg/kg/pc/j) has a beneficial effect for the prevention of cardiovascular diseases caused by hyperhomocysteinemia, male Wistar rats treated for 03 months.

Our results show also that the tissue level, the observed alterations mainly affect the modulation of the composition of the extracellular matrix, cardiomyocytes and cardiac vasculature highlighting cardiac remodeling.

Keywords:

Hyperhomocysteinemia, cardiovascular diseases, Lycopène.

الملخص

استحدثنا حالة ارتفاع نسبة الأموسيسيين البلازمي على ذكور فئران مخابر بإطعامهم مادة المثيونين (500 مع/كغ من الوزن في اليوم) و اليلكوبان (500 مع/كغ من الوزن في اليوم) و ذلك لمدة ثلاثة أشهر. ثم قمنا بتحليل مختلفة و لاحظنا أن الأموسيسيين قد أحدثت تغيرات في الوزن الجسمي, البلازما والأنسجة. نتائجا تشير إلى أن حالة ارتفاع نسبة الأموسيسيين البلازمي أدت إلى ارتفاع الوزن و تغيرات مختلفة على المستوى البلازمي (كلستيرول, تريغلسريدات و البروتينات.....). اما اليلكوبان فلم نلاحظ اي تغيرات على المستوى البلازمي. في الجانب النسيجي سجلنا تغيرات على الأساس في تركيبة الوسط خارج خلوي (من بينها الكلاجين I و II, الجليكوبروتينات والبروتيوجليكانات), خلايا القلب و الأوعية القلبية.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Au cours de ces vingt dernières années, l'hyperhomocystéinémie a émergé comme un facteur de risque cardiovasculaire (**Andreotti et al., 2000; Durand et al., 2001; Lentz et Haynes., 2004**). Ainsi, il a été montré qu'une augmentation modérée de l'homocystéine plasmatique était observée chez des sujets à risque et atteints de maladies cardiovasculaires et pouvait prédire la survenue d'évènements athéromotiques (**De bree et al., 2002; Zylberstein et al., 2004; Casas et al., 2005; Boger et al., 2009**).

De nombreuses études rétrospectives et prospectives ont établi de manière unanime une relation indépendante entre une augmentation même légère de l'homocystéine d'une part et les maladies cardio-vasculaires et la mortalité totale d'autre part.

L'homocystéinémie, facteur de risque indépendant des maladies cardio-vasculaires, est rendue responsable d'environ 10 % du risque global. On considère que les augmentations de concentration (hyperhomocystéinémie modérée > 12 $\mu\text{mol/l}$) entraînent une toxicité cellulaire et que 5 à 10 % de la population générale et jusqu'à 40 % des patients atteints de maladies vasculaires présentent de telles augmentations.

Des facteurs de risque supplémentaires (tabagisme, hypertension artérielle, diabète et hyperlipidémie) peuvent majorer le risque global de façon additive ou de façon synergique et hyperproportionnelle par interaction avec l'homocystéine. L'hyperhomocystéinémie entraîne, en plus des modifications de la morphologie vasculaire, une perte de la fonction endothéliale antithrombotique et l'induction d'un milieu procoagulant. La plupart des altérations connues sont attribuées à un stress oxydatif reposant sur l'homocystéine.

Au cours de ces dix dernières années, les sciences de la nutrition se sont considérablement développées autour de concepts de nutrition préventive et d'aliments fonctionnels. Certains nutriments sont susceptibles de réduire ou prévenir l'apparition de dérégulations métaboliques alors que d'autres peuvent au contraire provoquer des cascades d'évènements délétères favorisant le développement de nombreuses pathologies telles les maladies cardiovasculaires athéromotiques. De ce fait, l'alimentation ne peut plus être considérée comme permettant exclusivement de satisfaire les besoins énergétiques et structuraux, il s'agit d'envisager les nutriments comme de véritables promoteurs de la santé (**Roberfroid, 1999; Roberfroid, 2000**).

Dans ce cadre, des études épidémiologiques ont montré que la consommation de fruits et légumes avait un impact bénéfique, attribué en partie à certains micronutriments dont les caroténoïdes, sur ces pathologies et sur certains types de cancer. Parmi ces caroténoïdes, le lycopène occupe une place importante.

Des études ont suggéré qu'il est spécifiquement et individuellement liés à une diminution des pathologies cardiovasculaires et de ses complications.

Dans ce présent travail, un état d'hyperhomocystéinémie est induit chez des Rats *Wistar* provenant de l'animalerie de l'USTBH, par administration quotidienne d'une dose chronique de méthionine et pour évaluer les effets bénéfiques du lycopène dans la prévention des maladies cardiovasculaires causées par hyperhomocystéinémie, les rats ont reçu par voie orale (gavage) une dose de lycopène déterminée pendant 3 mois.

Différents paramètres ont été suivis et analysés durant l'expérimentation à savoir :

- L'évolution du poids corporel,
- La détermination de l'homocystéinémie,
- La détermination du profil lipidique (cholestérolémie, HDLc, LDLc et la triglycéridémie),
- La détermination d'urémie, transaminases,
- Un marqueur cardiaque, la CK-MB,
- Une analyse histologique et histochimique de la paroi cardiaque.

L'ensemble de nos résultats apportent de nouvelles perspectives et élargissent les connaissances sur ce caroténoïde. Il est capable d'influencer de façon importante l'homéostasie plasmatique et l'apparition de dérégulations métaboliques de nombreuses pathologies telles les maladies cardiovasculaires selon différents mécanismes.

RAPPELS
BIBLIOGRAPHIQUES

I- Homocystéine (Hcy)

I.1. Historique

En 1932, Butz et Du Vigneaud de l'Université de l'Illinois ont découvert un nouvel acide aminé par un chauffage de la méthionine dans l'acide sulfurique, ces chercheurs ont isolé l'homologue de la cystine, qui est *le bis* -(γ -amino- γ -carboxypropyl) disulfure, qu'ils ont appelé : homocystéine (**Mato et Lu, 2005**). Des années plus tard en 1962, Carson et Neill ont remarqué un taux élevé d'homocystéine dans les urines des enfants présentant: un retard mental, lentilles oculaires disloqués, accélération de la croissance, survenue de l'ostéoporose, et une tendance à la thrombose des artères et des veines (**McCully, 2007**).

C'est en 1969, que **McCully** observa une augmentation des taux plasmatiques de l'homocystéine dans le cas des maladies vasculaires. Sur ces observations cet auteur avança l'hypothèse incriminant l'hyperhomocystéinémie dans le processus athérosclérotique ainsi que dans les maladies cardiovasculaires (**Bettahar-Lebugle et al., 2002**).

I.2. Définition

L'homocystéine est un acide aminé soufré (fonction thiol) produit au cours du catabolisme de la méthionine (acide aminé essentiel chez l'homme). La méthionine ne peut pas être synthétisée *de novo* et est classé comme un acide aminé comme strictement indispensable. En effet, la présence d'un groupement méthyle thioéther sur la chaîne latérale de la méthionine lui confère une forte valeur biologique. Il provient majoritairement du catabolisme de la méthionine des protéines animales et végétales. L'Hcy se trouve à la jonction de deux voies métaboliques, reméthylation et trans-sulfuration. Multiples enzymes interviennent dans ces voies de régulation et fonctionnent avec des cofacteurs vitaminiques (Vitamine B6, B9 ou acide folique et B12 ou cobalamine), proposés en thérapeutiques. Sa concentration plasmatique est considérée comme le reflet de son métabolisme intracellulaire. L'Hcy est présent dans le plasma sous forme libre (20 à 30 %) et liée aux protéines (70 à 80 %). C'est l'ensemble de ces formes c'est-à-dire Hcy totale qui est quantifié par les différentes techniques d'analyse. Le taux normal plasmatique à jeun est de 5 à 15 $\mu\text{mol/L}$. L'HHcy est considérée comme modérée entre 15 et 30 $\mu\text{mol/L}$, intermédiaire entre 30 et 100 $\mu\text{mol/L}$ et sévère $> 100 \mu\text{mol/L}$ (**Caussé, 2008**).

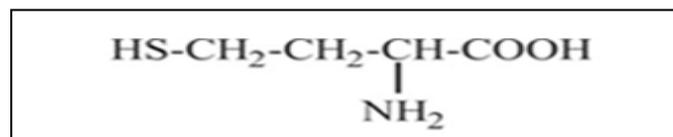


Figure 1 : La structure chimique de l'homocystéine (**Luciene de Souza et al., 2010**).

I.3. Métabolisme de l'homocystéine

L'homocystéine (Hcy) circulante provient de l'efflux cellulaire de cet acide aminé sulfuré dont le précurseur est la méthionine, constituant alimentaire essentiel. La production

d'Hcy résulte de la déméthylation de la méthionine. Ensuite, l'Hcy est métabolisée soit par reméthylation en méthionine, soit par trans sulfuration en cystathionine.

I.3-1 Déméthylation de la méthionine en hcy

C'est par déméthylation de la méthionine que l'Hcy est générée dans la quasi totalité des tissus des vertébrés selon les étapes suivantes:

- a)** Méthionine et ATP produisent la S- adénosyl- L-méthionine (SAM), important donneur de groupes méthyle utilisés dans diverses synthèses (ADN, protéines, lipides).
- b)** Ce métabolite intermédiaire est converti par une méthyl-transférase en S- adénosylhomocystéine (SAH).
- c)** Ce dernier est converti en Hcy sous l'action d'une adénosyl-transférase.

I.3.2. Reméthylation de l'hcy en méthionine

a. En cas de déficit en méthionine, le 5-méthyl-tétrahydrofolate (5-M-THF) cède son groupe méthyle à l'hcy sous l'action de la méthionine synthase (5, méthyl THF-Hcy méthyl-transférase) et de son coenzyme, la cobalamine ou vitamine B12.

b. Produit déméthylé, le THF reçoit, en présence de vitamine B6, un groupement méthylène de la sérine, formant le 5,10-méthylène-T4HF (5,10-CH=CHT4HF).

c. Ce dernier est réduit en 5-méthyl-tétrahydrofolate (5-CH₃-T4HF) sous l'action de la 5,10-méthylène T4HF réductase, dont le fréquent déficit constitue une cause possible d'hyperHcy. Dans les cellules endothéliales, l'élimination de l'Hcy s'opère par ce processus de reméthylation.

Au niveau hépatique et, dans une plus faible mesure, au niveau rénal, l'Hcy est reméthylée en méthionine sous l'action de la bétaine-Hcy méthyltransférase à partir de la bétaine, tri-méthylglycine dérivée de la choline.

I.3.3. Transsulfuration de l'hcy

a)- Cette voie alternative comporte une sulfo conjugaison de l'Hcy en cystathionine A partir de la sérine, sous l'action de la cystathionine-β -synthase (CBS) dont la vitamine B6 ou pyridoxal-5'-phosphate (pyridoxine) est le cofacteur.

b)- Sous l'action de la β-cystathionase et de la vitamine B6, la cystathionine est dégradée en cystéine, laquelle est utilisée pour la production de divers acides aminés soufrés, de taurine et de glutathion dont dépend le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire. Les produits de dégradations soufrés sont éliminés dans les urines. La trans sulfuration de l'Hcy prédomine au niveau du foie et des reins (**David, 2000**).

À l'état physiologique, ces cycles sont autorégulés, permettant de garder des taux constants d'homocystéine, méthionine et SAM. Ainsi un taux de SAM élevé diminue l'activité de la

méthionine synthétase et de MTHFR. Inversement, SAM stimule la cystathionine beta synthétase (Roblin, 2007).

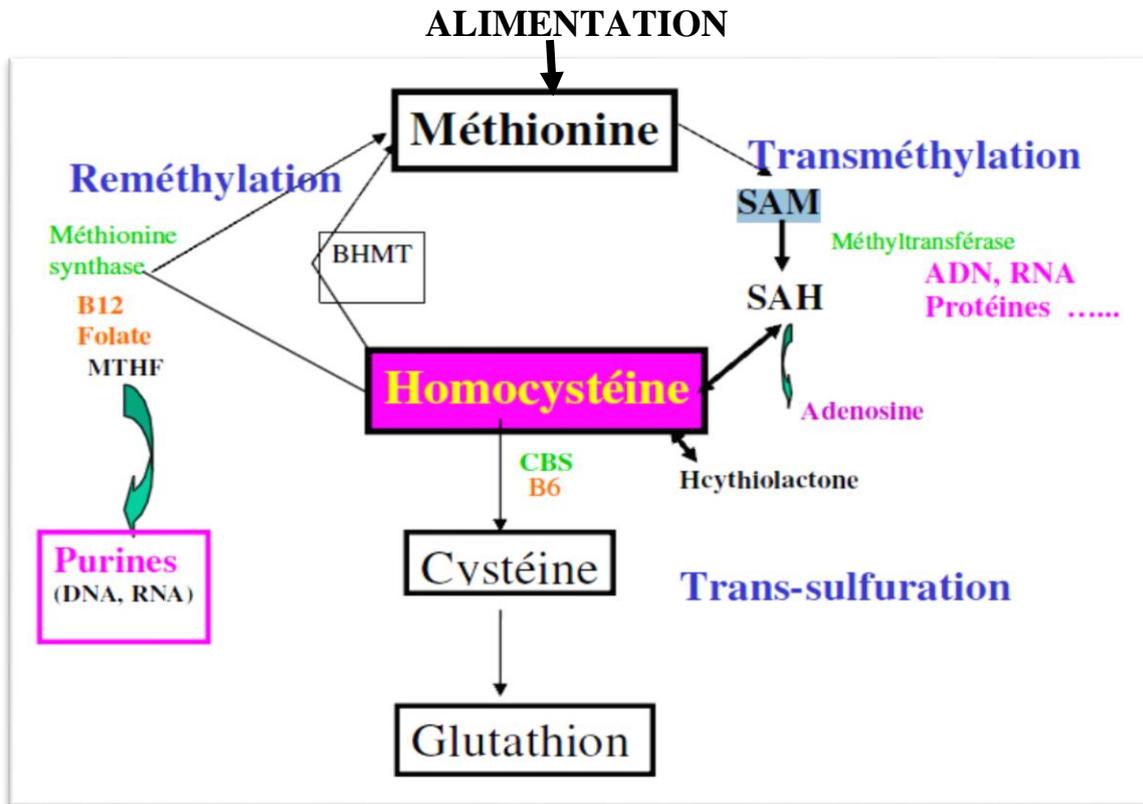


Figure 2 : Métabolisme de l'homocystéine (Caussé., 2008).

BHMT : Bétaine homocystéine méthyl transférase

CBS : Cystathionine Béta Synthase

MTHFR : Méthyl TétraHydroFolate Réductase

SAM: S adénosyl méthionine

SAH: S adénosyl homocystéine

I.4. Différentes formes physicochimiques d'homocystéine circulantes

L'homocystéine dans le sang circule sous différentes formes (Fig 2):

La forme liée : Chez les sujets sains, 75% de l'homocystéine plasmatique total (tHcy) est lié à diverses protéines principalement l'albumine par des liaisons disulfures, car l'homocystéine possède une fonction thiol libre (HS) facilement oxydable, ce qui lui permet s'y fixer.

La forme libre (oxydée) : 25% reste libre et se trouve la plupart du temps sous forme d'homodimère d'homocystéine oxydé (homocystine) ou comme hétérodimères (homocystéine-cystéine ou bien homocystéine thiolactone).

La forme libre réduite : environ 1-2% reste à l'état réduit.

Sur le plan biologique, c'est l'homocystéine plasmatique totale (les différentes formes d'homocystéine) qui reflète les différentes formes d'homocystéine circulante (Guilland *et al.*, 2003; Thomas et Williams, 2004 ; Levasseur, 2009 ; Mairesse *et al.*, 2010).

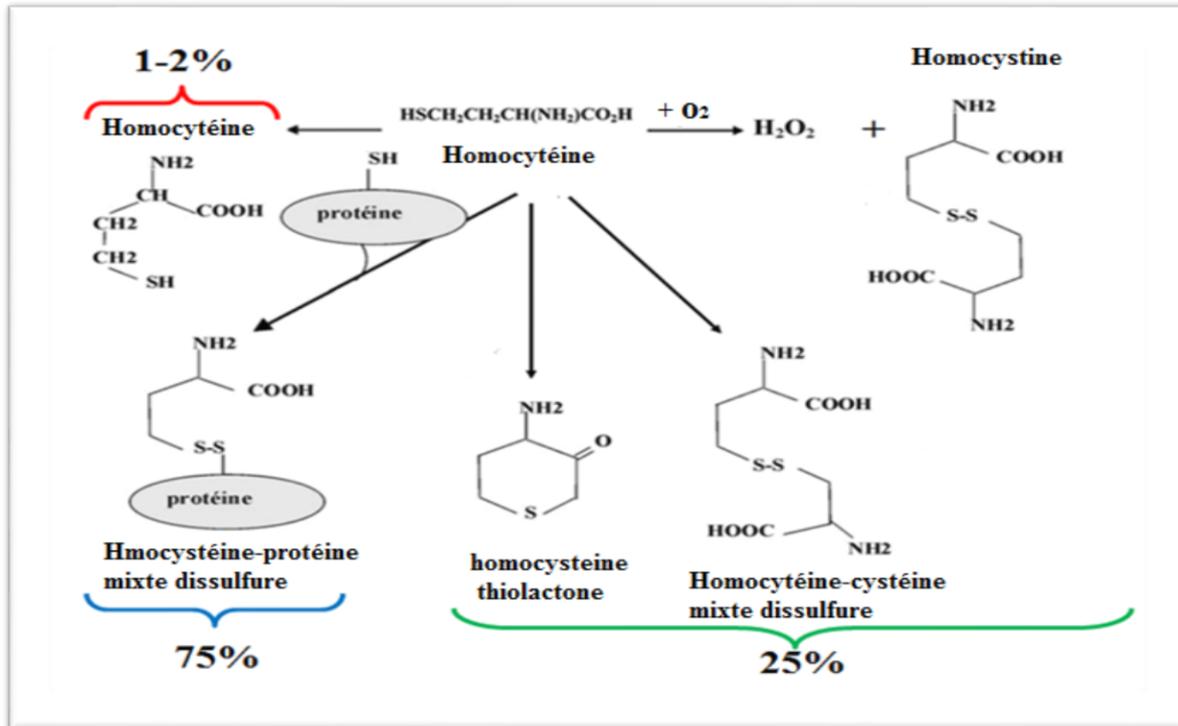


Figure 3 : La formule chimique de l'homocystéine et ses formes circulantes dans le plasma (Guilland *et al.*, 2003 et Thomas et Williams, 2004).

II. L'hyperhomocystéinémie

II.1. Définition

L'hyperhomocystéinémie sévère est un désordre génétique rare dû à l'absence d'activité de l'enzyme cystathionine- β -synthase. Elle est caractérisée par des valeurs très élevées d'homocystéine plasmatique ($>100 \mu\text{mol/L}$) et urinaire avec retard de développement, ostéoporose, maladie thromboembolique, artériosclérose précoce.

Une élévation plus modérée de l'homocystéine plasmatique se rencontre plus fréquemment dans la population (5-7%).

Différentes études suggèrent que cette perturbation constitue un facteur de risque indépendant pour la maladie thromboembolique veineuse, et pour les maladies athérosclérotiques cardiovasculaires (Stalder *et al.*, 2007).

II. 2. Classification des hyperhomocystéinémies

Notre organisme synthétise environ 20 mmol par jour d'homocystéine, mais très peu comparativement se retrouve dans le sang. Elle existe soit sous forme libre (30 %), soit liée aux protéines (70 %). Les valeurs normales de l'homocystéine totale varient en fonction

de la technique de dosage employée, mais on retient que des valeurs entre 5 et 15 $\mu\text{mol/l}$ chez les sujets à jeun sont considérées comme normales. Le taux d'homocystéine reste stable dans la durée et on n'observe que de très faibles variations, faisant conclure que les taux mesurés lors d'un examen biologique sont valides et peuvent être utilisés dans des études cliniques.

Ces valeurs peuvent varier selon du sexe (normales hommes supérieures aux normales femmes), de l'âge (pour les femmes elles sont plus basses avant 50 ans, après 50 ans les valeurs rejoignent celles des hommes) ; chez les enfants (3-14 ans) les concentrations normales sont plus basses et se situent autour de 6 $\mu\text{mol/l}$. Le tableau suivant nous donne la classification des différentes formes de l'hyperhomocystéinémie :

Tableau 1 : Classification des hyperhomocystéinémies (Mouchabac, 2008).

Dosage moyen	10 $\mu\text{M/l}$ (seuil 15 $\mu\text{M/l}$)
Hyperhomocystéinémie modérée	15 à 30 $\mu\text{M/l}$
Hyperhomocystéinémie intermédiaire	30 à 100 $\mu\text{M/l}$
Hyperhomocystéinémie sévère ou majeure	>100 $\mu\text{M/l}$

II.3. Principaux facteurs favorisant l'hyperhomocystéinémie

L'hyperhomocystéinémie modérée est bien différente du cas de l'homocystinurie. Elle est fréquente, multifactorielle et d'origine mal élucidée. Il s'agit principalement de défauts génétiques du métabolisme de l'homocystéine et des déficits nutritionnels. A ce stade, notons aussi qu'un apport élevé en méthionine conduit à un déséquilibre du cycle métabolique transméthylation/déméthylation en faveur d'une augmentation de l'homocystéine, qui est alors retrouvée à de fortes concentrations au niveau du plasma.

Plusieurs études ont montré qu'un excès en homocystéine pouvait être directement ou indirectement délétère pour l'endothélium vasculaire et une importante littérature s'est constituée à propos du rôle de l'hyperhomocystéinémie en tant que marqueur et/ou potentiel facteur de risque cardiovasculaire. Les principales causes d'élévation de l'homocystéine plasmatique sont :

II.3.1. Origine génétique

Il s'agit d'une altération génétique des enzymes impliquées dans le métabolisme de l'homocystéine. Dans les hyper-homocystéinémies sévères avec hyperhomocystinurie, le déficit habituel concerne l'enzyme CBS (cystathionine-beta-synthase) et se traduit par des élévations importantes de l'homocystéine totale à jeun. Il s'agit d'une anomalie autosomale récessive. Les symptômes sont :

Luxation du cristallin, handicaps intellectuels dans 50 % des cas, déformations du squelette et athéromatose précoce. Les accidents vasculaires surviennent avant l'âge de 30 ans chez plus de 50 % des sujets homozygotes non traités. Plus de 60 mutations du gène de la CBS ont été décrites.

Des formes sévères d'hyperhomocystéinémie sont rarement associées à des formes homozygotes en MTHFR, des déficits en méthionine synthase ou des désordres du métabolisme de la vitamine B12. Le déficit enzymatique le plus commun associé à une

élévation modérée de l'homocystéine totale correspond à une mutation du gène de la MTHFR avec un variant thermolabile entraînant une diminution de 50 % de son activité. Des études récentes sur la population caucasienne d'origine nord-européenne ont montrées que la mutation en MTHFR ne s'accompagne d'une hyperhomocysteinémie qu'en cas de faible taux sérique associé d'acide folique.

II.3.2. Déficit nutritionnel

Le taux des folates sériques, de la vitamine B12, à un moindre degré, de la vitamine B6 sont inversement corrélés à l'homocystéine totale. Des déficits vitaminiques entraînent une hyper-homocystéinémie modérée. Environ deux tiers des hyper-homocystéinémies modérées sont dues à des déficits vitaminiques, principalement chez les sujets âgés :

- carence en folates (vitamine B9) :

Elle est fréquente (16 à 22 % de la population générale aux États-Unis avant 1998, ayant justifié la mise en place d'une supplémentation systématique des farines alimentaires en acide folique). La carence en B9 entraîne une élévation des taux d'homocystéine plasmatique.

- Carence en vitamine B12 :

Elle concerne essentiellement le sujet âgé (5 % des personnes âgées de 65 ans, 20 % des plus de 80 ans), et devient de fait plus déterminante du niveau d'homocystéine plasmatique que l'acide folique chez le sujet âgé.

- Déficit en vitamine B6.

Autres causes d'hyperhomocystéinémie modérée :

II.3.3. Médicaments

Certains médicaments : antagonistes des folates (méthotrexate, phénytoïne, carbamazépine), des antagonistes de la vitamine B6 (niacine, isoniazide, théophilline, procarbazine, penicillamine, contraceptifs oraux), fibrates, hypocholestérolémiants, métformine, ciclosporine, levodopa, protoxyde d'azote.

II.3.4. Substances

Certaines substances : acide nicotinique (tabac), café, alcool

II.3.5. Conditions médicales

Certaines conditions médicales : insuffisance rénale chronique, diabète, hypothyroïdie, et certaines affections plus rares, associées à des déficits vitaminiques :

Anémie de Biermer, atrophie gastrique, leucémie aiguë lymphoblastique, cancers du sein, de l'ovaire, du pancréas, psoriasis sévère.

Il existe, par ailleurs, une augmentation modérée de l'homocystéine totale, avec l'âge et chez l'homme (cette différence s'équilibrant à la ménopause) (De jaegera et al., 2010).

III. Hyperhomocysteinémie et les maladies cardiovasculaires

Les maladies cardiovasculaires sont aujourd'hui la première cause de mortalité en France, à l'origine de près de 170 000 décès chaque année (32 % des décès, dont près de 10 % surviennent avant 65 ans). Tandis que l'hypertension, l'hypercholestérolémie, le diabète,

l'obésité et le tabagisme sont des facteurs de risque reconnus. Les données épidémiologiques recueillies au cours de ces trente dernières années ont suggéré que d'autres facteurs biologiques pouvaient être associés à l'augmentation du risque de développer une pathologie cardiovasculaire.

Parmi ceux-ci, un intérêt croissant a été porté à l'hyperhomocystéinémie modérée. Les premières observations cliniques ayant permis d'évoquer un lien entre hyperhomocystéinémie et maladies cardiovasculaires furent celles de jeunes adultes présentant une hyperhomocystinurie héréditaire.

Ces malades qui ont des teneurs plasmatiques d'homocystéine très élevées présentent fréquemment des accidents vasculaires thromboemboliques ou liés à une athérosclérose précoce. Depuis une décennie, de très nombreux travaux expérimentaux et cliniques, qui ont tenté de préciser les relations existant entre hyperhomocystéinémie modérée et la survenue des maladies cardiovasculaires, tendent à montrer qu'une élévation modérée de l'homocystéinémie est un facteur de risque indépendant pour la survenue d'accidents cardiovasculaires d'origine ischémique (**Guilland et al., 2003**).

IV. L'homocystéine et les maladies cardiovasculaires

Les patients souffrant d'homocystinurie développée ont une vaste plaque artérielle avec épaissement de l'intima. Les cellules musculaires lisses sont riches en collagène fibreux. Ces fibres présentent des lésions beaucoup plus nombreuses que les lésions provoquées par l'athérosclérose dans les grandes artères des patients homocystinuriques et, combinée à une thrombose anormalement accélérée, peut conduire à un infarctus du tissu myocardique et la mort à un âge précoce. La thrombose veineuse et, dans une moindre mesure, la thrombose artérielle sont communes à des patients souffrant d'homocystinurie. Induite par l'homocystéine, la thrombose semble résulter des perturbations potentielles des cellules endothéliales plutôt que des changements physiologie plaquettaire. Cela conduit à l'élaboration d'un phénotype prothrombotique compatible avec une lésion vasculaire (**Lawrence de Koning et al., 2003**).

V. Hyperhomocystéinémie et Stress oxydatif

L'homocystéine possède *in vitro* une action pro-oxydante, son groupe thiol étant oxydé pour former des espèces réactives de l'oxygène qui sont responsables des lésions et de dysfonctionnement cellulaires.

L'homocystéine peut également sensibiliser les cellules au stress oxydatif en diminuant l'expression d'une large gamme d'enzymes anti-oxydantes (**Laurent, 2008**).

V.1. Les effets cellulaires de l'homocystéine et le stress oxydant

Les concentrations cellulaires en différentes espèces réactives de l'oxygène (ROS, *reactive oxygen species*) résultent de l'équilibre entre les systèmes producteurs et les capacités antioxydantes. Dans les conditions normales, la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Dans certaines conditions et à la suite de certains stimuli, il apparaît un déséquilibre provoqué par une production exagérée de ROS ou par une diminution des systèmes de défense, voire une association des deux phénomènes (**Carriere et al., 2006**).

Ainsi, un excès de production de ROS ou une diminution de l'activité des systèmes antioxydants conduisent à l'apparition d'un stress oxydant et provoquent des lésions directes, irréversibles et non spécifiques des molécules biologiques environnantes provoquant une toxicité cellulaire (**Ho et al., 2003**).

Le groupe Thiol de l'Hcy est oxydé pour former des ROS, suggérant que l'Hcy induit des lésions/dysfonctions cellulaires à travers un mécanisme impliquant l'auto-oxydation et des lésions oxydatives de protéines cibles. Des études récentes ont également montré que l'Hcy est en grande partie impliquée dans les réactions cellulaires antioxydantes et réductrices (**Zappacosta et al., 2001**). En effet, la régulation de la voie de transsulfuration de l'Hcy est très sensible aux conditions de stress oxydant dans le maintien des réserves intracellulaires de glutathion (**Vitvitsky et al., 2003**).

L'homocystéine provoque une production de ROS, et de nombreuses études ont mis en évidence le rôle majeur joué par ces composés dans la survenue de lésions neurodégénératives (**Ho et al., 2003**).

De plus, l'homocystéine sensibilise les cellules au stress oxydant en diminuant l'expression de nombreuses enzymes anti-oxydantes dont la glutathion peroxydase (GPX) et l'hème oxygénase-1 (HO-1) (**Outinen et al., 1999**). Une diminution du pouvoir anti-oxydant a également été rapportée chez les sujets atteints de maladie neurodégénérative (**Franco et al., 2009**).

II. Lycopène

II.1. Historique

Originnaire d'Amérique du Sud, la tomate fut introduite en Europe au XVI^e siècle. Ce fruit était à l'origine une baie minuscule (tomates cerise). Au fil des générations, les jardiniers européens (les Italiens, notamment) ont sélectionné les variétés donnant les fruits les plus intéressants (**Edmond, 2006**).

L'histoire du lycopène est toute récente et trouve sa source dans l'art culinaire, il attira l'attention des chercheurs à la fin du siècle dernier, quand on remarqua que les maladies de la prostate rencontrées chez les hommes étaient significativement moins présentes en Italie et en Grèce. Ces contrées avaient pour caractéristique commune d'offrir une palette alimentaire incluant beaucoup de tomates et plus particulièrement des tomates cuites en diverses sauces (**Claude, 2006**).

Vers la fin du XIX^e siècle, un chercheur du nom de **Harsten** isola le lycopène de la tomate, mais il a fallu attendre le milieu du XX^e siècle pour qu'on en découvre ces propriétés bénéfiques, et la fin des années 1990 pour qu'elles soient largement diffusées (**Edmond, 2006**).

De 1986 à 1992, le docteur Edward Giovannucci, de Harvard, analysa le régime alimentaire de près de cinquante mille patients souffrant du cancer de la prostate. Après avoir comparé avec d'autres groupes, le docteur Giovannucci en arriva à la conclusion que les hommes qui mangeaient dix plats ou plus par semaine incorporant la tomate avaient moins de 45% de chances de développer un cancer de la glande prostatique.

Le lycopène, pigment présent dans la tomate, devint dès lors un objet d'études multiples et aussi une denrée alimentaire de plus en plus consommée par les naturistes (Claude, 2006).

II.2. Définition

Le lycopène, une des « stars » de la nutrition préventive selon Nicolas Guggenbühl, (2007). C'est un pigment naturel appartenant à la famille des caroténoïdes. Il est synthétisé par les plantes et des micro-organismes. Contrairement au β -carotène ce n'est pas un précurseur de la vitamine A (Gibaut, 2006). C'est le pigment responsable de la couleur rouge, orange de certains végétaux ou il est utilisé comme un colorant naturel dans l'industrie alimentaire.

Cet antioxydant est très puissant, protège également la peau du soleil, aide à réduire la pression artérielle chez les hypertendus et prévient le cancer, notamment le cancer de la prostate et les maladies cardiovasculaires (Eustache, 2011).

II.3. Structure chimique

À ce jour, plus de 600 substances caroténoïdes ont été reconnues. Elles existent sous la forme cis ou trans. Dans la tomate fraîche, le lycopène se présente sous la configuration trans, plus stable que la configuration cis. Le lycopène est une substance caroténoïde acyclique de couleur rouge contrairement à la majorité des substances caroténoïdes qui ont une forme moléculaire cyclique. Le lycopène comporte 11 doubles liaisons conjuguées et sa formule est : $C_{40}H_{56}$ (Clinton, 1998 ; Shie et Le Maguer, 2000). La structure moléculaire particulière du lycopène de la figure 4, présente une influence sur sa biodisponibilité, son absorption, son transport, sa distribution dans les tissus et ses propriétés antioxydantes.

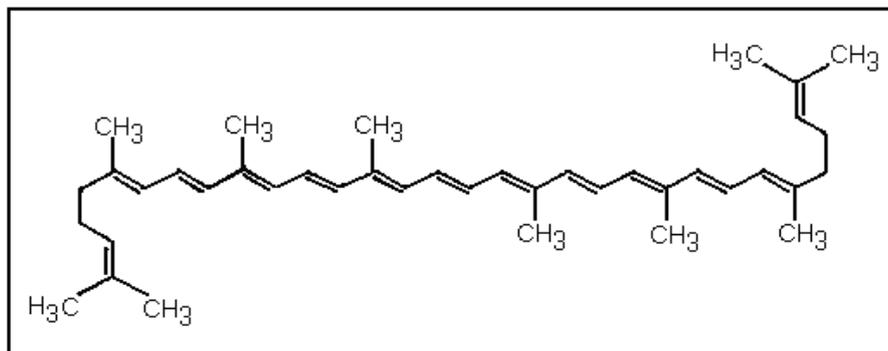


Figure 4 : Structure moléculaire du lycopène (Rao *et al.*, 2006).

Plus de 600 caroténoïdes différents ont été identifiés, dont environ 50 dans la nourriture (Tab.2) et 20 dans le plasma (Faure *et al.*, 2000). Leur structure hautement polyinsaturée et la présence de cycle leur confèrent la capacité de recevoir un radical libre sans trop perdre de leur stabilité. Ils ont donc un effet antioxydant notable.

Tableau 2: Contenu en caroténoïdes ($\mu\text{g}/100\text{g}$) des tomates et du jus de tomate (**Canene-Adams, 2005**).

μg pour 100 g	Tomates crues	Jus de tomate
β -Carotène	449	270
γ -Carotène	101	0
Lycopène	2573	9037
Lutéine Zéaxanthine	123	60
Phytoène	1860	1900
Phytofluène	820	830

II.4. Propriétés physico-chimiques

Les plus importantes propriétés physico-chimiques du lycopène sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau 3 : Propriétés du lycopène (**Shie et Le Maguer, 2000**).

Paramètres	
Formule brute	$\text{C}_{40}\text{H}_{56}$
Poids moléculaire	536.85
Couleur	Rouge foncé
Solubilité	Hydrophobe (Méthanol, Ethanol : insoluble dans l'eau et l'alcool), lipophile, soluble dans le chloroforme, acétone, éther et pétrole, benzène.
Sensibilité	Oxygène, lumière, acide, température élevée, ions métalliques.
Absorbance	Longueur d'onde optimale à 471nm.

Les procédés thermiques, tels la cuisson et le blanchiment représentent les principales causes de la perte et du changement de la configuration du lycopène (tab 5). Notons que les isomères cis augmentent avec la température et le temps de transformation de l'aliment (**Shie et Le Maguer, 2000**).

Tableau 4 : Taux de perte du lycopène lors de la cuisson du jus de tomate
(Shie et Le Maguer, 2000).

Température (°C)	Perte de lycopène (%)		
	1 min de cuisson	3 min de cuisson	7 min de cuisson
90	0.6	0.9	1.1
110	2.2	3.2	4.4
118	3.7	6.0	9.1
124	5.5	8.5	12.5
130	7.4	11.5	17.1

La déshydratation et la fabrication de la poudre de tomate rendent le taux de lycopène instable, contrairement aux procédés de congélation et de stérilisation. Le lycopène est sensible à la lumière, à l'oxygène, aux températures élevées et aux acides. Les ions métalliques, comme le Cu^{2+} et le Fe^{3+} , catalysent son oxydation.

II.5. Sources alimentaires de lycopène

Plus de 80% du lycopène consommé provient de la tomate et des aliments contenant de la tomate (**tableau 5**).

Tableau 5: Apport, en lycopène, de la tomate et des produits à base de tomate
(Agarwal et Rao, 2000).

L'estimation de l'apport quotidien en lycopène de la tomate et des produits à base de tomates			
produits	Portion	Apport en lycopène (mg/jour/sujet)	%de l'apport quotidien recommandé en lycopène
Tomates	200g	12,70	50,5
Sauce à spaghetti	125ml	2,44	9,7
Pate de tomate	30ml	2,29	9,1
Jus de tomate	250ml	2,20	8,7
Sauce aux tomates	227ml	1,52	6,0
Purée de tomate	60ml	1,02	4,1
Soupe aux tomates	227ml	0,79	3,1
Sauce à pizza	60ml	0,66	2,6
Ketchup aux tomates	15ml	0,53	2,1
Coctail de palourdes	250ml	0,50	2,0

Le contenu, en lycopène, des tomates dépend en grande partie de la variété de la tomate et de son degré de mûrissement (**Clinton, 1998**).

Quelques autres aliments de consommation courante contiennent également du lycopène (**Tab. 6**).

A l'inverse d'autres caroténoïdes, on ne trouve du lycopène que dans un petit nombre de végétaux, principalement les fruits et les légumes de couleur rouge. La tomate et ses produits dérivés (jus, ketchup, sauce tomate, soupe) sont les sources de lycopène par excellence.

Tableau 6 : Concentration en lycopène (mg/100g) contenue dans différents aliments (**Khachik et al., 2002**).

Le contenu en lycopène de différents aliments	
Aliments	Contenu en lycopène (mg/100g)
Abricots frais	<0,01
Abricots en conserve	0,06
Abricots séchés	0,86
Pamplemousse rose frais	3,36
Goyave fraîche	5,4
Jus de goyave	3,34
Melon d'eau	23 à 7,2
Papaye fraîche	2 à 5,3
Tomate fraîche	0,88 à 4,2
Tomate cuite	3,7
Sauce tomate	6,2
Pâte de tomate	5,1 à 150
Soupe aux tomates condensée	7,99
Jus de tomates	5 à 11,6
Tomates séchées (dans huile)	46,5
Sauce à pizza	12,71
Ketchup	9,9 à 13,44

II.6. Niveau de consommation du lycopène

Le principal apport de lycopène est réalisé par la de la tomate et de ses produits dérivés. On peut considérer que la consommation régulière cumulée de tomates et d'aliments à base de tomate (sous formes de sauces et de concentrés) par rapport à celle de tomates seules est susceptible d'augmenter d'un facteur 10 l'apport journalier en lycopène. La teneur en lycopène de préparations concentrées est de l'ordre de 20 mg/100 g de produit frais et peut dépasser 40 mg/100 g dans certains cas (**Reboul et al., 2005**).

Selon plusieurs études, il est difficile d'établir des recommandations de consommation pour la consommation des tomates. Il est toutefois suggéré qu'une consommation de plus de 6 mg de lycopène par jour apporte une protection (**Franceschi et al., 1994**). Avec une consommation de 6 à 8 mg par jour, on observe une préservation de l'ADN lymphocytaire contre les radicaux libres et une réduction de l'oxydation des LDL.

En pratique une consommation quotidienne d'une portion de produit à base de tomates semble suffisante pour augmenter la concentration de lycopène dans le plasma et les lymphocytes. A l'inverse, ces concentrations diminuent rapidement après une alimentation dépourvue de tomate.

Tableau 7 : Teneur en lycopène de produits issus de la transformation des tomates.

Aliment	Portion	Teneur en lycopene
Purée de tomates en conserve	125ml	27
Pate de tomates en conserve	75ml	23
Jus de légumes ou de tomates	250ml	de 22mg à23mg
Sauce tomates en conserve	125ml	17mg
Soupe de tomate en conserve	250ml	13mg
Melon d'eau (pasteque)	286g(1tranche)	13mg
Tomates en conserve	125ml	5mg
Tomate crue	1(123g)	3mg
Ketchup	1c.à table	2,5mg

Source: USDA National Nutrient Database for Standard Reference.

II.7. Absorption et métabolisme du lycopène

Les caroténoïdes alimentaires sont apportés par les fruits et légumes, et pour pouvoir être absorbés, ils doivent être extraits de leur matrice végétale puis être solubilisés dans les micelles mixtes. L'extraction des caroténoïdes de leur matrice végétale commence dans l'estomac où une fraction est transférée vers la phase lipidique du bol alimentaire. L'efficacité de ce transfert dépend probablement des caractéristiques de la matrice dans laquelle est incorporé le caroténoïde, de la lipophilie de ce caroténoïde, du pH du milieu, et de la nature des lipides (longueur et degré d'insaturations des acides gras). Bien que ce transfert ait été observé chez l'homme, des travaux *in vitro* suggèrent que l'étape de digestion

gastrique n'affecterait pas de façon significative l'incorporation dans la phase lipidique micellaire duodénale. Après avoir dépassé le pyllore, le bol alimentaire reçoit les sécrétions pancréatiques et biliaires. Une fraction des caroténoïdes encore présents dans les matrices végétales et la fraction de caroténoïdes transférés dans la phase lipidique durant la digestion gastrique, sont alors incorporés dans les micelles mixtes. Le transfert des caroténoïdes de la phase lipidique vers les micelles mixtes a été étudié en détail. Il dépend de trois facteurs principaux : le pH, la concentration en sels biliaires et la lipophilie des caroténoïdes. (Borel *et al.*, 2005).

le lycopène est absorbé dans l'intestin grêle (Supidita, 2008) par la membrane apicale de l'entérocyte par l'intermédiaire d'un processus facilité qui consiste à SR-BI Receptor Class B Type I (Moussa *et al.*, 2008) et il va être emballé dans les chylomicron dans l'intestin et transportés vers le foie via les vaisseaux lymphatiques par les VLDL, HDL et le LDL cholestérol. Le foie est le principal site de métabolisme et le stockage, le lycopène se retrouve également dans les glandes surrénales la prostate et les poumons en quantités importantes (Supidita, 2008) il est évident que le lycopène est, dans une certaine mesure, isomérisé après l'ingestion et est rapidement métabolisé.

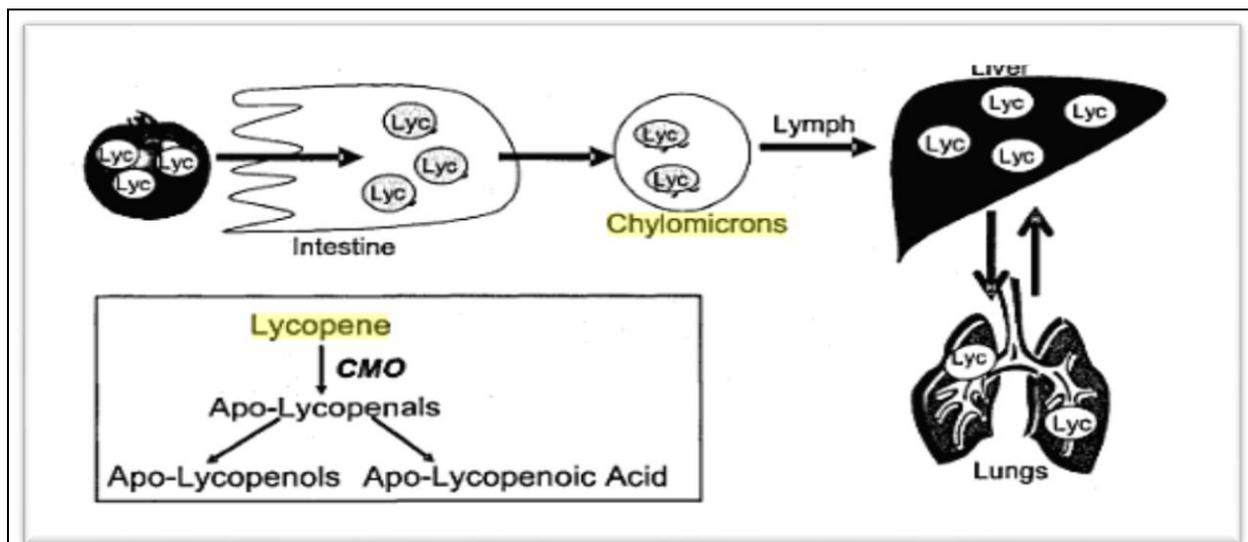


Figure 5 : Schéma représentatif du métabolisme du lycopène ((Supidita, 2008)
CMO : carotène 9,10-oxygénase enzymatique (OCM).

Dans le sérum et les tissus humains, plus de 50 % du lycopène se retrouve sous la configuration *cis*. Ce changement de structure implique également un changement de l'activité biologique (Shi *et Le Maguer*, 2000). Cependant, certains indices laissent croire que l'isomérisation (Fig. 6) peut avoir lieu lors du métabolisme dans le corps. De fortes concentrations d'isomères *cis* ont été observées dans le sérum et dans des tissus prostatiques suggérant que l'isomérisation du lycopène de sa forme *cis* à sa forme *trans* puisse se faire *in vivo* au niveau des tissus. Il a été récemment démontré que la concentration du lycopène au niveau du sérum et des tissus de la prostate était significativement plus basse chez les patients atteints de cancer de la prostate que chez des patients de même âge en bonne santé. Les auteurs suggéraient donc que les patients souffrant d'un cancer de la prostate ont un trouble

d'isomérisation du lycopène alimentaire, ce qui diminue son absorption (**Rao et Agarwal, 2000**).

Bien que ces résultats n'aient pas exclu la possibilité que le cis du lycopène a été préférentiellement absorbée, les résultats ont fourni une preuve supplémentaire que l'isomérisation in vivo du lycopène tout-trans se produit chez les homme, et plus particulièrement l'isomère 13cis et 15-cis (**Alastair, 2011**).

le métabolisme est principalement catalysée par la carotène 9,10-oxygénase enzymatique (OCM) à partir des apo- lycopénols et apo-lycopénoic acides (**Supidita , 2008**).

Les produits de CMOII sont des aldéhydes à chaîne courte appelé Apo-lycopénals. Apo-lycopénals ont été identifiés dans in vivo à des concentrations physiologiques (**Ford et Erdman., 2012**). Le lycopène ou ses métabolites sont transportés à la peau et peuvent y rester pendant plusieurs jours avant d'être remis (**Alastair, 2011**).

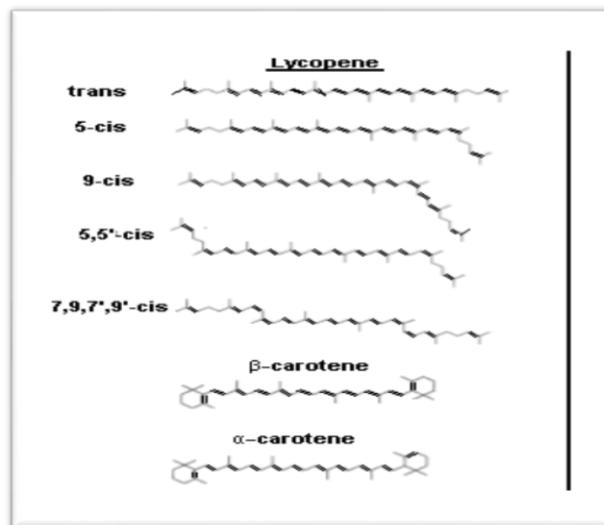


Figure 6 : Structure de trois caroténoïdes : β -carotène, α -carotène et les isomères géométriques du lycopène (**Ngyuen et Schwartz 1999**).

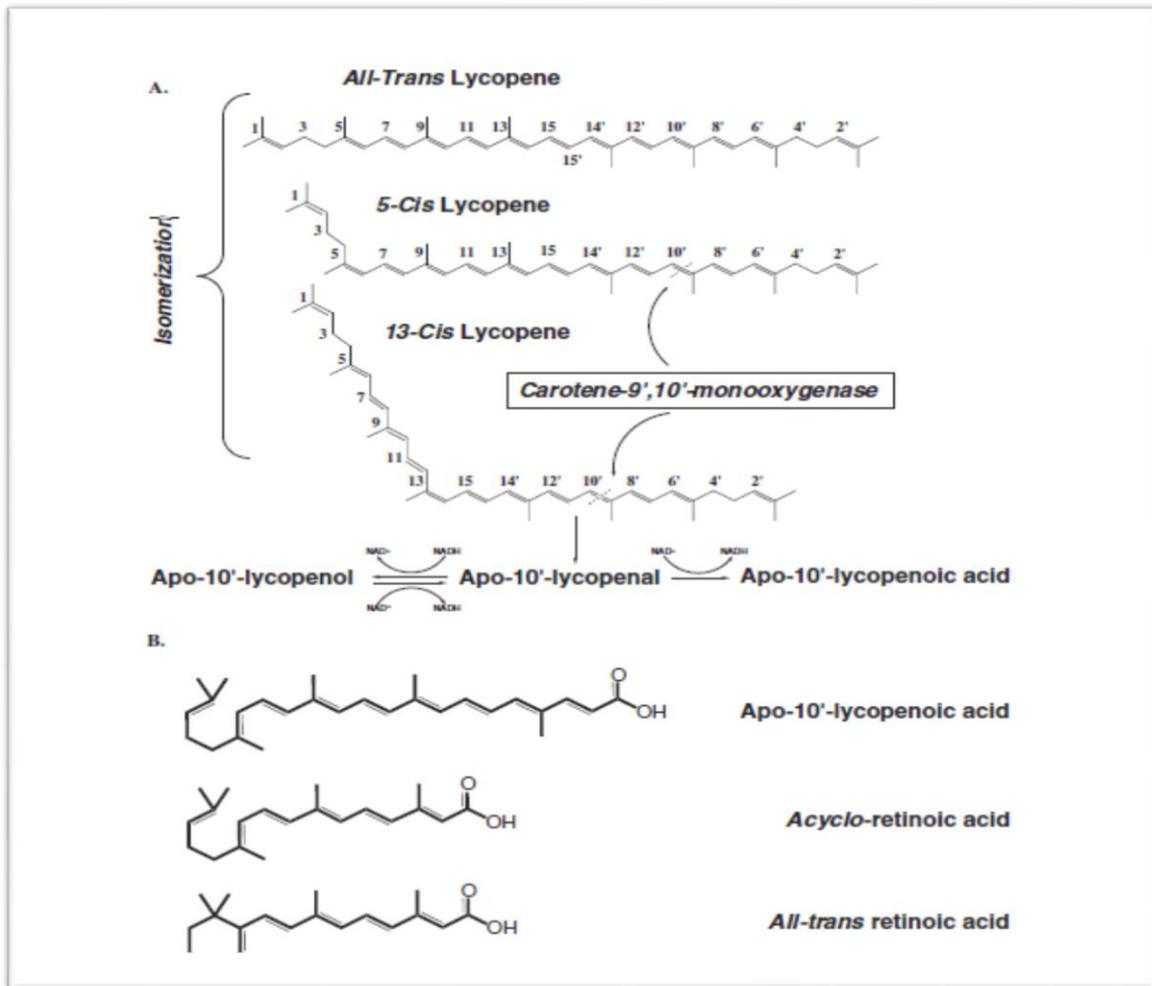


Figure 7: Schémas de la voie métabolique du lycopène (jonathan et al., 2012).

- (A) 5-cis et 13-cis lycopène sont préférentiellement clivée par CMO2 en 9'10' double liaison. Le produit de clivage, l'apo-10'-lycopenal, peut être oxydé en outre l'apo-10'-lycopenol ou réduite à l'apo-10'-acide lycopenoïque, dépendante de la présence de NADH.
- (B) Les structures chimiques de l'apo-10'-lycopenoïque, l'acide acycloretinoïque, et acide tout-trans rétinol (jonathan et al., 2012).

II.8. Les concentrations tissulaires en lycopène

Les teneurs en lycopène varient selon les tissus (Tab.8). Le tissu hépatique peut contenir jusqu'à 10 mg/g (soit 18 $\mu\text{mol/g}$) de lycopène. C'est la localisation tissulaire la plus importante après le tissu adipeux. La prostate en contient de faibles quantités, 400 fois moins que le foie chez le chien beagle (Korytko et al., 2003), et moins de 1 $\mu\text{g/g}$ (soit environ 2 nmol/g) chez l'homme (Chen et al., 2001).

Tableau 8: Quantité de lycopène (nmol/g) dans les tissus humains (Agarwal et Rao, 2000).

La concentration moyenne de lycopéne de différents tissus chez l'humain et le rat		
Tissus	Humain	Rat
Testicules	4,34 à 21,36	NA
Rate	NA	21,21(2,22)
Glandes surrénales	1,90 à 21,60	NA
Foie	1,28 à 5,72	20,30
Prostate	0,80	0,32(0,06)
Seins	0,78	NA
Pancréas	0,70	NA
Poumon	0,22à0,57	0,115(0,015)
Cœur	NA	0,08(0,03)
Rein	0,15 à0, 62	NA
Colon	0,31	0,046(0,006)
Peau	0,42	NA
Ovaire	0,30	NA
Estomac	0,20	NA
Cerveau	ND	0,017(0,006)

SD : déviation standard; **NA** : non disponible et **ND** : non détectable.

II.9. Mécanismes d'action du lycopéne

Deux hypothèses principales ont été proposées pour expliquer les activités anti-athérogènes du lycopéne: mécanismes non oxydatif et oxydatif.

Les mécanismes non oxydatifs ont été suggérés qu'en raison de la réglementation de l'écart-jonction de communication dans les cellules de fibroblastes d'embryon de souris. L'hypothèse de l'oxydation figure l'oxydation du LDL dans l'étape primaire initiale conduisant à son absorption par les macrophages à l'intérieur de la paroi artérielle et la formation de cellules spumeuses et la plaque athéromateuse.

Les modifications oxydatives reflètent non seulement les acides gras polyinsaturés acides (AGPI), mais aussi l'oxydation du cholestérol, des phospholipides. En plus de la formation de cellules spumeuses et la plaque dans la paroi artérielle, les composants de LDL oxydés peuvent également influencer d'autres événements qui ont trait à l'augmentation du risque de maladie coronarienne.

Il s'agit notamment de leur capacité à augmenter l'accumulation de cholestérol par les macrophages, leur capacité à produire des protéines avec une activité chimiotactique de monocytes et de l'activité cytotoxique pour une variété de cellules, provoquant des lésions endothéliales. Lycopéne a également été montré pour agir comme un agent hypocholestérolémiant par inhibition de l'enzyme HMG-CoA réductase et a émis

l'hypothèse d'empêcher l'athérogenèse en protégeant critiques biomolécules cellulaires, notamment les lipides, les lipoprotéines, les protéines et de l'ADN.

Chez les sujets sains de l'homme, les régimes lyc-tomate ou sans ont entraîné la perte de l'oxydation des lipides et lycopène accru, tandis que les suppléments alimentaires avec lyc pour 1 semaine a augmenté les taux sériques lycopène et réduit les niveaux endogènes de l'oxydation des lipides, des protéines, des lipoprotéines et de l'ADN (**Graziano et al., 2008**).

II.10. Les effets du lycopène

Les effets bénéfiques du lycopène ont été rapportés vis-à-vis de plusieurs pathologies, principalement les maladies cardiovasculaires ainsi que sur plusieurs types de cancers, soit par l'intermédiaire d'études épidémiologiques, soit par l'intermédiaire d'études *in vivo* et/ou *in vitro*.

II.10.1. Les maladies cardiovasculaires

L'étude EURAMIC (*european multicenter case-control study on Antioxidants, Myocardial infarction, and Cancer of the breast*), l'une des études les plus importantes en terme de nombre de personnes recrutées, a permis de mettre en évidence les effets bénéfiques du lycopène sur les maladies cardiovasculaires. Cette étude réalisée entre 1991 et 1992 sur une cohorte comprenant 686 hommes et 339 femmes d'origine européenne ou d'Israël (**Virtanen et al., 1996**) avait pour but d'évaluer les liens existants entre les concentrations de certains caroténoïdes (lycopène, carotène et rétinol) dans le tissu adipeux et le risque de maladies cardiovasculaires. Les résultats démontrent que le lycopène est le seul caroténoïde dont l'effet protecteur persiste de manière indépendante, après prise en compte des autres facteurs de risque cardiovasculaire. Cette étude a également montré que le taux de lycopène diminuait avec l'âge (de 15% tout les 10 ans).

Parallèlement, des études *in vitro* ont également mis en évidence les effets bénéfiques du lycopène et ont permis de faire émerger des pistes explicatives. Ainsi, l'effet protecteur du lycopène sur l'oxydation des LDL natifs a été avancé de même qu'une diminution de la synthèse du cholestérol (**Dugas et al., 1998 ; Fuhrman et al., 1997**).

II.10.2. Lycopène et l'inflammation

L'impact du lycopène sur ces pathologies a permis d'élargir le champ d'investigation. Ainsi, outre sa capacité à réguler un certain nombre de gènes, récemment, des études ont mis en évidence la capacité du lycopène à prévenir le phénomène inflammatoire.

Ces effets ont été mis en évidence dans plusieurs types cellulaires, aussi bien *in vitro* (**Saedisomeolia et al., 2009**) qu'*in vivo* (**Joo et al., 2009 ; Bignotto et al., 2009**). Il est intéressant de noter que les macrophages, qui sont des contributeurs majeurs au processus inflammatoire, voient leurs capacités sécrétoires modulées par ce caroténoïde en condition de stress inflammatoire. En effet, l'augmentation de marqueurs de l'inflammation comme l'IL-6 après une incubation de LPS est diminuée par un traitement au lycopène (**Feng et al., 2009**).

Dans cette même étude, les auteurs ont démontré que certaines voies de signalisation

majeures de l'inflammation dont NF- κ B étaient impliquées dans cet effet (**Hung et al., 2008**). Cette capacité anti inflammatoire a permis d'ouvrir d'autres pistes explicatives en rapport avec les effets connus du lycopène. Le lycopène est donc maintenant reconnu pour ses effets bénéfiques sur différents types cellulaires ou organes, et les mécanismes expliquant des effets commencent à être décryptés.

MATERIEL
ET
METHODES

- Notre stage de fin d'étude s'est déroulé dans deux lieux différents pendant 04 mois :
- Le 1^{er} est le laboratoire de biochimie et remodelage de la matrice extracellulaire (LBCM) de la faculté des sciences biologiques(FSB) de l'université des sciences et de la technologie Houari Boumediene (USTHB).
- Le 2^{ème} est le laboratoire d'analyse médicale de la polyclinique Bordj el kifane.

I. MATERIEL

I.1. Choix des animaux

L'animal idéal est celui qui présente une absorption, un métabolisme, une excrétion et une organisation des tissus comparables à celle des humains. L'éventail des animaux répondant à ces critères est réduit par les difficultés matérielles liées à leur coût, disponibilité, etc. Ceci fait que les rongeurs (rats, souris, hamsters) sont devenus les espèces primaires les plus utilisées dans les études et expérimentations. Dans notre cas nous avons choisi des rats blancs (*Ratus norvegicus*, souche *Wistar*) de sexe mâle originaires de la firme IFFA-CREDO (France) et produits par l'animalerie de l'USTHB. Nous avons choisi exclusivement des rats mâles pour exclure toute variation métabolique d'origine hormonale.

L'élevage de ces animaux a été réalisé dans un local d'espace moyen (animalerie) dont la construction des murs et du sol facilite le nettoyage et la désinfection. Les dimensions de ce dernier sont les suivantes :

- Longueur : 3m
- Largeur : 3.15m
- Hauteur : 2.19m

Les caractéristiques du milieu ambiant de l'animalerie sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau 9 : Paramètres du milieu ambiant de l'animalerie.

Température	Ventilation	Humidité (%)	Eclairage	Bruit
Environ 22 à 25 °C	Par le plafond (2.05m x 2.6m)Ventilation	55% ± 10%	12h/24h Naturel et Artificiel	Allées et venues limitées dans l'animalerie

I. 2. Données biologiques du rat *Rattus norvegicus*

Les caractéristiques du Rat *Wistar* sont les suivantes (**Lhroche et Rousselet, 1990**) :

- Poids à la naissance (♂) : 5g.
- Poids au sevrage : 35-90g.
- Poids adulte : 300-900g.
- Température corporelle (°C) : 37,5-38.5.
- Rythme cardiaque (batts/min.) : 305(270-350).
- Pression artérielle (mm Hg) : 110-120.
- Rythme respiratoire (resp. /Min.) : 85,5 (66-114).
- Volume urinaire (ml/24h//100g) : 5,52.
- Volémie (ml/Kg) : 64,1 (57,5-69,9).
- Durée de vie au laboratoire : 3 ans au minimum
- Consommation quotidienne d'aliment sec : 8 à 12g pour un rat de 50 à 80g et 10 à 20g pour un poids corporel de 80 à 250g.

a. Condition d'élevage en animalerie

Les rats sont répartis individuellement dans des cages en plastique équipées d'une litière en sciure et d'un couvercle métallique.

La température ambiante est maintenue constante, la lumière est artificielle.

b. Régime alimentaire

La consommation quotidienne en eau et en aliment sont données *ad libitum*.

Nous avons utilisé pour cette étude, un régime alimentaire (de la Production locale Bouzaréah Alger), dépourvu d'homocystéine comportant de la méthionine (0,43%), de la cystéine (0,32%), de la sérine (1,2%) et de la glycine (1,12%). Sa composition en vitamines B6, en acide folique et en choline est respectivement de l'ordre de 6,5 ; 1,7 et 1900 ppm, celle de la vitamine B12 est de 2 mg par kg d'aliment.

c. Protocole expérimental

L'expérimentation a été réalisée sur 30 rats de sexe mâle, provenant de l'animalerie de l'USTHB, ayant un poids corporel moyen de **244,62** g en début d'expérimentation c'est-à-dire

à T0. Après une période d'adaptation de 20 jours, ils sont répartis en 05 lots à raison de 06 rats pour chaque lot:

- Les rats du premier lot (Lot 1) ont été considérés comme témoins et n'ont reçu, quotidiennement, que de l'huile d'olive (1ml) par voie orale (gavage).

- Les rats du second lot (Lot 2) sont aussi considérés comme témoins. Ils ont reçu quotidiennement de l'eau physiologique.

- Les rats du troisième lot (Lot 3) ont reçu pendant 03 mois de la méthionine à raison de 500g/Kg de pc/j.

- Les rats du quatrième lot (Lot 4) ont reçu pendant 03mois du lycopène à raison de 5mg/kg de pc/j dans une solution d'huile d'olive.

- Les rats du cinquièmes lot (Lot 5) ont reçu pendant 03 mois du lycopène (5mg/kg/pc/j par gavage et de la méthionine (500 mg/kg de pc/j dans de l'eau physiologique et dans des biberons .

Notons que la supplémentation a duré 03 mois et les sacrifices ont eu lieu à la fin de l'expérimentation. Tous les rats ont reçu un régime standard durant la durée de l'expérimentation et ont eu un accès libre à l'eau et à la nourriture. Tous les rats à sacrifier sont isolés dans d'autres cages, 24 h avant le sacrifice. Le tableau suivant permet de récapituler le traitement administré aux rats durant les 03mois de l'expérimentation.

Tableau 10 : Traitements administrés aux rats suivant les lots.

Numéro du lot	1(HO)	2(NaCl)	3(Met)	4(Lyc)	5(Met+Lyc)
Supplémentation	Régime stand. Huile d'olive	Régime standard + Eau physiologique	Régime standard + Méthionine	Régime standard + Lycopène	Régime Standard + Lycopène + Méthionine
Doses	01ml/rat	Même volume que pour le lot 3	500mg/kg p.c/j	05mg/kg p.c/j	500mg met+05mg/de lyc/j

Le lycopène, administré aux rats des lots 4 et 5, est un antioxydant naturel extrait de la tomate. Il se présente sous forme de pastilles de 10mg (lyc-o-mato). Ce dernier est un extrait naturel de tomate, riche en lycopène et autres molécules bio actives naturelles, contenant une mixture de lycopène oléorésine, de l'huile d'olive, de la gélatine, de la glycérine, de la lécithine de soja et du caramel comme colorant.

Les solutions à administrer (lycopène dans 1ml d'huile d'olive) sont préparées quotidiennement, à l'abri de la lumière, pour éviter toute oxydation (Lee et Chen, 2002). Les pastilles de lycopène utilisées sont protégées par une enveloppe plastique opaque (Fig.8).

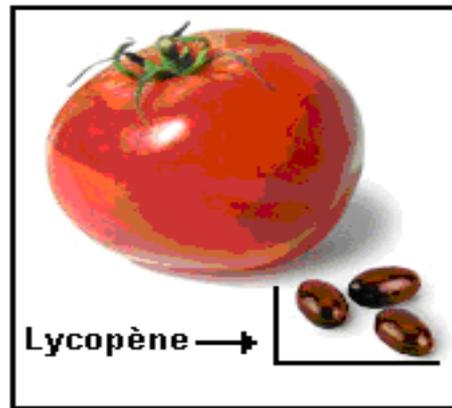


Figure 8: Pastilles de lycopène (lyc-o-mato, 10mg).

Dans le cadre de notre travail, un état d'Hyperhomocystéinémie est induit expérimentalement par administration quotidienne *per os* d'un excès de DL-Méthionine (Sigma) dissoute dans une solution de NaCl à 0.9%.

Nous avons étudié l'effet d'une seule dose de méthionine : 500 mg/Kg de poids corporel par jour, pour les 2 lots.

II. METHODES

1- Méthodes opératoires

A- Technique d'Administration par gavage

Les composés liquides peuvent être administrés directement dans l'estomac de la souris et les rats via une technique appelée gavage oral. Dans cette procédure une ampoule fait pencher l'aiguille gastrique gavage est attachée à une seringue et utilisé pour délivrer le composé dans l'estomac. La pointe ampoule permet d'éviter un traumatisme à la bouche et à l'œsophage au moment que l'aiguille est introduite. Les aiguilles viennent dans des tailles propres aux souris, aux rats. La longueur correcte de l'aiguille est égale à la distance de l'embouchure à juste au-delà de la dernière côte.

L'animal doit être fermement retenu (saisir l'animal par la peau lâche du cou et du dos) pour immobiliser la tête. Maintenir l'animal dans une position verticale (verticale) et passer sonde de gavage à travers le côté de la bouche. Après le toit de la bouche, de faire avancer l'aiguille dans l'œsophage et vers l'estomac. Si la résistance est rencontrée, vous pouvez tenter de pénétrer dans la trachée et vous devriez changer votre position de l'aiguille. Après que l'aiguille est passée à la longueur correcte, le composé peut être injecté.

Luttant lors de l'administration (ou force excessive) pour faire avancer l'aiguille, on peut entraîner la rupture de l'œsophage ou du pharynx. Si vous suspectez que cela s'est produit, l'animal devrait être euthanasié immédiatement.

Des volumes allant jusqu'à 10 ml / kg chez la souris et 20 ml / kg chez le rat peut être administré par gavage oral.

B- Evolution du poids corporel et des paramètres biochimiques

Les rats sont soumis à une pesée hebdomadaire durant toute l'expérimentation en vue d'une étude de l'évolution pondérale.

C- Le suivi des paramètres plasmatiques

Pour le suivi des paramètres plasmatiques, des ponctions sont effectuées au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil à l'aide d'une pipette pasteur préalablement héparinée. Le sang aussitôt prélevé sur tubes (héparinés, EDTA, citratés et secs) est centrifugé à 45000 tr/mn pendant 15 minutes à 4°C. Le plasma récupéré est conservé à -80°C pour le dosage des paramètres biochimiques plasmatiques (homocystéine, cholestérol total, triglycérides, CK-MB, HDLc et LDLc, les transaminases (ASAT et ALAT) et l'urée).

D- Prélèvement des organes

Au terme de l'expérimentation (03 mois), les animaux sont sacrifiés, après anesthésie par inhalation d'éther.

Le cœur, objet de cette étude et tous les autres organes sont prélevés.

- Un fragment ventriculaire de cœur est prélevé dans des conditions stériles en vue d'une étude zymographique pour quantification des métallo protéases (MMPs) pour étude ultérieure.

- Un fragment ventriculaire de cœur est fixé dans le Bouin aqueux en vue d'une étude histologique et histochimique.

Les autres organes sont fixés et congelés pour des études ultérieures.

2- Méthodes Analytiques

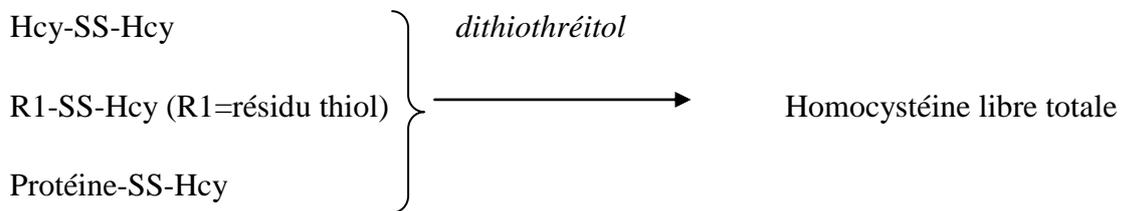
Après centrifugation du sang total, les plasmas obtenus sont aliquotés pour la détermination des paramètres biochimiques cités ci dessus

2.1 Dosage de l'homocystéine

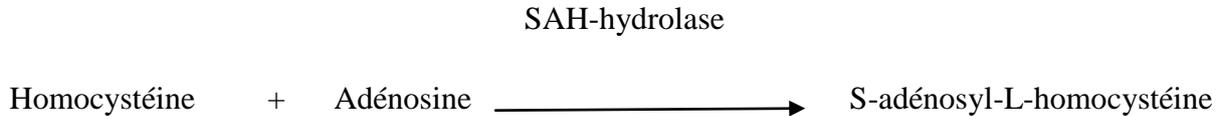
Le prélèvement doit être effectué à jeun sur tubes citratés, la centrifugation doit être rapide : moins de 30 minutes, afin d'éviter que les hématies ne rélargissent de l'homocystéine (**Chen et Nuttall, 1999**).

Le dosage de l'homocystéinémie est effectué grâce à la méthode *IMx* homocystéine qui est un dosage immunologique par polarisation de fluorescence (FPIA) sur un analyseur AXSYM (*Abbott*) (**Shipchandler et Edwin, 1995**).

L'homocystéine (Hcy), ses formes disulfures ainsi que les formes mixtes (protéine-Hcy) présentes dans l'échantillon sont réduites en homocystéine libre sous l'action du dithiothréitol.



L'Homocystéine libre totale est convertie en S-adenosyl-L-homocystéine (SAH) en utilisant de la SAH-hydrolase et de l'adénosine en excès.



L'échantillon qui ne contient finalement que du S-adenosyl-L-homocystéine (SAH) est mélangé avec deux réactifs : l'un contient l'anticorps anti-SAH (monoclonal) et l'autre contient un traceur S-adenosyl-L-cystéine marqué à la fluorescéine.

La SAH et le traceur marqué à la fluorescéine entrent en compétition pour occuper les sites de liaison sur la molécule d'anticorps anti-SAH monoclonal.

L'intensité de la fluorescence est mesurée par le système optique FPIA de l'analyseur IMx.

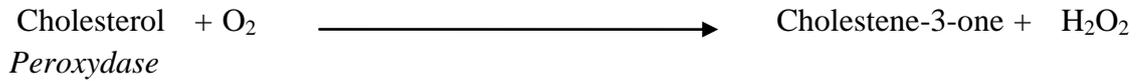
2.2 Dosage du cholestérol

Le cholestérol plasmatique est déterminé selon la méthode de **Richmond (1973)**. Il est libéré par la cholestérol estérase à partir des esters de cholestérol puis oxydé par le cholestérol oxydase en choléstène-3-one avec la libération de peroxyde d'hydrogène. La quinonéimine obtenue sous l'action de la peroxydase, est quantifiée par la mesure de la densité optique à 500 nm.

Cholestérol-estérase



Cholestérol-oxydase

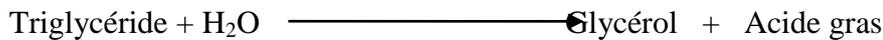


l'intensité de la couleur formé est proportionnelle à la concentration de cholestérol dans l'échantillon (Naito , 1984) (Meiattini et al., 1978) SPINREACT.

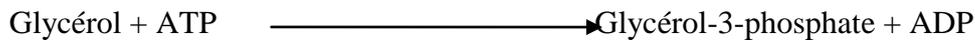
2.3 Dosage des triglycérides

Les triglycérides ont été dosés avec le kit SPINREAT, selon la méthode colorimétrique, fourni par le fournisseur, après hydrolyse enzymatique par la lipase. L'indicateur qui est la quinonéimine (révélée à 500 nm) est formé à partir du peroxyde d'hydrogène, 4-aminophenazone et la 4-chlorophenol par la peroxydase suivant les réactions ci-dessous :

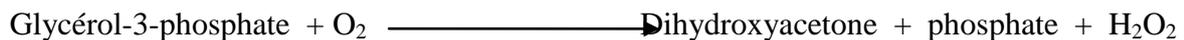
Lipase



Glycérokinase



Glycérol-3Peroxydase



Peroxydase



(Buccolo *et al.*, 1973 ;fossati *et al.*, 1982 ;Kaplan *et al.*, 1984) SPINREACT.

2.4 Dosage du HDL- Cholestérol

La méthode utilisée pour ce dosage est la méthode de CHOD-PAP (Friedewald *et al.*, 1972) en utilisant un kit Spireact.

Les lipoprotéines de basse densité (LDL- et- VLDL) et les chylomichrons sont précipitées quantitativement par l'addition d'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium.

Après centrifugation, le cholestérol des HDLs qui reste dans le surnageant est mesuré.

La lecture se fait à une longueur d'onde égale à 500 nm.

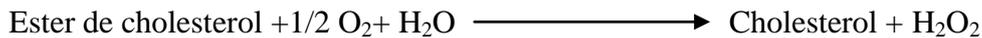
2.5 Dosage du LDL-Cholestérol

Les lipoprotéines de faible densité (LDL) présentes dans l'échantillon précipitent en présence de sulfate de polyvinyl. La concentration en cholestérol LDL est calculée par différence entre les valeurs en cholestérol dans le sérum et dans le surnageant obtenues après centrifugation.

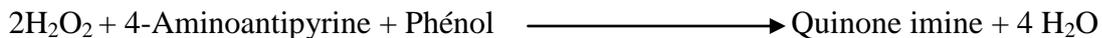
Le cholestérol est quantifiable par photométrie grâce aux réactions couplées décrites ci-dessous, selon (Assmann *et al.* , 1984).



Cholesterol oxydase



Peroxydase



Après agitation et incubation pendant 10 minutes à 37°C, la lecture de l'absorbance (A) de

L'étalon et de l'échantillon face au Blanc à 500 nm est réalisée.

2.6 Dosage de l'urée

L'urée contenue dans l'échantillon subit l'action de l'uréase pour donner deux molécules d'ammonium et une molécule de carbonate. Les deux molécules d'ammonium en présence du salicylate et d'hypochlorite vont se transformer pour donner des dérivés indophénols (Searcy *et al.*, 1967).

Urease



Ces dérivés ont un spectre d'absorption entre 578 et 600 nm.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon (**Kaplan et al., 1984 ; Tabacco et al., 1979**) SPINREACT.

2.7 Dosage des activités enzymatiques dans le sérum des Rats

2.7.1 Les transaminases sériques ou amino transférases

Le dosage des transaminases présente un intérêt clinique dans le diagnostic des atteintes cardiaques et hépatiques. Deux enzymes présentent un intérêt particulier : ASAT ou TGO et ALAT ou GPT. Elles catalysent l'inter conversion d'un groupement aminé à partir d'un acide aminé donneur vers un acide α -cétoglutarique accepteur.

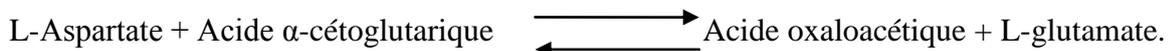
2.7.1.1 La Transaminase Glutamique Oxaloacétique (ASAT)

Cette enzyme est appelée également L-Aspartate Amino-Transférase, elle présente deux isoenzymes, l'une est localisée dans le cytoplasme et l'autre dans la matrice mitochondriale.

Elle est retrouvée dans les tissus hépatiques et myocardiques. Son taux est moindre dans le muscle squelettique et le rein (d'environ 70%) de celui du coeur et du foie (**Bernard, 1985**).

Cette enzyme catalyse la réaction suivante.

GOT



MDH



Le taux de diminution de la concentration de NADH mesurée photométriquement est proportionnelle à la concentration de catalyseur de AST présente dans l'échantillon (**Murray et al., 1984**) SPINREACT.

Cette réaction secondaire catalysée par la malate déshydrogénase (MDH) permet de suivre l'oxydation du NADH, H en NAD⁺, qui est proportionnelle à l'activité catalytique de la TGO.

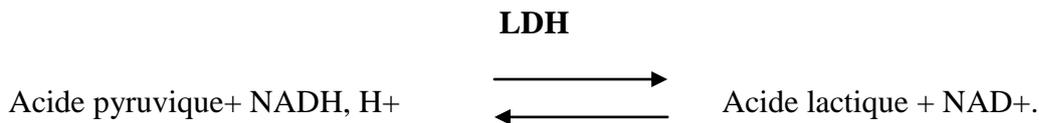
Cette activité est déterminée par la mesure de la diminution de l'absorbance à 340 nm.

Le dosage de l'activité enzymatique de la TGO est un moyen de diagnostic des affections cardiaque et hépatique. Ainsi, l'augmentation du taux de la TGO n'indique pas forcément un infarctus du myocarde ou une hépatite aigue ; elle peut être observée dans le cas d'embolie pulmonaire (Weil *et al.*, 1994).

2.8.1.2 La Transaminase Glutamo-Pyruvique (ALAT)

Elle est nommée aussi L-Alanine amino-transférase. Cette enzyme de localisation cytoplasmique, est retrouvée principalement dans le foie et à des taux plus faibles dans le cœur, rein et le muscle squelettique strié.

L'ALAT assure le transfert d'un groupement amine de la L-Alanine vers le carbone α de l'acide α -cétoglutarique pour former l'acide pyruvique et L-glutamate.



La vitesse d'oxydation du NADH, H⁺ est proportionnelle à l'activité catalytique de la GPT.

Cette activité est déterminée par mesure de la diminution de l'absorbance à 340 nm.

La prédominance de l'ALAT et sa localisation cytoplasmique expliquent sa spécificité dans les troubles hépatiques. Elle présente également un intérêt clinique dans le diagnostic des affections cardiaques (Murray *et al.*, 1984) SPIREACT.

2.8 Dosage de la créatine kinase MB (CK-MB)

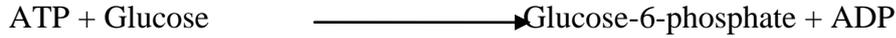
La CK-MB a été dosée par la méthode d'immuno-inhibition avec les kits Spinreact.

Principe : un anticorps anti CK-M inhibe complètement la sous unité CK-M de la CK-MB. L'activité de la sous unité CK-B non-inhibée sera ensuite calculée après les étapes suivantes :

Créatine kinase



Hexokinase



Glucose-6-Phosphate deshydrogénase



Le taux de NADPH formé mesuré par photométrie, est proportionnel à la concentration catalytique de la CK-B présente dans le plasma.

3- Méthodes Histologiques

Nos échantillons sont soumis aux techniques histologiques classiques comportant la fixation, la déshydratation, l'éclaircissement, l'imprégnation, l'inclusion et la coloration (**Martoja et Martoja 1967 ; Gabe 1968**).

3.1. Fixation

La fixation a pour but de garder les tissus et les organes dans un état proche de l'état vivant.

Les fragments de cœurs sont prélevés et rapidement plongés dans le Bouin aqueux, (liquide fixateur à base de trois agents : le formol, l'acide acétique et l'acide picrique). Ce dernier a un effet mordant qui permet une bonne imprégnation du colorant.

La durée de la fixation est de 3 jours. Les pièces sont ensuite lavées pendant 24h à l'eau courante afin d'éliminer l'excès de liquide fixateur.

3.2. Déshydratation

Les pièces sont déshydratées dans des bains d'alcool éthylique de degré croissant (50°, 70°) à raison de 30 minutes par bain. Cette déshydratation a pour but d'éliminer complètement l'eau contenue dans les cellules et d'assurer la bonne pénétration de la paraffine.

3.3. Eclaircissement

Un bain intermédiaire de butanol est réalisé entre le dernier bain d'alcool (100°) et celui de la paraffine, il permet de substituer l'alcool par le butanol. La substitution se fait par deux bains de butanol de 30 minutes chacun.

3.4. Imprégnation

Grâce à différents bains, les pièces sont imprégnées dans la paraffine en effectuant :

- un premier bain de paraffine/ butanol (V/V, 2h),
- un deuxième bain de paraffine pure filtrée (2h), à l'étuve à 58°C.

3.5. Inclusion

La confection des blocs de paraffine (barre de Leuckart) dans lequel l'organe est inclus est suivie par la réalisation de coupes de 5µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome du type American Optical.

4- Coloration topographique

Elle facilite l'identification des différentes structures tissulaires. La coloration topographique utilisée dans le cadre de cette étude est le trichrome de Masson variante de Goldner qui colore le noyau en noir (Hématoxyline de Groat), le cytoplasme en rose (Fuschine-ponceau et orangé G) et les fibres de collagènes en vert (vert lumière) ou en bleu (Bleu d'aniline).

5- Méthodes Statistiques

Les résultats biochimiques (Homocystéine, cholestérol, triglycérides, lipoprotéines (LDLc et HDLc), CK-MB et l'urée), sont exprimés par la moyenne affectée de son écart type.

La comparaison des moyennes est réalisée par le test *t* de Student (utilisation d'Excel 2007).

* $p < 0.05$ (peu significative) ; ** $p < 0.01$ (signifiative);

*** $p < 0.001$ (très significative) ; **** $p < 0.0001$ (hautement significative).

RESULTATS

IV. RESULTATS

1. Poids des animaux

Les pesées hebdomadaires effectuées pendant 3 mois ont permis le suivi du poids des rats Témoin (Lot 1 et 2) et soumis à une administration *per os* de méthionine à raison de 500 mg/Kg de poids corporel/jour (Lot 3 et 5), ainsi que ceux prétraités au lycopène 5mg/ Kg de poids corporel/jour (lot 4 et 5). Les résultats sont consignés dans le tableau 11 et figure 9. La figure 9, nous montre une augmentation du poids corporel chez les rats de tous les lots. Cette augmentation est de 12% chez les animaux soumis à la méthionine (lot3 et 5). Par contre les témoins ont enregistré un pourcentage plus important de l'ordre de 16 % et 22% (lot1 et lot2 respectivement).

Tableau11 : Evolution pondérale (g) des rats des différents lots.

Temps (mois)	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
T0	267,30± 39,07	256,66±40,01	272,65±38,43	267,65±37,72	256,62±34,87
T1	261,96±40,72	254,40±39,57	269,04±52,37	264,80±37,75	254,43±36,39
T2	292,76±44,67**	298,53±30,08**	295,88±44,13*	274,56±24,26*	280,16±29,63*
T3	311,15±56,34**	313,08±24,71***	305,25±37,17**	289,10±30,77*	288,45±28,75**

Ces valeurs correspondent aux moyennes du poids affectées de l'écart type.

T1, T2, T3 vs T0 pour chaque Lot : * p<0.05 ; ** P<0.01 ; *** P<0.001 ; **** P<0.0001

Lot 2, Lot 3, Lot 4, Lot 5 vs Te * P<0.05

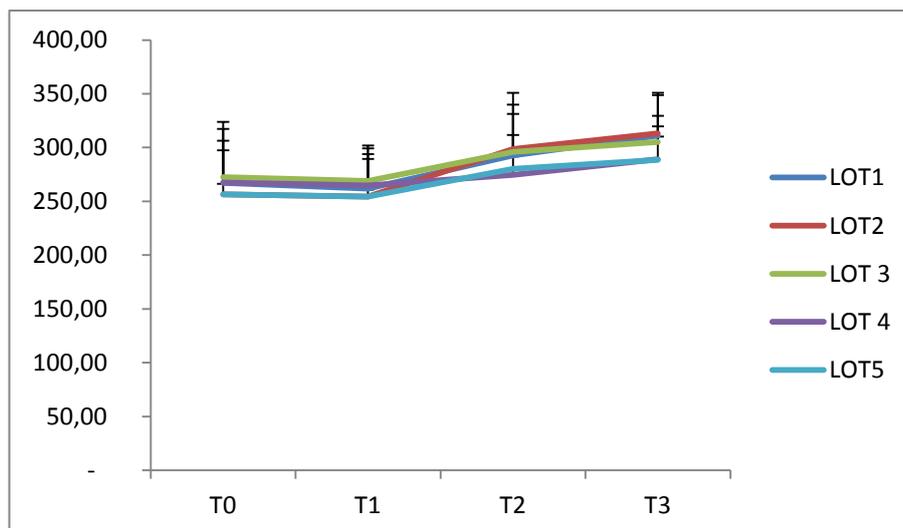


Figure 9: Evolution pondérale (g) des rats des différents lots.

2. Evolution des paramètres de la Biochimie plasmatique

2.1. L'homocystéinémie

Les valeurs obtenues montrent que l'administration de méthionine engendre une augmentation de l'homocystéinémie, résultat attendu par notre expérimentation. L'homocystéinémie exprimée en $\mu\text{mol/L}$ a été évaluée chaque mois (Tab. 12 ; Fig. 10).

A T_1 , nous avons observé une augmentation significative chez les rats du lot 3 et 5) mettant en évidence l'effet dose-réponse. A T_2 , une augmentation hautement significative est enregistrée. Elle est de $(17,89 \pm 1,58)$ chez lot 3, $p < 0,0001$ et de $(15,89 \pm 1,30)$ chez le lot 5, $p < 0,0001$.

En fin d'expérimentation, à savoir 3mois, la plus importante augmentation est notée chez les animaux du lot 3 avec un gain de 287% par contre on remarque une diminution hautement significative chez les animaux du lot 5, avec un pourcentage de 41% ce qui montre que l'administration du lycopene a un effet hypohomocystéinémique.

Tableau 12 : Evolution de l'homocystéinémie ($\mu\text{mol/L}$) des rats des différents lots.

Temps (mois)	T0	T1	T2	T3
LOT2	5,30 \pm 1,32	5,96 \pm 1,42	6,24 \pm 0,73	6,70 \pm 0,46
LOT3	5,30 \pm 1,32	8,00 \pm 1,61**	17,89 \pm 1,58****	20,51 \pm 2,84****
LOT4	5,30 \pm 1,32	6,63 \pm 0,97	6,90 \pm 1,09	6,28 \pm 1,37
LOT5	5,30 \pm 1,32	8,10 \pm 1,42**	15,89 \pm 1,30****&&&&	11,38 \pm 1,57****&&&&

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type. Lot 3, 4 et 5 vs Te ** $P < 0.01$; **** $p < 0,0001$
 Lot 3(T_1, T_2, T_3) vs lot 5(T_1, T_2, T_3) ; &&&& $p < 0,00001$

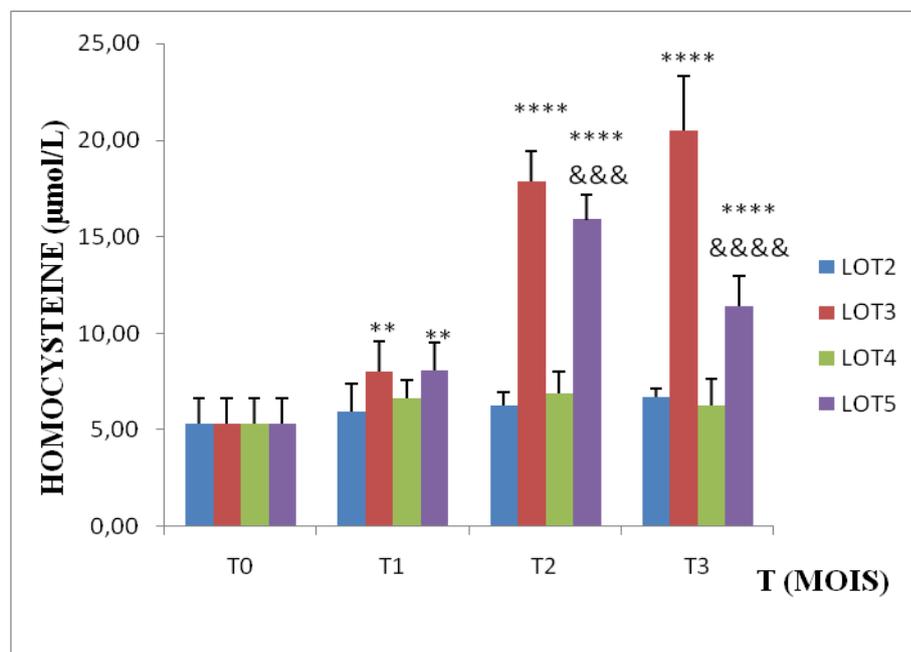


Figure 10 : Evolution de l'homocystéinémie ($\mu\text{mol/L}$) des rats des différents lots.

2.2. Les lipides plasmatiques

2.2.1. Le cholestérol total

Le tableau 13 et la Figure 11 montrent que la cholestérolémie augmente après un mois d'administration de méthionine chez les deux lots 3 et 5 ($p < 0,01$, au bout du 3^{ème} mois, cette augmentation devient plus importante chez les rats hyperhomocystéinémiques du lot 3 (rats ayant reçu de la méthionine seule) atteignant environ un gain de 22% et en fin d'expérimentation, l'effet dose réponse est plus visible.

Par contre les rats du lot 5, qui ont reçu du lycopène et de la méthionine simultanément, l'augmentation enregistré à T1 devient plus faible à T2 et T3 (diminution peu significative $P < 0,05$) elle se rapproche de la valeur initiale T0 à la fin de l'expérimentation avec un pourcentage de -2%.

Tableau 13 : Evolution de la cholesterolemie (g/L) chez les rats des differents lots .

Temps(mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	1,00±0,05	1,12±0,09	1,18±0,06	1,12±0,19
LOT2	1,00±0,05	1,03±0,13	0,97±0,17	0,92±0,14
LOT3	1,03±0,11	1,06±0,11	0,85±0,06**	1,26±0,09**
LOT4	1,01±0,12	0,90±0,11	0,85±0,14	0,82±0,14
LOT5	1,07±0,17	1,24±0,21**&	1,17±0,20	1,05±0,26&

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type.

Lot 3, 4 et 5 vs Te * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

Lot 3 T3 vs Lot 5 T1, T2, T3 ; & $p < 0,05$

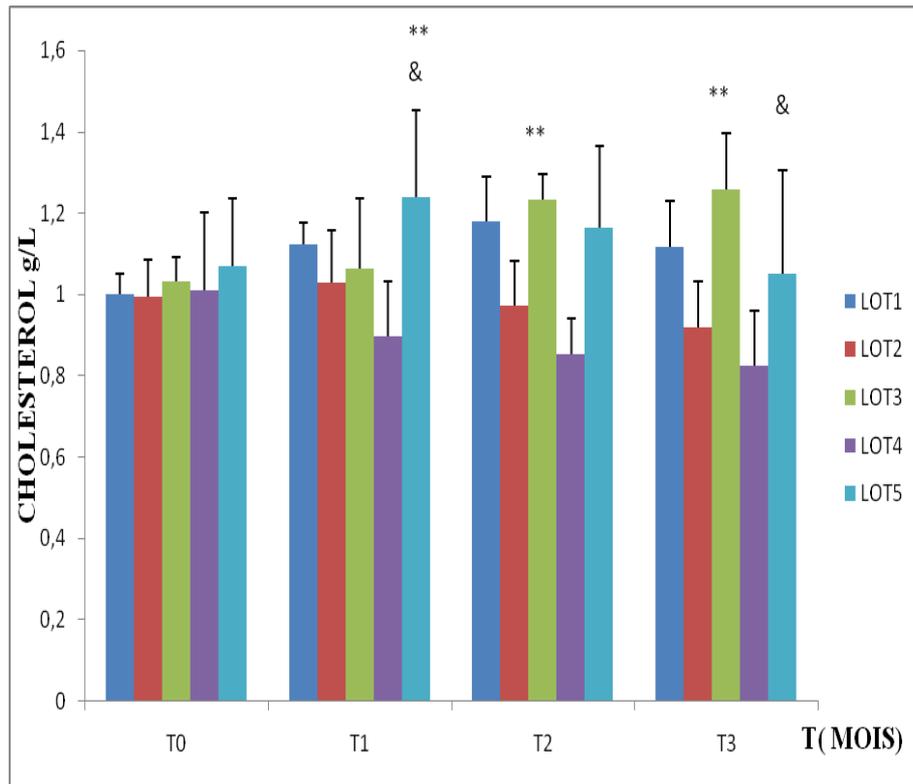


Figure 11 : Evolution de la cholesterolemie (g/L) chez les rats des differents lots.

2.2.2. La triglycéridémie

Les résultats consignés dans le tableau 14 et la figure12 montre qu'après 2 mois d'aministration de méthionine, la triglycéridémie est augmentée chez tous les rats du lot 3 et lot5, resultat significatif ($p < 0.01$ pour le lot3, $p < 0.001$ pour le lot 5 à T₁).

En fin d'experimantation, cette augmentation atteint environ 53% (lot 3).L'effet dose-réponse est plus net à 3mois, au contraire chez les rats du lot 5 on a enregistré une augmentation non significative et a la fin de l'experimantation le taux de cholestérol se stabilise et se raproche du taux intiale avec un pourcentage de 16% .

Tableau14 : Evolution de la triglycéridémie chez les rats des differents lots.

Temps (mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,64±0,15	0,65±0,26	0,90±0,10	0,77±0,24
LOT2	0,66±0,22	0,66±0,27	0,76±0,03	0,78±0,12
LOT3	0,64±0,02	0,77±0,07**	0,85±0,16*	0,97±0,22**
LOT4	0,66±0,19	0,65±0,13	0,57±0,10	0,53±0,04
LOT5	0,67±0,03	0,94±0,09***&&	0,86±0,14*	0,77±0,12*

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type
 Lot 3, 4 et 5 vs Te * P < 0,05 ; ** P < 0,01 et lot 3 (T1, T2, T3) vs Lot 5 (T1, T2, T3)

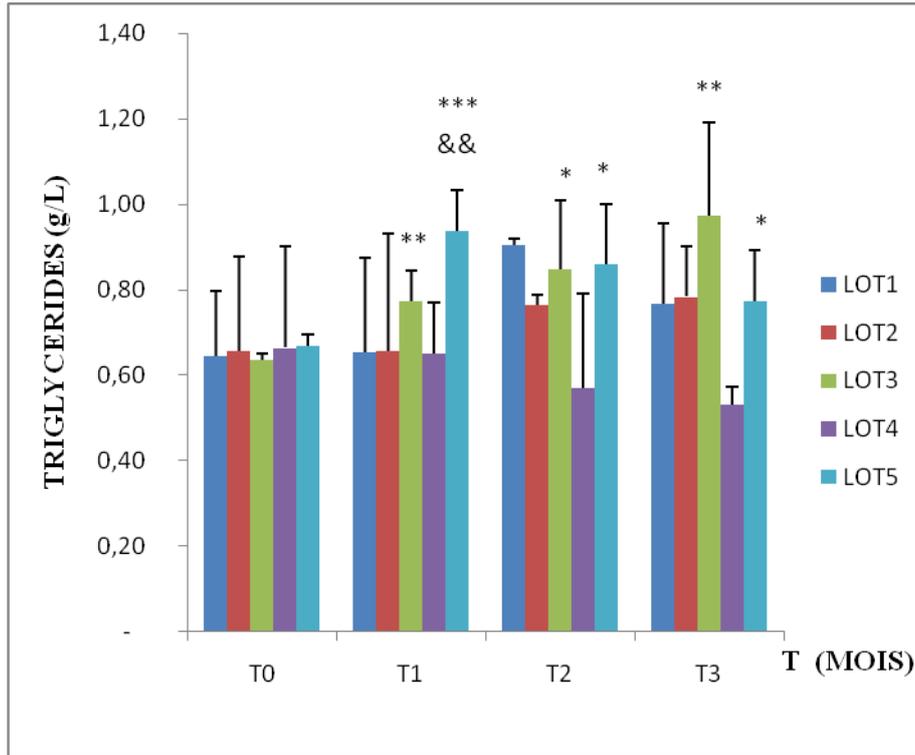


Figure12 : Evolution de la triglycéridémie chez les rats des différents lots

2.2.3 Le cholestérol HDL :

La figure suivante met en évidence une diminution de -38% de la fraction cardioprotectrice (HDL) chez les rats de lot 3 associée à une augmentation de 11% chez les rats de lot 5 en fin d'expérimentation. -38% 11%

Tableau 15 : évolution du HDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.

Temps(mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,47±0,04	0,47±0,03	0,46±0,05	0,48±0,03
LOT2	0,47±0,19	0,46±0,08	0,45±0,03	0,44±0,05
LOT3	0,47±0,19	0,40±0,05	0,36±0,03	0,29±0,04***
LOT4	0,47±0,19	0,51±0,09	0,54±0,09	0,58±0,06
LOT5	0,47±0,19	0,46±0,04&&	0,45±0,09&&	0,45±0,07&&&

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type

Lot 3, 4 et 5 vs Te *** P< 0,001 ;

Lot 3 (T1, T2, T3) vs Lot 5 (T1, T2, T3) ; && p<0,01, &&&p<0,0001

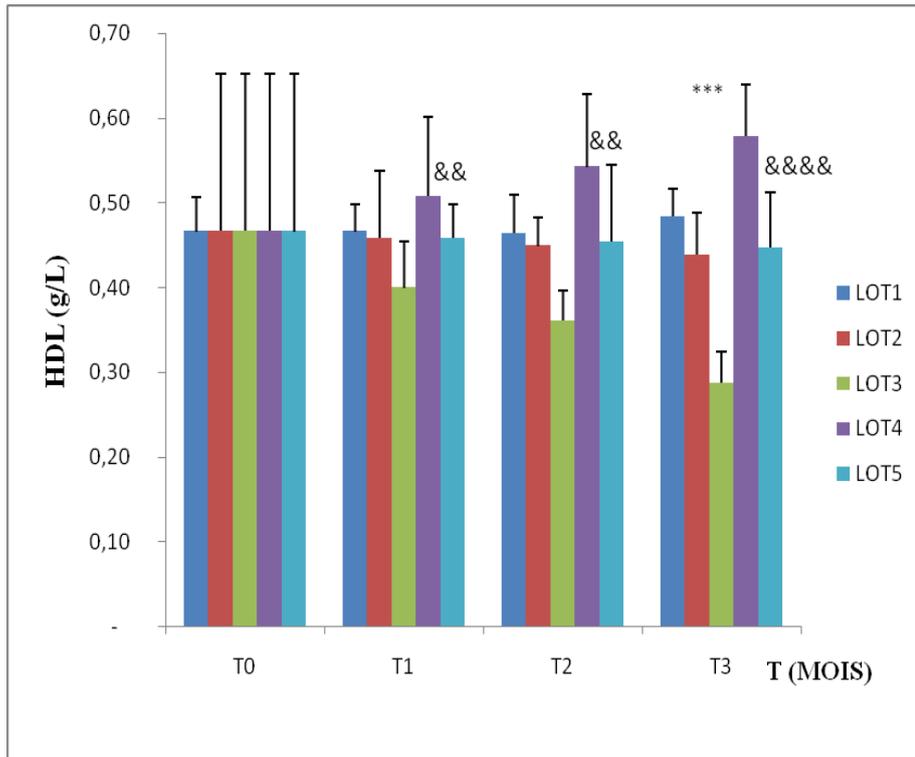


Figure 13 : évolution du HDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.

2.2.4. Le cholestérol LDL

A la fin d'expérimentation la fraction athérogène (LDL) a subi une augmentation de 39% chez le lot 3 par contre un pourcentage de 0% a été enregistré chez le lot 5 d'où le résultat est significatif .

Tableau16 : Evolution du LDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots

Temps (mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,18 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0,18 ± 0,02
LOT2	0,17 ± 0,03	0,17 ± 0,05	0,18 ± 0,03	0,17 ± 0,02
LOT3	0,17 ± 0,03	0,2 ± 0,02*	0,22 ± 0,03*&	0,24 ± 0,06*
LOT4	0,17 ± 0,03	0,18 ± 0,03*	0,19 ± 0,03	0,16 ± 0,01
LOT5	0,17 ± 0,03	0,23 ± 0,06	0,19 ± 0,06	0,17 ± 0,02&&*

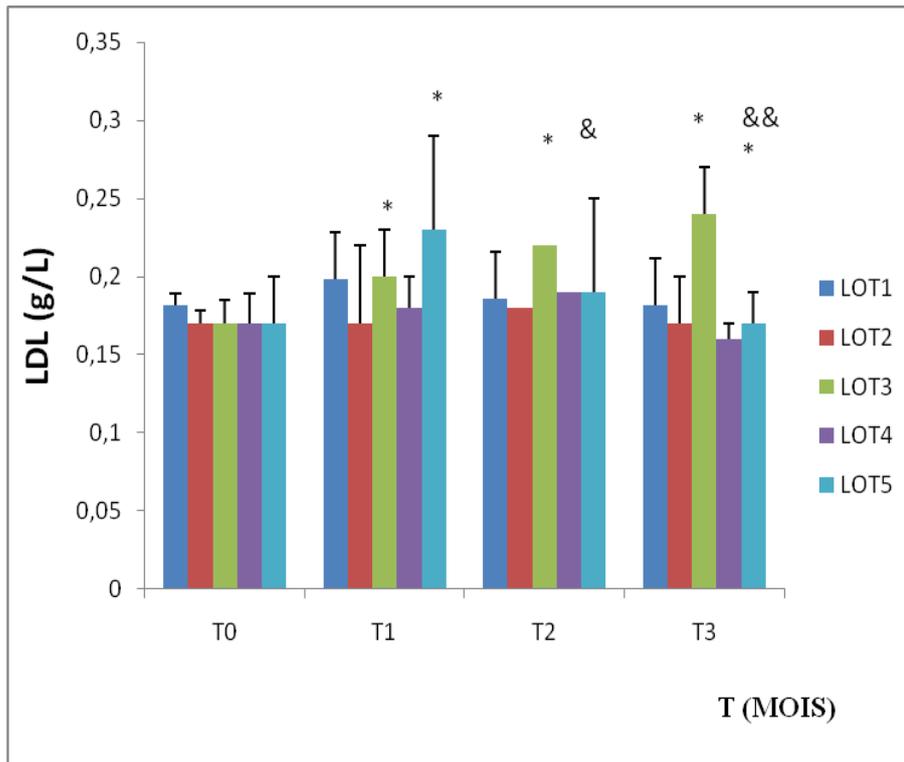


Figure 14: Evolution du LDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.

2. 3 Urémie

Les valeurs moyennes de l'urémie exprimée en g/L sont consignées dans le tableau 17.

La figure 15 montre que l'urémie présente une légère augmentation au terme de l'étude chez les rats du lot 3 et 5. Pour les animaux du lot 3 l'augmentation enregistrée avec un gain de 13% la fin de l'expérimentation.

Les animaux du lot 5 ont subi une diminution non significative à partir de T2 jusqu'à la fin de traitement ou on a enregistré un gain plus faible 5% par rapport au gain obtenu chez les rats du lot3.

Tableau17: Evolution de l'urémie (g/L) chez les rats des différents lots.

Temps (mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,35±0,02	0,34±0,02	0,35±0,04	0,36±0,04
LOT2	0,36±0,03	0,38±0,02	0,35±0,04	0,37±0,06
LOT3	0,35±0,07	0,37±0,07	0,39±0,04	0,40±0,04
LOT4	0,36±0,03	0,35±0,05	0,31±0,04	0,28±0,03
LOT5	0,34±0,04	0,37±0,04	0,37±0,04	0,36±0,06

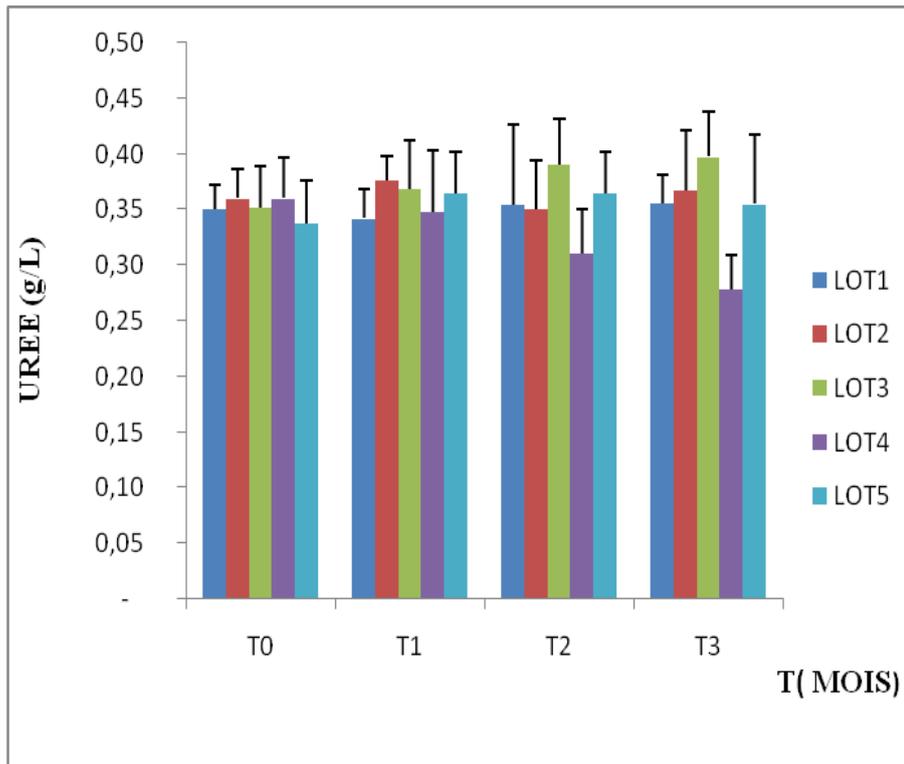


Figure 15 : Evolution de l'urémie (g/L) chez les rats des différents lots.

2.4 LES TRANSMINASES SÉRIQUES OU AMINO TRANSFERASES

2.4.1 ASAT plasmatique

Au 1^{er} mois de l'expérimentation, nous remarquons une augmentation très significative de l'activité de cet enzyme sérique. L'ASAT plasmatique devient hautement significative à la fin de l'expérimentation chez les rats du lot 3 avec un gain important de 71% (Tab. 18, fig. 16).

Les rats du lot 5 ont subi une augmentation significative à T1, mais à la fin de l'expérimentation le taux d'ASAT a diminué (résultat hautement significatif) avec un faible pourcentage de (-1%).

Tableau 18: Évolution de l'ASAT plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.

Temps (mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	120,80±8,58	102,50±23,87	96,20±35,01	100,20±27,73
LOT2	124,29±6,80	123,29±6,95	125,75±4,59	124,43±6,40
LOT3	124,29±6,80	153,50±15,90***	169,75±15,33****	212,63±40,83****
LOT4	124,29±6,80	121,50±3,93	122,22±7,24	122,88±7,88
LOT5	124,29±6,80	147,56±16,71**	135,33±10,25&&&&	123,11±6,37&&&&

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type

Lot 3, 4 et 5 vs Lot 1 et 2 *** P < 0,001 ; **** p < 0,0001

Lot 3 (T1, T2, T3) vs Lot 5 (T1, T2, T3) ; &&&&p < 0,0001

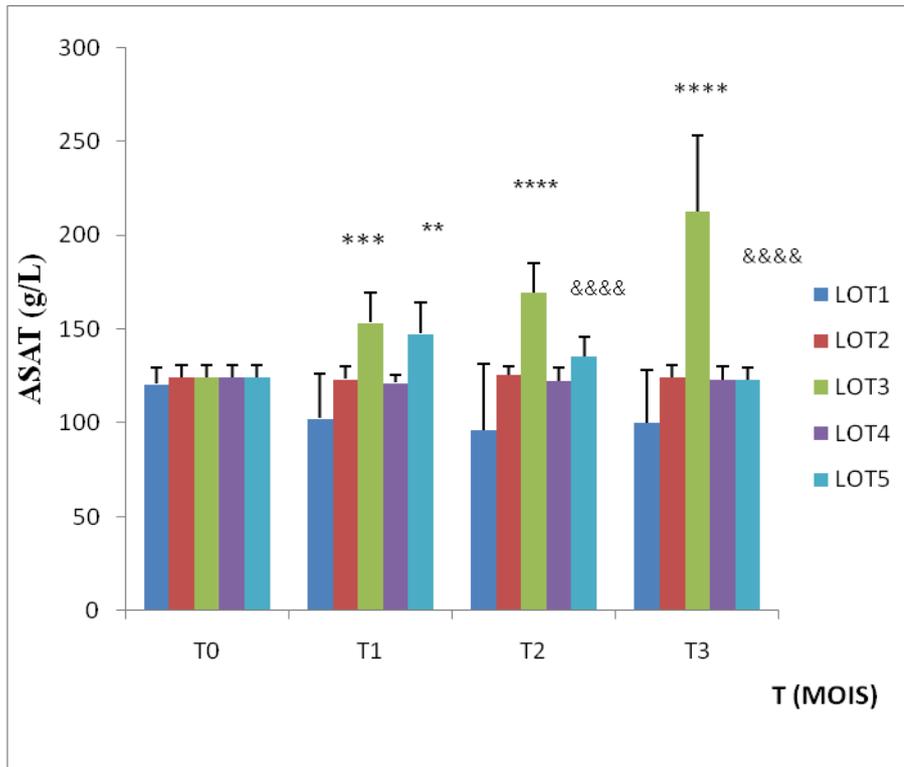


Figure 16 : Évolution de l’ASAT plasmatique (g/L) () chez les rats des différents lots.

2.4.2 ALAT plasmatique

Nous avons observé une augmentation progressive de l’activité de l’ALAT plasmatique sous l’effet de la Met, mais qui reste peu significative jusqu’à la fin de traitement chez les rats du lot3 (tab.19, fig. 17) avec un gain de 34% contrairement au lot 5 où on a obtenu un très faible gain de 5% à partir de T2 le taux de l’ALAT chez les rats de lot5 a diminué légèrement jusqu’à la fin de traitement (résultat non significatif) mais qu’il reste très significatif en comparant avec le lot 3 .

Tableau 19 : ALAT plasmatique (g/L) des rats témoins et les différents lots.

Temps (mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	24,60±2,41	24,20±3,03	3,65±25,40	26,80±3,96
LOT2	26,50±5,21	26,75±4,92	26,63±5,18	27,50±5,42
LOT3	26,13±5,44	28,40±5,70	31,50±5,68*	35,00±7,19&&*
LOT4	24,75±2,75	23,50±1,91	21,00±1,83	19,75±0,96
LOT5	25,00±4,00	30,30±0,07*	29,56±0,20	28,22±0,23

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type
 Lot 3, 4 et 5 vs Lot 1 et 2 *** P< 0,001 ; ** p<0,01

La comparaison est faite entre les rats du lot 3 et les rats du lot 5 ; $p < 0,01$; $p < 0,05$.

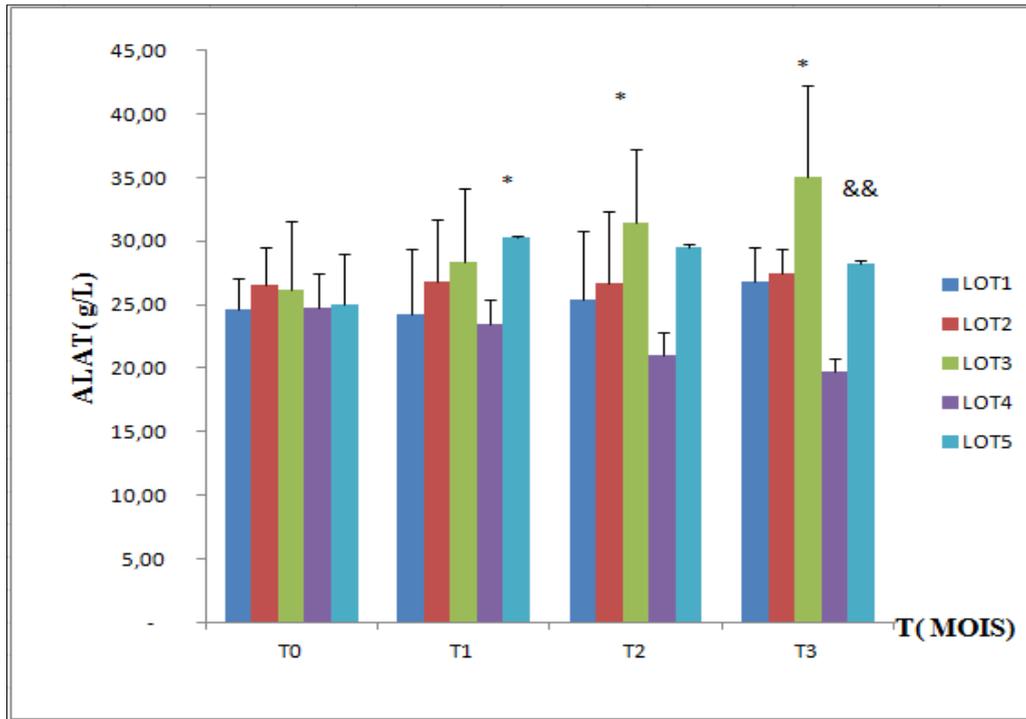


Figure 17 : ALAT plasmatique (g/L) des rats témoins et les différents lots.

2.5 Dosage du marqueur cardiaque la créatine kinase MB (CK-MB)

Il nous a semblé intéressant de quantifier la créatine kinase MB ou CK-MB, marqueur cardiaque de nécrose chez tous les rats de l'expérimentation.

Les résultats de ce dosage effectué en début (T_0) et en fin d'expérimentation (T_3) sont présentés dans le (Tab .20 et la Fig.18). Ils montrent, chez les rats *Wistar* hyperhomocystéinémiques du lot 3, une augmentation d'environ 39% de la concentration plasmatique en CK-MB vs 9% chez les animaux témoins (Fig. 18).

Même résultat a été obtenu chez les rats du lot 5 mais, il reste non significatif. A partir de T_2 le taux de CKMB a diminué (résultat non significatif) .A la fin de l'expérimentation on a enregistré le même pourcentage que chez les témoins (9%).

Tableau 20 : KCMB plasmatique (U/L) des rats témoins et les différents lots

Temps (mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	429,40±93,48	475,20±120,64	477,80±82,52	483,60±87,89
LOT2	445,07±87,00	457,82±97,00	459,33±94,39	484,05±81,33
LOT3	446,91±101,05	567,99±78,44&	595,93±76,73**	620,63±105,86**&&
LOT4	446,91±101,05	445,14±74,64	439,88±72,21	426,91±68,62

LOT5	446,91±101,05	498,25±66,37	507,62±89,86	485,51±72,83
------	---------------	--------------	--------------	--------------

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type

Lot 3, 4 et 5 vs Lot 1 et 2 *** P< 0,001 ; ** p<0,01

La comparaison est faite entre les rats du lot 3 et les rats du lot 5 ; &&p<0,01 ; &p<0,05.

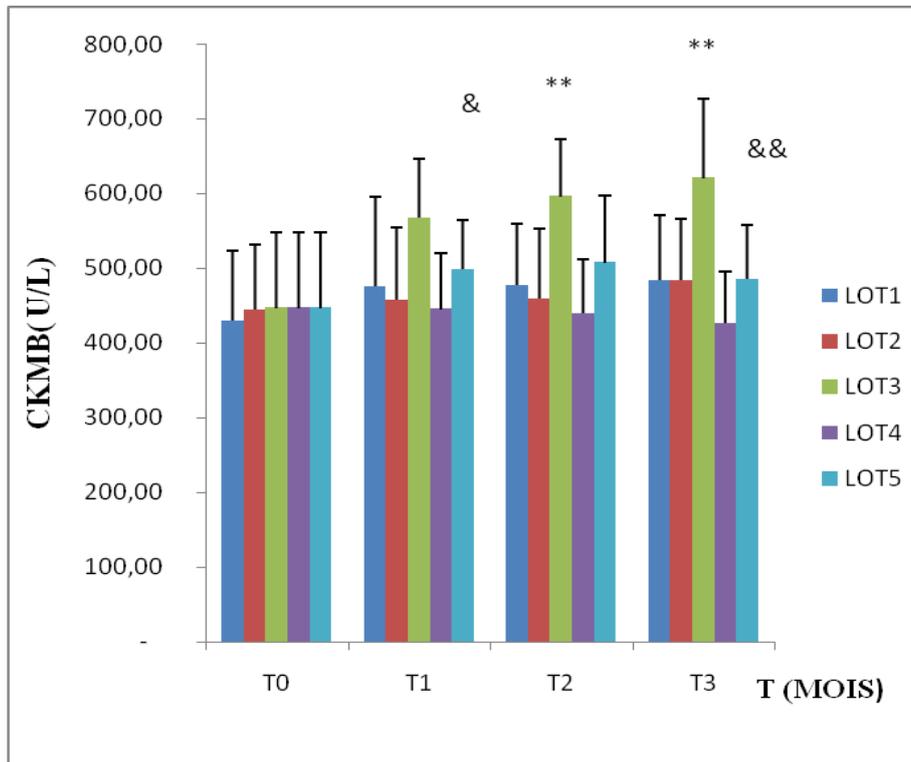


Figure18 : CKMB plasmatique (U/L) des rats témoins et les différents lots.

3. STRUCTURE HISTOLOGIQUE DE LA PAROI CARDIAQUE

3.1 Effet du lycopene sur les changements histopathologique du muscle cardiaque des rats hyperhomocystéinémique

L'Hyperhomocystéinémie a engendré des altérations au niveau de la structure cardiaque du rat Wistar du lot 3. Nous avons enregistré des altérations touchant aussi bien les cardiomyocytes que la matrice extracellulaire et la vascularisation cardiaque.

Les micrographies des rats témoins (Figure 19 : A et B) nous révèlent une structure normale, les cardiomyocytes sont bien individualisés et la vascularisation est normale, abondante et le tissu conjonctif est très réduit.

Les micrographies (Figure 20 :C, D) et E représentent l'état histopathologique des rats du lot 3 hyperhomocystéinémique. Ils révèlent des altérations vasculaires de la structure

myocardique colorée au trichrome de Masson tant au niveaux cellulaire que matricielle. En effet, on observe une altération de la matrice munie d'une fibrose interstitielle et péri vasculaire (D), d'importante vascularisation myocardique, des dilatations des capillaires (E), présence de collagène coloré en vert, entre les cardiomyocytes, une désorganisation cellulaire, présence de noyaux apoptotiques et le myocarde semble être le siège d'un début d'inflammation (D).

La figure (21 G et H) montre la structure du myocarde de rat soumis à la méthionine et au lycopène (Gt : 40x4).cette figure révèle un collagène moins abondant et les espaces intercellulaires réduits. Le lycopène semble réduire les altérations cellulaires et matricielles (Pas d'infiltrations, pas d'inflammations et pas de fibrose).

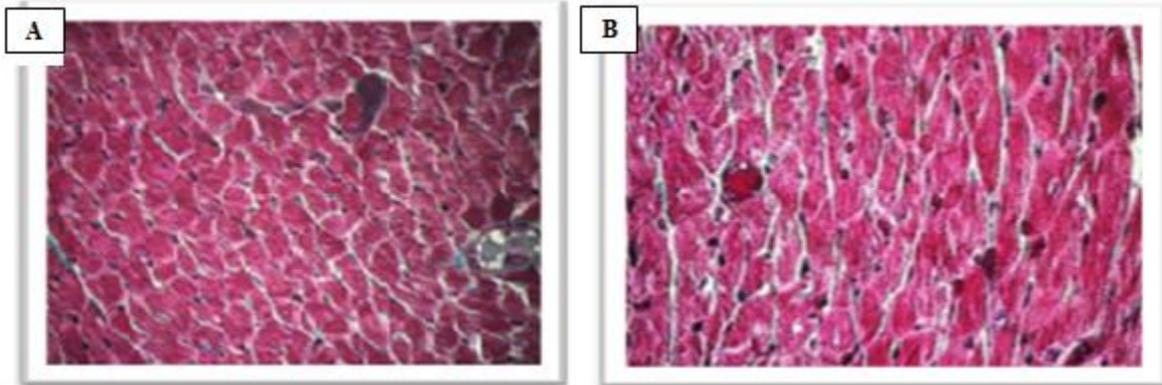


Figure19 :(A,B) : structure de myocarde des rats témoins colorée par e trichrome de masson.

(Gt : ;40x4)

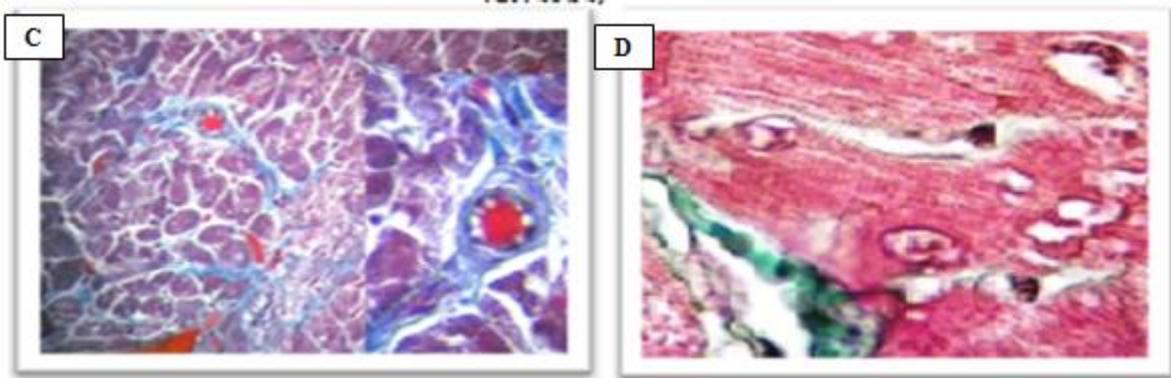


Figure20 :(C,D) : structure de myocarde des rats hyperhomocysteinemiques colorée par le trichrome de masson.

(Gt : ;40x4)

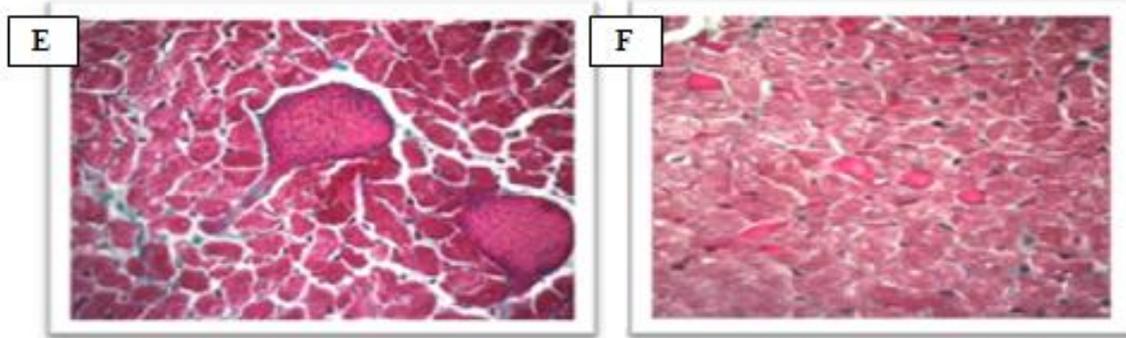


Figure21 :(E,F) : myocarde du rat hyperhomocysteinémique coloré par le trichrome de masson.

(Gt : 10x4 ; 40x4)

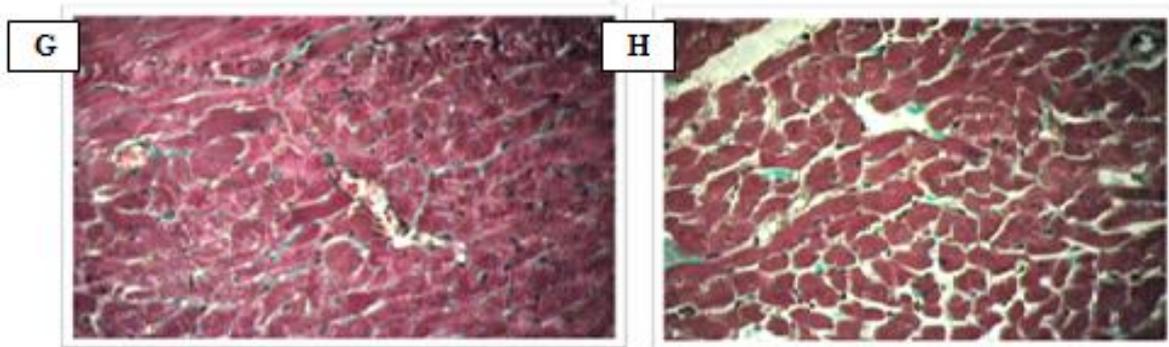


Figure22 :(G,H) : structure du myocarde des rat soumis à la méthionine et au lycopène coloré par le trichrome de masson.

(Gt : ; 40x4)

DISCUSSION

Notre étude analyse :

- 1- les effets d'une hyperhomocysteinémie secondaires provoqués par une surcharge en méthionine, administrée *per os* (gavage) à raison de 500 mg/Kg/jour pendant 3 mois, sur le remodelage de la matrice extracellulaire cardiaque et ses répercussions sur la biochimie plasmatique ainsi que l'histologie cardiaque du rat *Wistar*.
- 2- L'effet préventif du lycopène attribué à son mode d'action, sur les mêmes paramètres, administré par voie orale à raison de 5 mg /Kg de poids corporel /jour pendant 3 mois.

Dans ce présent travail, nous avons testé, chez le rat *Wistar*, une dose de méthionine de 500 mg/ Kg de poids corporel/jour) pendant 3 mois. Plusieurs voies d'administration de la méthionine sont citées dans la littérature :

1- l'injection intra péritonéale : Cette voie a été utilisée dans notre laboratoire par (Zerrouk ,2007) et Raaf (2003).

2- Dans l'aliment : (Sharma *et al.*, 2007).

3-Par Gavage : (Narine *et al.*, 2002).

4- voie orale *per os* : mélangé avec une boisson (Smolders *et al.*, 2004) , par les membres de l'équipe de laboratoire Biochimie et remodelage de la Matrice extracellulaire USTHB (Othmani, 2007 ; Taghli, 2010 Goul, 2009 ; Hamdis, 2011) et pour notre part, nous avons opté pour une administration de méthionine afin d'induire un état d'hyperhomocystéinémie.

Les *pesées hebdomadaires* que nous avons effectuées indiquent un gain de poids corporel plus important. Ce gain est de 22% et 16% chez les rats témoins du lot 2 et lot 1 respectivement par rapport à celui enregistré chez les rats des autres lots soumis à une surcharge de méthionine à savoir, le lot 3 et le lot 5 qui est de 12% ; Des expérimentations réalisées sur le rat *Wistar* ne rapportent aucun changement du poids corporel chez le rat *Wistar* (Joseph *et al.*, 2003 ; Ghoul, 2009). Une augmentation très significative, au contraire, a été notée chez la lapine non-gestante par Othmani (2007). D'autres chercheurs comme Zhou *et al.* (2001), Toren *et al* (2003), Zerrouk (2007) ont noté une diminution du poids corporel respectivement chez la souris et le rat des sables *Psammomys obesus*.

le plus faible gain de poids a été enregistré chez les rats du lot 4, rats ayant reçu quotidiennement une dose de lycopène. Le même résultat a été trouvé par Jonker *et al.*,

(2003) ou, ils ont enregistré une évolution non significative du poids corporel des rats à des différentes doses de lycopène.

L'administration de la méthionine a engendré une augmentation de l'homocystéinémie par altération des voies de trans-sulfuration et de méthylation conduisant à un état d'hyperhomocystéinémie (**Refsum et Ueland, 1990**) que nous avons observé après 1 mois, chez tous les rats expérimentés lot 3 et jusqu'à la fin du traitement. Un résultat similaire est observé par **Zhou et al. (2001)** et **Sharma et al., (2007)**. Nos résultats confirment les travaux de **Hamdis (2011)**, **Goul (2009)** et **Taghli (2010)** qui travaillaient sur les différents modèles utilisés et les différentes doses de méthionine administrées. Les rats du lot 5, au-delà de T1 le taux d'homocystéine a subi une diminution hautement significative ($P < 0,0001$) enregistrée à T2 et T3 et cela correspond aux résultats de **Paran et Engelhard (2001)** qui ont rapporté que la supplémentation en lycopène provoque la réduction des marqueurs du stress oxydatifs tels que l'homocystéine chez les patients hypertendus. Le lycopène représente l'un des principaux caroténoïdes de notre alimentation et il est stocké physiologiquement au niveau des tissus. Des études ont suggéré qu'il était spécifiquement et individuellement liés à une diminution des pathologies cardiovasculaires et de ses complications.

Dans notre étude nous avons aussi procédé au dosage du cholestérol total plasmatique, il apparaît que ce paramètre évolue de la même manière que l'homocystéinémie. Cependant, la cholestérolémie des rats témoins est inférieure de celle enregistrée chez ceux du groupe MET lot 3 lesquels possèdent une cholestérolémie plus élevée que celle des rats du lot 5 soumis à la méthionine et au lycopène.

Ce résultat ne rejoint pas les travaux de **Fernane (2009)** qui a noté une diminution de la concentration plasmatique en cholestérol. Cependant, **Koyama (1995)** en utilisant une alimentation surchargée en 3% de méthionine a observé une augmentation. **Sharma et al. (2007)**, **Gong et al. (2008)**, **Velez-Carrasco (2008)**, **Obeid et Herrman (2009)** aussi ont enregistré une élévation du cholestérol total plasmatique. En injectant la SAM par voie intra-gastrique à des rats Sprague-Dawley, **Zuojiang et al. (2008)**, ces chercheurs ont obtenu les mêmes résultats.

Alors que **Borsheim et al. (2009)** ont enregistré une diminution de ce paramètre chez des patients âgés nourris au régime supplémenté en acides aminés incluant la méthionine. La surcharge en méthionine pendant un mois, a provoqué une augmentation très significative ($p < 0,001$) de la cholestérolémie chez les rats de lot 3. Le même résultat est observé après trois

mois de traitement. Une augmentation significative est également notée chez les rats du lot 5 mais juste pour le T1. Ces résultats rejoignent ceux de Poole *et al.* (1967). Un résultat identique a été observé *in vitro*, au niveau des cellules hépatiques des rats Sprague-Dawley par **Hirche *et al.*, (2006)**. Par contre **Raaf (2003)** et **Ghoul (2009)** ont observé chez le rat Wistar de légères fluctuations de la cholestérolémie à des doses de méthionine plus faibles (70 et 200 mg/Kg p. c /jour). Des résultats indiquent que l'homocystéine provoque un stress oxydatif par la génération de ROS. Ces derniers vont diminuer la biodisponibilité du monoxyde d'azote, altérer l'expression des gènes et augmenter le stress du réticulum endoplasmique en activant la synthèse du cholestérol (Werstuck *et al.*, 2001). Selon plusieurs auteurs (**Packart *et al.*, 1993 ; Skin et Osborne., 2003 ; Lopez *et al.*, 2007**), l'hyperhomocystéinémie augmenterait la cholestérolémie en agissant sur l'expression hépatique des récepteurs LDL et des ARNm codant pour la HMG CoA réductase, sur la lipoprotéine lipase et la lipase hépatique.

A la suite de l'augmentation enregistrée chez les rats du lot5, a T2, le taux de cholestérol a diminué (diminution non significative) cette diminution est devenue significative a T3. la concentration plasmatique de cholestérol total est réduit à cause d'une supplémentation en lycopène (**Oshima *et al.*,1997**).le lycopène a été également montré qu'il agit comme un agent hypocholestérolémiant en inhibant la HMG-CoA (3 -hydroxy-méthylglutaryl-coenzyme A- réductase) (**Fuhrmann, 1997 ; Rao et Shen (2002) et Jonker, (2003)**) sont en accord avec ce résultat .

Toutefois les approches préventives ne doivent pas être négligées, d'autant que plusieurs études épidémiologiques ont mises en évidence une corrélation entre consommation en caroténoïdes (notamment lycopène) et la diminution du risque de maladies cardiovasculaires selon **Willcox *et al.*, (2008)**.

La *triglycéridémie* s'avère perturbée au bout d'un mois de supplémentation en méthionine , leur impact dans l'incidence des maladies coronariennes à longtemps fait l'objet d'un intense débat. Bien que durant cette dernière décennie son importance comme valeur pronostique à gagner du terrain et est devenue une évidence et cela grâce à de multiples études dont la méta-analyse de 17 essais prospectifs, qui a indiqué l'hypertriglycéridémie comme facteur de risque indépendant des maladies cardiovasculaires (**Hokanson et Austin, 1996**).

L'étude PROCAM a montré une relation significative entre la triglycéridémie et les maladies coronariennes indépendamment de la concentration du ratio (LDLc/HDLc) (**Assmann *et al.*, 1996**). Les TG ont aussi été associés aux maladies coronariennes indépendamment du cholestérol total et du HDLc dans l'étude Caerphilly Heart Diseases (CHAD) (**Yamell *et al.*, 2001**).

Une légère augmentation plus importante et plus *significative* ($p < 0.01$) est enregistrée chez les rats hyperhomocystéinémiques du lot 3 et 5, ces résultats rejoignent en partie les résultats mentionnés par Gong *et al.* (2008) qui ont trouvé une augmentation de ce paramètre chez le rat *wistar* soumis à la Met. L'introduction de la SAM par voie gastrique à des rats sprague-dawley a conduit à une augmentation des TG plasmatiques et hépatiques avec développement de la stéatose hépatique (**Zuojiong *et al.*, 2008**).

Alors que Fernane (2009), Taghli (2010), Ghoul (2009), Hamdis (2011) et sur le lapin et le rat respectivement ont enregistré des fluctuations pour le lot Met, Par contre (Borsheim *et al.* (2009), ils ont noté une diminution du taux des TG sous l'effet de la Met.

Ji et Kaplowitz, (2003) ont montré que l'hyperhomocystéinémie provoque un stress oxydatif du RE altérant le métabolisme hépatocytaire des lipides en activant une famille de protéines du RE, les SREBPs (sterol regulatory element binding proteins) responsables du contrôle de l'expression des gènes nécessaires pour la biosynthèse des triglycérides, des acides gras et du cholestérol.

chez les rats de lot 5 en fin d'expérimentation, les valeurs de la triglyceridémie diminuent pour se rapprocher de celle des témoins, cela peut être expliqué par le rôle et mode d'action du lycopène qui a abaissé le taux de TG, ces résultats sont en accord avec les résultats de Bahcecioglu *et al.*, (2010) qui ont enregistré une diminution non significative de $(189,5 \pm 93,7 \text{ (mg/dL)})$ vs $157,3 \pm 56,8 \text{ (mg/dL)}$ chez les rats qui ont reçu une dose de lycopène de 2mg/Kg poids corporel et une diminution peu significative $(157,3 \pm 56,8 \text{ (mg/dL)})$ vs $130,9 \pm 33,3 \text{ (mg/dL)}$ chez les rats ayant reçu une dose de 4mg/Kg de poids corporel.

Deux « anciens » marqueurs de risque cardiovasculaire ont également été dosés, ainsi, nous avons noté une baisse des HDLc et une *augmentation* pendant les 3 mois de traitement des LDLc chez les rats du lot 3 soumis à la méthionine. ces évolutions sont considérées comme les principaux facteurs intervenant dans l'apparition de maladies cardiovasculaires (the expert panel (CNCEP, 2002 ; Assmann *et al.*, 2002) et d'autant plus que ces variations sont associées à une augmentation du cholestérol total et des TG. Nos résultats sont en accord avec ceux de Hidioglou *et al.* (2004) et de Obeid et Herrmann. (2009).

Clay (2006) rapporte qu'une augmentation du cholestérol total et des LDLc est associée à une augmentation du risque coronarien.

La fraction HDL connue pour ses propriétés protectrices anti oxydantes, Jakubowski *et al.* (2000) a montré que les HDL en culture éliminent 80% de l'homocystéine-thiolactone (forme toxique), prévenant ainsi leur accumulation, cette propriété est assurée par la paraxonase qui lie les HDL et qui transforme l'Hcy- thiolactone en Hcy + thiolactone. De même Kontush *et al.* (2003) ont rappelé leur effet anti oxydant, qui se traduit par l'élimination des TBARS générés par les LDLox (fraction athérogène). Ferretti *et al.* (2006) ont montré que l'Hhcy induit des modifications des HDL par le biais de l'homocystéine-thiolactone, ces modifications induisent la perte de leurs propriétés anti inflammatoires et cytoprotectrices, ce qui pourrait jouer un rôle dans la pathogenèse de l'athérosclérose.

(TAGHLIT, 2010) a trouvé que Les HDL-c des rats rendus hyperhomocysteinémiques, présente une diminution peu significative par contre il a enregistré une forte augmentation du LDL-c. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Borsheim *et al.* (2009), Obeid et Herrmann (2009). Par ailleurs, Namekata *et al.* (2004) ont montré que chez des souris CBS^{-/-}/apoE^{-/-}, l'hyperhomocystéinémie diminue le taux des HDL-c ce qui pourrait participer au rétrocontrôle des éléments clés (Apo AI, LCAT, ABCA-1) de la production de HDL-c et qui serait à l'origine de l'accumulation lipidique.

D'après Clay (2006), une augmentation du cholestérol total et des LDL-C est associée à une augmentation du risque coronarien. Wanda *et al.* (2008) ont montré chez des souris mutantes MTHFR homozygotes avec hyperhomocystéinémie présentent des taux de HDL-C plus faibles que ceux de souris normales.

Un résultat similaire est rapporté par Liao *et al.* (2006) qui montrent une diminution des particules HDL chez les souris CBS^{-/-}/apoE^{-/-}. Une diminution de la fraction HDL et une augmentation de la fraction LDL est rapportée par Zerrouk, (2007)

Cette modification de l'équilibre HDL-LDL et l'apparition de la lipoprotéine est également observée chez le Lapin hyperhomocystéinémique femelle (Othmani, 2007) et male (Fernane 2009). Ces variations lipidiques plasmatiques pourraient, dans une étude ultérieure, être complétées et corrélées aux éventuelles variations des lipides tissulaires cardiaques (Demuth *et al.*, 2000).

Mais chez les rats du lot 5, soumis à la méthionine et au lycopène en même temps l'augmentation du taux des HDL et la diminution du taux des LDL sont peu significatives par rapport à celle qui sont enregistrées chez les rats du lot 3, ainsi ces résultats ont changé de T2 jusqu'à la fin de l'expérimentation ou on a observé une diminution *peu significative* du taux des LDL suite à son augmentation à T1, on a remarqué aussi une augmentation *peu significative* du taux des HDL suite à sa diminution à T1 même résultat obtenu par Eid *et al.* (2003) ou ils ont enregistré une augmentation de la concentration de HDL avec la supplémentation en lycopène alimentaire. Selon Kucuk O. *et al.* (2001) l'oxydation des LDL cholestérol diminuait avec l'augmentation des niveaux sériques de lycopène. L'oxydation des LDL jouant un rôle dans la formation des cellules spumeuses et le développement de l'athérosclérose, ces résultats laissent penser qu'une augmentation de la consommation de lycopène peut avoir une action protectrice dans la prévention des maladies cardiovasculaires et contribuer à la santé cardiovasculaire. La consommation du lycopène améliore le statut antioxydant et inhibe la peroxydation lipidique, prévient les dommages oxydatifs des biomolécules comme les lipides, le cholestérol, les protéines et l'ADN (Markovits *et al.*, 2009 ; Southon, 2001).

Compte-tenu de ses propriétés antioxydantes, on a pensé que le lycopène pouvait protéger les vaisseaux sanguins en empêchant l'oxydation des LDL (« mauvais cholestérol »), un phénomène qui joue un rôle clé dans l'athérosclérose (Rao, 2002). Puisqu'il existe un lien entre l'oxydation des LDL et le développement de l'athérosclérose, il a été postulé que le rôle préventif des caroténoïdes vis-à-vis des MCV était lié à leur capacité anti-oxydante. En effet, une fois oxydées, les LDL sont préférentiellement captées par des récepteurs macrophagiques avides de ces lipoprotéines transformées. Un environnement pro-inflammatoire et pro-coagulant va être généré autour des macrophages chargés de LDL oxydées favorisant ainsi le développement de la plaque d'athérosclérose. D'autres études d'intervention nutritionnelles (Agarwal *et al.*, 1998) utilisant le lycopène suggèrent une amélioration à court terme de l'oxydation des LDL. En effet, il a été montré qu'une particule de LDL ne contient en moyenne que 0,9 molécules de lycopène (Milde *et al.*, 2007 ; Romanchik *et al.*, 1995).

on a enregistré une légère augmentation (non significative) de l'urémie sous l'effet de l'administration de méthionine chez les rats du lot 3 durant les 3 mois de traitement. Par contre, Othmani (2007) a constaté une diminution chez la lapine soumise à la méthionine. Taghli (2010) a remarqué qu'elle semble être perturbée. Cependant, Rolland *et al.*, (1995),

Ungvari et al. (1999) ont rapporté un taux maintenu chez des rats soumis à un régime enrichi en méthionine.

Cette augmentation a été aussi enregistrée chez les rats du lot 5 mais à T2 et T3 le taux a diminué légèrement résultat non significatif ($p > 0,05$) ce qui fait penser à l'effet antioxydant de la supplémentation au lycopène des rats du lot 5 et cela a été montré par **(Jonker et al., 2003)** qui a observé une diminution légère et non significative chez 2 groupes des rats *wistar* gavés par le lycopène à des doses 0,25% et 0,50 % respectivement, par contre **Upritchard et al., (2000)** ont considéré que l'utilisation de jus de tomate (apport de lycopène) semble sans efficacité chez les patients urémiques.

Par ailleurs, nous avons aussi enregistré une augmentation significative d'ASAT plasmatique chez les rats du lot 3 ce qui est en accord avec les résultats obtenus par **Fernane (2008)** qui a trouvé augmentation non significative de l'ASAT au niveau cardiaque du lapin domestique mâle et une diminution non significative de l'activité de l'ALAT.

Ces résultats même s'ils n'écartent pas une possible atteinte cardiaque ils sont plus en faveur d'une atteinte hépatique. En effet, une élévation modérée des transaminases (2 à 3N) est parfois le reflet d'une stéato-hépatite ou d'une stéato-fibrose (Stéphane, 1998).

En effet, l'augmentation des ASAT seule, non associée à une augmentation de l'ALAT, est liée à l'étendue de la gravité de la perfusion myocardique, et l'étendue de l'éjection de ventricule gauche du cœur **Karacalioglu et al. (2007)**. Nos résultats semblent être en accord avec ceux de **Gaul et al. (1974)** et **Mudd et al. (1989)** qui ont montré que l'hyperhomocystéinémie pouvait provoquer une atteinte hépatique. Mais ces résultats sont en désaccord avec ceux de Babcock (1968) qui a montré une diminution d'activité de l'ASAT chez les rats présentant une déficience en vitamine B₆.

Cependant **Matté et al (2009)**, **Song et al. (2009)** ont trouvé que l'activité des aminotransférases n'est pas altérée par l'hyperhomocystéinémie.

Une augmentation aussi a été enregistrée chez les rats de lot 5, traités avec une dose de 5mg de lycopène par kg de poids corporel à un mois de traitement à T1 par contre à T2 et T3, on a enregistré une réduction significative de l'activité enzymatique de l'ASAT et ALAT mais toujours une augmentation par rapport au lot témoin nos résultats sont en accord avec les résultats de **(Bahcecioglu et al., 2010)** qui ont enregistré une diminution significative et peu significative de l'activité sérique des ASAT et des ALAT respectivement chez les rats du groupe lycopène à 2mg /Kg poids corporel. Cependant, l'augmentation de l'activité de

ces enzymes sériques a été nettement réduite en supplementant avec le lycopène à 4 mg /Kg poids corporel. Même résultat est enregistré par Sipidita (2008).

Nous avons aussi effectué le dosage de la CK-MB plasmatique, bio-marqueur cellulaire de lésions myocardiques (Zerizer *et al.*, 1998). Cette enzyme spécifique est libérés du cœur dans la circulation sanguine lors d'un dommage myocardique, la membrane cellulaire devient perméables ou rompe et entraînant la fuite des enzymes dans le sérum (Arya *et al.*, 2006). Nos résultats montrent une augmentation significative de ce marqueur en fin d'expérimentation chez nos animaux hyperhomocystéinémiques. Ces résultats biochimiques confirment les altérations que nous avons observées au niveau tissulaire. Chez des rats traités à la farmorubicine (induisant à fortes doses une insuffisance cardiaque), Przybyszewski et Widel (1996), ont remarqué que la CK-MB a augmenté d'un facteur, indiquant la présence au niveau tissulaire d'altérations cardiaques. Cette augmentation de la CK-MB plasmatique, a également été notée par Valjevac *et al.* (2009) chez des patients après infarctus du myocarde. Ce bio-marqueur reflète une lésion du myocarde mais sans indication de son mécanisme (Bertinchant *et al.*, 2003). Selon Przybyszewski et Widel (1996).

Le même résultat a été enregistré chez les rats du lot 5 mais avec une augmentation non significatif à T1, à partir de T2 le taux de la CKMB a diminué jusqu'à la fin du traitement ces résultats sont en accord avec les résultats de Pankaj *et al* (2006).

Même résultat a été enregistré par Aman *et al* (2010) qui ont montré une protection peut être dû à l'effet de la vitamine E en combinaison avec du lycopène sur le myocarde, ce qui a réduit l'étendue des dégâts myocardique induite par Isoprotérénol.

Environ la moitié des décès sont dus à des maladies cardio-vasculaires ou à leurs complications. L'homocystéine est un produit intermédiaire soufré du métabolisme de la méthionine, un acide aminé essentiel. A partir d'un taux d'homocystéine de 10 $\mu\text{mol/l}$ environ, on constate une augmentation du risque selon une relation dose-effet linéaire sans seuil spécifique. Des facteurs de risque supplémentaires (tabagisme, hypertension artérielle, diabète et hyperlipidémie) peuvent majorer le risque global de façon additive ou de façon synergique et hyper proportionnelle par interaction avec l'homocystéine. L'Hyperhomocystéinémie entraîne, en plus des modifications de la morphologie vasculaire, une perte de la fonction endothéliale anti thrombotique et l'induction d'un milieu pro coagulant. La plupart des altérations connues sont attribuées à un stress oxydatif reposant sur l'homocystéine. L'altération de la matrice extracellulaire aboutit à une altération des propriétés mécaniques de la paroi artérielle ainsi l'altération du métabolisme lipidique conduit à l'accélération du développement de l'athérosclérose, qui est aussi un facteur de risque

majeur de l'infarctus du myocarde. L'accumulation du cholestérol circulant au niveaux des tissus du myocarde est aussi associé à ces mêmes maladies.

Cette étude montre que l'administration de la méthionine a augmentée de façon significative la concentration plasmatique de l'homocystéine (Hcy) comparé aux rats du lot témoins et atteint (287%)% au bout de trois mois de supplémentation. Le taux de cholestérol, de triglycérides et de CKMB ont aussi atteint respectivement un taux de (22%, 53% et 39%) à la fin de l'expérimentation.

Le lycopène est un antioxydant naturel, retrouvé abondamment dans la tomate et présente une capacité antioxydante inégalé (**D. Heber, and Q.Y. Lu, 2002 ; A.V.Rao, A. V. 2002**). Il préserve les cellules et les tissus des radicaux libres (**A.V.Rao.and al. 2006 ;W.Stahl, 2006**).

Selon (**Markovits et al., (2009)**) la consommation du lycopène améliore le statut antioxydant et inhibe la peroxydation lipidique, prévient les dommages oxydatif des biomolécules comme les lipides, le cholestérol, les protéines et L'ADN (**S. Southon, 2001**) (**Markovits et al.,2009**). Nos résultats sont conformes à la littérature. Le prétraitement au lycopène à réduit les paramètres étudiés à savoir l'homocystéine, le cholestérol, les triglycérides et la CKMB, respectivement de (41%, -2%, 16% et 9%).

L'étude histopathologique à révélée que l'Hyperhomocystéinémie est responsable des lésions vasculaires par cytotoxicité endothéliale liée au stress oxydatif avec la formation de radicaux libres : desquamation de l'endothélium, désintégration des fibres élastiques, développement des cellules spumeuses, dégradation de la membrane basale, peroxydation lipidique, prolifération des cellules musculaires, diminution de la biodisponibilité du monoxyde d'azote et inhibition du glutathion peroxydase.

Par contre le prétraitement au lycopène qui est un antioxydant naturel, retrouvé abondamment dans la tomate et présente une capacité antioxydante inégalée. Il préserve les cellules et les tissus des radicaux libres. Des études épidémiologiques ont démontrés que La consommation du lycopène améliore le statut antioxydant et inhibe la peroxydation lipidique, prévient les dommages oxydatifs des biomolécules comme les lipides, le cholestérol, les protéines et l'ADN. Nos résultats sont conformes à la littérature. Le prétraitement au lycopène a conduit à la réduction des altérations matricielles et les micrographies le montrent clairement.

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

En conclusion, l'administration *per os* de méthionine pendant 3 mois à doses élevée de 500 mg/Kg de poids corporel/jour) engendre chez le Rat Wistar une augmentation de l'homocystéinémie.

Cette hyperhomocystéinémie est responsable :

- D'une augmentation du poids corporel
- Des perturbations des lipides plasmatiques, à savoir le cholestérol total, les LDLc et les HDLc.
- Des modifications au niveau des transaminases (ALAT et ASAT).
- D'altérations tissulaires cardiaques aussi bien au niveau matriciel qu'au niveau cellulaire et vasculaire.

L'étude histopathologique a révélée que l'hyperhomocystéinémie est responsable des lésions vasculaires par cytotoxicité endothéliale liée au stress oxydatif avec la formation de radicaux libres, la diminution de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO) et l'inhibition du glutathion peroxydase. Ainsi l'impact de l'hyperhomocystéinémie est plus marqué **au niveau tissulaire** essentiellement au niveau de la MEC. Au niveau vasculaire, diverses altérations ont été observées (accumulation péri-vasculaire de collagènes, dilatation des capillaires).

Dans les précédents travaux de l'équipe, ces altérations sont observées au niveau plasmatique et tissulaire, chez le Rat *Wistar* après 10 et 6 mois d'expérimentation (administration de méthionine à raison de 70 mg/Kg p. c/jour et 200 mg /Kg de p. c /jour respectivement) et chez le rat des sables (70 mg/Kg p. c /jour) et chez le lapin (500 mg ; 1,5g de méthionine).

Par contre le prétraitement au lycopène à raison de 5mg/kg.de poids corporel a permis d'atténuer toutes les altérations aussi bien au niveau biochimiques et plasmatiques à savoir

- La réduction de l'homocystéine, des LDL, des transaminases.
- L'augmentation des HDL.

qu'au niveau cellulaire et vasculaire.

Le lycopène qui est un antioxydant naturel, présente une capacité antioxydante inégalée. Il préserve les cellules et les tissus des radicaux libres (**Rao et al., 2006 ; Stahl et al., 2006**). La consommation du lycopène améliore le statut antioxydant et inhibe la peroxydation lipidique, prévient les dommages oxydatifs des biomolécules comme les lipides, le cholestérol, les protéines et l'ADN (**Markovits et al., 2009 ; Southon, 2001**). Nos résultats sont conformes à la littérature.

Ce travail mériterait d'être complété par :

- L'étude du remodelage tissulaire par la quantification des MMPs par zymographie,
- La détermination de la balance oxydants/antioxydants (NO, Catalase et les Tbars)
- La détermination des statuts :
 - Inflammatoire (IL-8), CRP et fibrinogène.
 - La quantification de la troponine cardiaque.

***RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES***

- **Agarwal S.; Rao A.V. (2000).** Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Can. Med. Am J*; **163**: 734- 739.
- **Agarwal, S. and A. V. Rao (1998).** "Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study." *Lipids*; **33**(10): 981-4.
- **Alastair B Ross.,Le Thuy Vuong.,Jon Ruckle.,Hans Arno Synal.,Tim Schulze-Ko'nig, Karin Wertz., Robert Ru'mbeli.,Rosa G Liberman.,Paul L Skipper., Steven R Tannenbaum.,Alexandre Bourgeois.,Philippe A Guy.,Marc Enslin,Inge Lise F Nielsen.,Sunil Kochhar.,Myriam Richelle.,Laurent B Fay.,Gary Williamson .(2012).** Lycopene bioavailability and metabolism in humans: an accelerator mass spectrometry study. *Am J Clin Nutr*; **93**:(12) 63–73.
- **Aman Upaganlawar , Hardik Gandhi , R Balaraman.(2010).** Effet de la vitamine E seule ou en combinaison avec du lycopène sur les altérations biochimiques et histopathologiques dans induite par l'isoprotérénol infarctus du myocarde chez le rat ; **1** : 24-31.
- **Arya DS, P Bansal, SK Ojha, Nandave M, Mohanty I, SK Gupta.(2006).**Pyruvate fournir cardioprotection dans le modèle expérimental de lésions d'ischémie-reperfusion myocardique. *Life Sci*; **79**:38-4.
- **Assmann G., Schulte H., von Eckardstein A. (1996).** Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am J Cardiol*; **77**: 1179–1184
- **Austin RC., Lentz SR., Werstuck GH. (2004).** Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Diff*; **11**: S56–S64.
- **Babcock M J. (1958).** Serum glutamic-oxalacetic transaminase activity of vitamin B6-deficiency rats; *Jn.nutrition.org*.
- **Bahcecioglu I.H., Nalan Kuzu.,KeremMetin., Ibrahim Hanifi Ozercan., Bilal Ust'undag., KazimSahin.and Omer Kucuk.(2010).** Lycopene Prevents Development of Steatohepatitis in Experimental Nonalcoholic SteatohepatitisModel Induced by High-Fat Diet; Article ID 262179:8.
- **Bernard O, Alvarez F, Brunelle F, Hadchouel P, Alagille D.(1985).** portal cardiovascular risk factor?, *Cleve Clin J Med*; **71**: 729-734.
- **Bertinchant JP., Polge A., Juan JM., Olivia-Lauraire MC., Giuliani I.,Marty-Double C., Burdy JY., Fabbro-Peray P., Laprade M., Bali JP.,Granier C., De la Coussaye JE. ,Dauzat M. (2003).** Evaluation of cardiac troponin I and T levels as markers of myocardial damage in doxorubicin-induced cardiomyopathy rats, and their relationship with echocardiographic and histologic findings. *Clin. Chem. Acta* ; **329** : 39-51.
- **Bettahar-Lebugle K., Feugeas O.,Witteimer C.,Ohl J.,Rongières C.,Nisand I. (2002).** Évolution de l'homocystéine lors d'un cycle d'induction ovarienne pour FIV ou ICS. *Gynécol Obstét Fertil*; **30**:121-8.
- **Bignotto L., J. Rocha. (2009).**"Anti-inflammatory effect of lycopene on carrageenaninduced paw oedema and hepatic ischaemia-reperfusion in the rat." *Br J Nutr* ;**102**(1):126-33.
- **Boger, R. H., Sullivan, L. M., Schwedhelm, E., Wang, T. J., Maas, R., Benjamin, E. J.,Schulze, F., Xanthakis, V., Benndorf, R. A. and Vasani, R. S.(2009).** Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community,*Circulation*; **119**: 1592-1600.
- **Borel P. J. ; Draï H. ; Faure V., Fayol C. ; Galabert M. ; Laromiguière G.(2005).**Données récentes sur l'absorption et le catabolisme des caroténoïdes « Caroténoïdes » de la Société française de biologie clinique.
- **Børshheim Elisabet, Quynh-Uyen T. Bui, Sandrine Tissier, Melanie G. Cree, Ola Rønsen, Beatrice Morio, Arny A. Ferrando, Hisamine Kobayashi, Bradley R.Newcomer, and Robert R. Wolfe. (2009).** Amino acid supplementation decreases plasma and liver triacylglycerols in elderly ; **(25)**:281–288.

- **Buccolo G et al.** Quantificative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin Chem* 1973; 19 (5): 476-482.
- **Canene-Adams K. (2005).** *J. Nutr*; **135**: 1226-1230.
- **Carriere A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona MC., Penicaud L. et Casteilla L. (2006).** Physiological and physiopathological consequences of mitochondrial reactive oxygen species. *Med Sci (Paris)*; **22**:47-53
- **Casas, J. P., Bautista, L. E., Smeeth, L., Sharma, P. and Hingorani, A.D. (2005).** Homocysteine and stroke: evidence on a causal link from mendelian randomisation, *The Lancet*; **365**: 224-232.
- **Caussé E. (2008).** Intérêt du dosage de l'homocystéine en médecine générale.
- **Chen L., Stacewicz-Sapuntzakis M., Duncan C. and Sharifi R. (2001).** Oxidative DNA damage in prostate cancer patients consuming tomato sauce-based entrees as a whole-food intervention, *J. Natl. Cancer. Inst.*; **93**: 1872-1879.
- **Chen M., Nuttall KL. (1999).** Identifying delayed separation in plasma homocystéine specimens. *Ann Clin Lab Sci* ; **29** : 316-9.
- **Claude Gagnon. (2006).** Lycopène : le pigment antioxydant.
- **Clay .FS. (2006).** Insuline resistance and atherosclerosis. *J. Clinical Investigation* ; **116** : 1813-1822 .
- **Clinton SK. (1998).** Lycopene Chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr. Rev*; **56** (2): 35-51.
- **David. J.L., Louvain Med. (2000).** L'hyperhomocystéinémie facteur du risque thrombo-embolique veineux ; **119**: 191-196.
- **De Bree A, Verschuren WM, Kromhout D, Kluijtmans LA, Blom HJ. (2002).** Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev*; **54**: 599-618.
- **De jaegera .C, N. Fraoucenea., E. Voronskaa., P. Cherinb. (2010).** Role of homocysteine in pathology; **2**: 75-76.
- **De jaegera. C, N. Fraoucenea, E. Voronskaa, P. Cherinb Médecine & Longévit. (2010).** Rôle de l'homocystéine en pathologie Role of homocysteine in pathology ; **2** : 75—76
- **Demuth K. ; Drunat S. ; Paul J.L. ; Moatti N. (2000).** Hyperhomocystéinémie et athérosclérose. *M/S* ; **16** : 1081-90
- **Durand, P., Prost, M., Loreau, N., Lussier-Cacan, S. and Blache, D. (2001).** Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease, *Lab Invest*; **81**: 645-672.
- **Edmond R. (2006).** La tomate serait-elle un aliment fonctionnel. *Equation Nutrition* ; **55**(5) : 4.
- **Eid, Y.Z., Ohtsuka, A., Hayashi, K. (2003).** Tea polyphenols reduce glucocorticoid-induced growth inhibition and oxidative stress in broiler chickens. *Br. Poult. Sci*; **44**: 127–132.
- **Eustache I. (2011).** Cholestérol : médicaments ou aliments ? *Sources : Ried K. et coll Maturitas, Apr*; **68**(4): 299-310.
- **Faure H. Shi J. Le Maguer, M. (2000).** Lycopene in tomatoes : Chemical and physical properties affected by food processing . *Crit. Rev. food. Sci. Nutr*; **40**(1): 1-8.
- **Fernane. (2009).** Homocystéine, stress oxydatif et remodelage cardiovasculaire chez le lapin domestique mâle. Thèse de magister. USTHB. Alger. 131p.
- **Ferretti G, bacchetti T., Nègre-Salvayre A., Salvayre R., Dousset N., Curatola G. (2006).** Structural modifications of HDL and functional consequences. *Atheroscl*; **184**: 1-7.
- **Fossati P and Principe L. (1982).** Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin chem*; **28**: 2077-2080.
- **Franceschi S., Bidoli E. and Lavecchia C. (1994).** Tomatoes and risk of digestive-tract cancers. *Int. J. Cancer*; **59**: 181-184.
- **Friederwald W.T, Levy, R. I. & Fredrickson, D. S. (1972).** *Clin. Chem*; **18**: 499-502.

- **FUHRAMN B, ELIS A, AVIRAM M.(1997).** hypocholesterolemic effect of lycopene and B-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophage. *Biochem Biophys Res Commun*; **233**: 658-662.
- **Gabe M. (1968).** Techniques histologique. *Ed. Masson et Cie, Paris.*
- **Ghoul A. (2009).** Hyperhomocystéinémie et remodelage de la matrice extracellulaire testiculaire, épидидymaire et vésiculaire chez le rat Wistar, *Rattus norvegicus*. Thèse de magister. USTHB. Alger. 94p.
- **Gibault T. (2006).** lycopène ? Peut être tomate ? sans aucun doute équation nutrition ; **55(5) :2.**
- **Gong Z., Yan S., Zhang P., Huang Y., Wang L. (2008).** Effects of Sadenosylmethionine on liver methionine metabolism and steatosis with ethanolinduced liver injury in rats. *Hepatol Int*; **2**:346-523.
- **Graziano. Riccioni, B. Mancini, E. Di ilio, T. Bucciarelli, N. D'orazio. (2008).** Protective effect of lycopene incardiovascular disease; **12**: 183-190.
- **Guilland JC.,Favier A., PotierdeCourcy G., Galan P., Hercberg S. (2003).** L'hyperhomocystéinémie: facteur de risque cardiovasculaire ou simple marqueur? *Pathologie Biologie* ; **51**:101–110.
- **Guilliams TG.(2004).** Homocysteine – A Risk Factor for Vascular Diseases: Guidelines for the Clinical Practice. *The Journal of the American Nutraceutical Association*; **7**: 11-14.
- **Hamdis N. (2011).** Remodelage de la matrice extracellulaire cardiaque induit par différentes doses de méthionine chez le Rat Wistar, *Rattus norvegicus*. Thèse de magister. USTHB. Alger. P 56.
- **Heber, D., and Lu Q.Y. (2002).** Overview of mechanisms of action of lycopene, *Experimental Biology andMedicine* ; **227(10)**: 920–923.
- **Hermann W, Schorr H, Obeid R, Makowki J, Brian F, Kuhlmann Mk.(2005).**Disturbed homocysteine and methionine cycle intermediates.
- **Hidiroglou N., Gilani G., Long L., Zhao X., Madere R., Cockell K., Belonge B., Ratnayake W., Peace R. (2004).** The influence of dietary vitamin E, fat, and methionine on blood cholesterol profile, homocysteine levels, and oxidizability of low density lipoprotein in the gerbil *The Journal of Nutritional Biochemistry*; **15(12)** :730-740.
- **Hirche F.,Schroider A.,Stangl KGI., Ider K. (2006).** Effect of dietary methionine on plasma and liver cholesterol concentration in rats and experimental of hepatics genes involved in cholesterol metabolism. *Brit. J. Nutr.*, **95** : 879-88
- **Ho PI., Ashline D., Dhitavat S., Ortiz D., Collins SC., Shea TB., Rogers E.(2003).** Folate deprivation induces neurodegeneration: roles of oxidative stress and increased homocysteine. *Neurobiol Dis*; **14(1)**:32-42
- **Hokanson JE., Austin MA.(1996).** Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk*; **3**: 213–219.
Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev*; **54**:599-618.
- **Hung C.F.,T.F.Huang. (2008).** "Lycopene inhibits TNF-alpha-induced endothelia hyperhomocysteinemia.*Arterioscl Thromb Vasc Biol*; **19**: 1899–904.
- **Jakubowski H. (2002).** Homocysteine is a protein amino acid in humans. Implications for homocysteine linked disease. *J. Biol. Chem.*, **277**: 30425 – 28.
- **Ji C et Kaplowitz N. (2003).** Betaine decreases hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and liver injury in alcohol-fed mice. *Gastroenterol.*, **124** : 1488-99.
- **Jonathan R Mein.,Fuzhi Lian.,Xiang-Dong Wang.(2012).** Biological activity of lycopene metabolites: implications for cancer. *Nutrition prevention Reviews* ;**66(12)**:667–683.

- **Jonker. D.,a C.F. Kuper,a N. Fraile,b A. Estrella,b .and C. Rodriguez Oteroc.(2003).** Regulatory Toxicology and Pharmacology Ninety-day oral toxicity study of lycopene from *Blakeslea trispora* in rats; **37**:396–406.
- **Joo Y. E., T. Karrasch. (2009).** Tomato lycopene extract prevents lipopolysaccharide-induced NF-kappaB signaling but worsens dextran sulfate sodium-induced colitis in NFkappaBEGFP mice." *PLoS One*; **4**(2): 4562.
- **Kaplan A et al. (1984).** Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton; and Lipids; **437**:1194-1206.
- **Karacalioglu. O., Arslan. Z., Kilic. S., Oztürk. E., Ozguven. M.(2007).** Baseline serum levels of cardiac biomarkers in patients with stable coronary artery disease;**12**(5):533-40, key lessons from epidemiologic studies." *Am J Cardiol* ;**101**(10A): 75-86.
- **Khachik F., Carvalho L., Bernstein PS., Muir GJ., Zhao DY. and Katz NB. (2002).** Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp. Biol Med* ; **227**: 845-851.
- **Khachik F., De Moura, F.F., Zhao, D.Y., Aebischer, C.P., Bernstein,P.S.(2002).** Transformations of selected carotenoids in plasma, liver, and ocular tissues of humans and in nonprimate animal models. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*;**43** (11), 3383–3392.
- **Kontush A, Chantepie S, Chapman M.J. (2003).** Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **23**: 1881.
- **Korytko P.J., Rodvold K.A., Crowell J.A. and Stacewicz-Sapuntzakis M. (2003).** Pharmacokinetics and tissue distribution of orally administered lycopene in male dogs. *J.Nutr*;**133**:2788-2792.
- **Koyama. J. (1995).** The influence of methionine and its metabolites on the progression of atherosclerosis in rabbits. *Nippon Ika Daigaku Zasshi*; **62**(6): 596-604
- **Kucuk O.,(2001).** Randomised clinical trial of lycopene supplementation before radical prostatectomy, *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*; **10**:861-868.
- **Lawrence de Koning A.B., Geoff H. Werstuck, Ji Zhou, Richard C. Austin.(2003).** Hyperhomocysteinemia and its role in the development of atherosclerosis *Clinical Biochemistry*;**36**: 431–441.
- **Lentz, S. R. and Haynes, W. G.(2004).** Homocysteine: is it a clinically important.
- **Levasseur R. (2009).** Tissu osseux et hyperhomocystéinémie. *Revue du Rhumatisme* ; **76** : 390–396.
- **Lhroche MJ. ; Rousselet F. (1990).** Les animaux de laboratoire. *Ed. Masson* ;175 p.
- **Liao D.,Tan H.,Hui R.,Li Z.,Jiang X.,Gaubatz J.,Yang F.,Durante W.,Chan L. Schafer AI.,Pownall HJ.,Yang X,Wang H. (2006).** Hyperhomocysteinemia decreases circulating High-Density Lipoprotein by inhibiting Apolipoprotein A-I Protein synthesis and enhancing HDL Cholesterol clearance. *Circ Res*; **99** : 598-606.
- **Lopez D.,Abisambra Socarrás Jose F., Bedi M., Ness Gene C. (2007).** Activation of the hepatic LDL receptor promoter by thyroid hormone. *Biochim. Biophys. Acta*; **1771**: 1216-25.
- **Luciene de Souza Venâncio .; Roberto Carlos Burini .; Winston Bonetti Yoshida Sharma. (2010).** Le traitement diététique de l'hyperhomocystéinémie dans la maladie artérielle périphérique ; **9**(1).
- **M. Stalder.,P.-Y. Lovey.;E. Dayer.(2007).** Homocystéine et maladie thromboembolique ; **9**(3).
- **Mairesse S.,Drevillon T., Swebel T. A.,Horellou M.H., Conard J., Le Jeune C., Blacher J. (2010).** Homocystéine et maladie veineuse thromboembolique : la fin d'une belle histoire ? *Sang Thrombose Vaisseaux* ; **22** : 144-9.

- **Markovits.N, A. B., Amotz, and Levy Y. (2009).** “The effect of tomatoderived lycopene on low carotenoids and enhanced systemic inflammation and oxidation in severe obesity,” *Israel Medical Association Journal*; **11**(10):598–601.
- **Martoja R., Martoja M. (1967).** Initiation aux techniques de l’histologie animale.
- **Mato JM. ; Lu SC. (2005).** Homocysteine, the Bad Thiol. *Hepatology.*; **41**: 976-979.

- **Mark H. Zuknik , N.A. Nik Norulaini, A.K. Mohd Omar .(2012).** Supercritical carbon dioxide extraction of lycopene; **112**:253–262.
- **Matté. C., Stefanello. FM., Mackedanz. V., Pederzoli. CD., Lamers. ML., Dutra-Filho. CS., Dos Santos. MF., Wyse. AT.(2009).** Homocysteine induces oxidative stress, inflammatory infiltration, fibrosis and reduces glycogen/glycoprotein content in liver of rats. *Int J Dev Neurosci*; **7**(4):337-44.
- **Mccully K S. (2007).** Homocysteine, vitamins, and vascular disease prevention. *Am J Clin Nutr.*, **86**:1563S–1568S.
- **Meiattini F. et al.(1978).** The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. *Clin Chem* ; **24**(12) : 2161-2165.
- **Mihalís I. Panayiotidis.; Sally P. Stabler. ; Robert H. Allen.; Aglaia Pappa.; Carl W.(2009).** Stress oxydatif et les mécanismes de la toxicité environnementale ; 674, *Issue 1-2* : 23-30.
- **Milde, J., E. F. Elstner,.(2007).** "Synergistic effects of phenolics and carotenoids on human low-density lipoprotein oxidation." *Mol Nutr Food Res* ; **51**(8): 956-61.
- **Morris, D.L., and Kritchevsky, Davis, C.E. (1994).** Serum carotenoids and coronary heart disease: the Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial and Follow-up Study. *J Am Med Assoc* ; **272**:1439–1441.
- **Mouchabac S. (2008).** Homocystéine, hyperhomocystéinémie et dépression ; **32** : 9 – 18.
- **Mudd SH, Levy HL, Skovby F. (1989).** Disorders of transsulfationitors. In: Scriver CR, Beadet AL, Sly WS, and Valle D, eds. The metabolic basis for inherited diseases. *New York : McGraw-Hil*;693–734
- **Murray R.,Kaplan A et al.(1984).** Alanine aminotransferase. *Clin Chem The C.V.Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*;1088-1090.
- **Myriam Moussa.,Jean-François Landrier.,Emmanuelle Reboul.,Christine Coméra.,Xavier Collet.,Kati Fröhlich.,Volker Böhm.,Patrick Borel.(2008).** Lycopene Absorption in Human Intestinal Cells and in Mice Involves Scavenger Receptor Class B Type I but Not Niemann-Pick C1-Like 1. *Nutr.* **138**(8) :1432-1436.
- **Namekata K., Enikodo y., IshÛ I., Nagai Y., Harada T., Kimura H. (2004).** Abnormal lipid metabolism in Cystathionine beta-synthase deficient mice, an animal model for hyperhomocysteinemia. *Biol. Chem* ; **279** : 52961-69.
- **Narine F, Narin N, Akcakus M, Ustdai M, Karaküçük I, and Halici C. (2002).** The effect of folic acid, vitamin B₆ and vitamin B₁₂ on the homocysteine levels in rabbits fed by methionine : enriched diets. *Tohoku J. Exp. Med*; **198**: 99-105.
- **Natio H.K.(1984).** Cholesterol. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*;1194-11206 .
- **Ngyue M.L.,Schwartz.S.J.(1999).** lycopene:Chemical and biological properties *Food.Tech*; **53**:38-45.
- **Nikki A. Ford.; John W. Erdman. (2012).** Are lycopene metabolites metabolically active; **59**(1):1-2.
- **Obeid R, Herrmann W. (2009).** Homocysteine and lipids: S-adenosyl methionine as a key intermediate. *FEBS Lett.*; **583**(8):1215-1725.

- **Oshima, S., Sakamoto, H., Ishiguro, Y., Terao, J.(1997).** Accumulation and clearance of capsanthin in blood plasma after the ingestion of paprika juice in men. *J. Nutr*; **127**:1475–1479.
- **Othmani K. (2007).** Remodelage de la matrice extracellulaire induit par une hyperhomocystéinémie et par la gestation chez le lapin. Caractérisation et suivi de marqueurs de la gravidité. Thèse de Doctorat *es Sciences*. USTHB. Alger.194p
- **Outinen PA, Sood SK, Pfeifer SI, Pamidi S, Podor TJ, Li J, Weitz JI, Austin RC. (1999).**
- **Packard CJ.,Shepherd J., Lindsay GM., Gaw A., Taskinen MR. (1993).** Thyroid replacement therapy and its influence on postheparin plasma lipases and apolipoprotein-B metabolism in hypothyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **76** :1209-16.
- **Paran, E., Engelhard, Y.(2001).** Effect of tomato's lycopene on blood pressure, serum lipoproteins, plasma homocysteine and oxidative stress markers in grade I hypertensive patients. *AJH*; **14**(4): 333.
- **Poole WJ.,Shimer SR.,Dunlop WR.,Urban WE. (1967).** Effect of methionine supplementation on experimental atherosclerosis in rabbits. *J. Nutr.*, **91** : 441-46.
progression of atherosclerosis in rabbits. *Nippon Ika Daigaku Zasshi*; **62** (6) : 596- 604.
- **Przybyszewski WM. et Widel M. (1996).** Activity of creatine kinase MB-isoenzyme in rat serum after heart irradiation and/or farmorubicin (4'-epidoxorubicin) treatment. *Canc. Letters.*, **100** : 145-50
- **Raaf L. (2003).** Effet de l'hyperhomocystéinémie sur la matrice extracellulaire de la paroi artérielle. Thèse de magister. USTHB. Alger.113p
- **Rao A.V., Agarwal S. (2000).** Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *J. Am. Coll. Nutr*; **19**: 563-569.
- **Rao AV., Ray MR. and Rao LG. (2006).**Lycopene. *Adv Food Nutr Res.*; **51**:99-164.
 - **Rao, A. V. (2002).** "Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease," *Experimental Biology and Medicine*; **227**(10):908–913.
 - **Rao, A. V., Ray,M.R., and Rao L.G. (2006).** "Lycopene," *Advances in Food and Nutrition Research*; **51**:99–164.
 - **Rao, A.V., Shen, H. (2002).** Effect of low dose lycopene intake or lycopene bioavailability and oxidative stress. *Nutr. Res*; **22**: 1125–1131.
- **Reboul E., Borel P., Mikail C. and Abou L. (2005).** Enrichment of tomato paste with 6% tomato peel increases lycopene and beta-carotene bioavailability in men, *J. Nutr*; **135**: 790-794.
- **Refsum H. et Ueland PM. (1990).** Clinical significance of pharmacological modulation of homocysteine metabolism. *Trends Pharmacol. Sci.*, **11** : 411-16.
- **Richmond W. (1973).** Preparation and proprieties of cholesterol oxidase from *Nocardia sp* and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin. Chem.*, **19** : 1350-56
- **Roberfroid MB (1999).** "What is beneficial for health? The concept of functional food." *Food Chem Toxicol*; **37**(9-10): 1039-41.
- **Roberfroid MB .(2000).** "Concepts and strategy of functional food science: the European perspective." *Am J Clin Nutr* ; **71**(6 Suppl): 1660S-4S; discussion 1674S-5S.
- **Roblin X, Pofelski J, Zarski J-P. (2007).** HÉPATITE C (Rôle de l'homocystéine au cours de la stéatose hépatique et de l'hépatite chronique). *Biol*; **31**:415-420.
- **Rolland P.H, Friggi A., Barlatier A., Piquet P, Latrille V., Faye M.M., Guillou J.,Charpiot P., Bodard H., Ghiringhelli O., Calaf R, Luccioni R, Garçon D.(1995).**Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig. *Circulation* ; **91**:1161-1174.
- **Romanchik, J. E., D. W. Morel, et al. (1995).** "Distributions of carotenoids and alphanatocopherol among lipoproteins do not change when human plasma is incubated in vitro." *J Nutr* ; **125**(10): 2610-7.
S-adenosylhomocysteine and s-adenosylmethionine are related to degree of renal a insufficiency in type 2 diabetes. *Clin. Chem*; **51** : 891-97.
- **Saedisomeolia A., L. G. Wood. (2009).** "Lycopene enrichment of cultured airway

- **Searcy R.L.; Reardon J.E.; Foreman J.A. (1967).***Amer.J.Med.Tech*;33:15-20.
- **Sharma M, Rai S.K, Tiwari M, Chandra R. (2007).** Effect of homocysteinemia on cardiovascular risk factors and initiation of atherosclerosis in Wistar rats. *Eur. J.Pharmacol.*, **574** : 49-60.
- **Shi J. ; Le Maguer M. (2000).** Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. *Crit. Rev.Food. Sci. Nutr* ; **40**(1): 1-8.
- **Shin DJ. et Osborne TF. (2003).** Thyroid hormone regulation and cholesterol metabolism are connected through sterol regulatory element-binding protein-2 (SREBP-2). *J. Biol. Chem.*, **278** : 34114-18.
- **Shipchandler MT.,Edwin GM. Rapid. (1995).** fully automated measurement of plasma homocysteine with the Abbott Imx analyzer. *Clin Chem* ; **41** : 991-4
- **Smolders, K. de Meer, P. Kenemans, T. Teerlink, C. Jakobs,MJ van der Mooren. (2004).** Hormonal substitutif influe sur les niveaux d'homocystéine dans le test de charge en méthionine : un essai contre placebo randomisé chez les femmes ménopausées ;55-59.
- **Song. Y., Cho. M., Cho. C.,Rosenfled.M.E. (2009).** Methionine-induced hyperhomocysteinemia modulates lipoprotein profile and oxidative stress but not progression of atherosclerosis in aged apolipoprotein E knockout mice. *J Med Food* ;**12**(1):137-44.
- **Southon,S.(2001).** Increased fruit and vegetable consumption: Potential health benefits. *Nut. Met.cardio Dis*;**11**:78-81.
- **Stahl, W., Heinrich, U., Aust, O., Tronnier, H., and Sies H. (2006)** . “Lycopene-rich products and dietary photoprotection,” *Photochemicaland hotobiological Sciences*; **5**(2):238–242.
- **Stalder M., P.-Y. Lovey, E. Dayer .(2007).** **Homocystéine et maladie thromboembolique ;9** (3)
- **Stéphane. L. (1998).** Augmentation de l'activité sérique des transaminases de cause non élucidée par les tests biologiques habituels. *Hépto-Gastro* ;**2** :5.
- **Sudipta Veeramachaneni.(2008).** Interactions Between Escalating Doses of Lycopene Supplementation and Exposure to Alcohol/smoke and Carcinogen in Vivo. Thèse181 pages.
- **Tabacco A. (1979).***Cin Chem*; 25: 336-337.
- **Taghliit A. (2010).** Les altérations plasmatiques et hépatiques induites par l'hyperhomocystéinémie chez le lapin domestique mâle. Thèse de magistère USTHB. Alger. P84.
- **Troen AM. ; Lutgens E. ; Smith DE. ; Rosenberg IH. ; Selhub J. (2003).** The atherogenic effect of excess methionine intake. *PNAS.*, **100** : 15089–94
- **Ungvari Z, Pacher P, RischakK, Szollar L, Koller A. (1999).**Dysfunction of nitric oxide mediation in isolated rat arterioles with methionine dietinduced
- **Upritchard JE, Sutherland WH, Mann JI.(2000).** Effect of supplementation with tomato juice, vitamin E, and vitamin C on LDL oxidation and products of inflammatory activity in type 2 diabetes. *Diabetes Care.*; **23** : 733-8.
- **Valjevac A., Džubur A., Nakaš-Ićindić E., Hadžović-Džuvo A., Zaćiragić A., Lepara O., Arslanagić A. (2009).** Changes in serum homocysteine level follow two different trends in patients during early post myocardial infarction periode. *BJBMS*; **9** :161-65.
- **Velez-Carrasco, Merkel M, Twis C.O, Smith J.D. (2008).** Dietary methionine effects on plasma homocysteine and HDL metabolism in mice.*J. Nutr. Biochem*; **19** : 362-70.
- **Virtanen JK, Voutilainen S.,Happonen P., Alfthan G., KaikkonenJ., Mursu J., Rissanen TH., Kaplan GA., Korhonen MJ., Sivenius J.,Salonen JT.(2005).**Serum homocysteine, folate and risk of stroke: Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*; **12** : 369-75.
- **Vitvitsky V., Mosharov E., Tritt M., Ataulakhanov F., Banerjee R.(2003).** Redox regulation of homocysteinedependent glutathione synthesis. *Redox Rep*; **8**:57-63.
- **Wanda Velez-CarrascoA., Martin MerkelB., Christian O., TwissC, and Jonathan D. SmithD. (2008).** Dietary methionine effects on plasma homocysteine and HDL metabolism in mice. *J Nutr Biochem*;**19**(6): 362–370.

- **Werstuck GH.,Lentz SR., Dayal S., Hossain GS., Sood SK., Shi YY., Zhou J. ; Maeda N., Krisans SK., Malinow MR., Austin RC. (2001).** Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. *J. Clin. Invest*; **107** : 1263-73 In DiBello PM.
- **Willcox B. J., J. D. Curb, et al., (2008).** "Antioxidants in cardiovascular health and disease: key lessons from epidemiologic studies." *Am J Cardiol* 101(10A): 75D-86D.
- **Zappacosta B., Mordente A., Persichilli S., Minucci A., Carlino P., Martorana GE., Giardina B and De Sole P. (2001).** Is homocysteine a pro-oxidant? *Free Radic Res* **35**:499-505.
- **Zerizer S. ; De La Fage F. ; Valdiguie P. (1998).** Place de la Troponine I cardiaque, de la CK-MB massique et de la myoglobine parmi les marqueurs cardiaques traditionnels et aspects économiques. *Ann. Biol. Clin* ;**56** : 195-99
- **Zerrouk F. (2007).** Modulation de la composition de la matrice extracellulaire vasculaire par une hyperhomocysteinémie chez *Psammomys obesus*. Thèse de magister. USTHB. Alger. 86p
- **Zhou J., Moller J, Danielsen C.C, Bentzon J., Ravan H.B., Austin R.C., Falk E.(2001).** Dietary supplementation with methionine and homocysteine promotes early atherosclerosis but not plaque rupture in ApoE-deficient mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* ;**21** : 1470-76.
- **Zuojiong Gong, Shaonan Yan, Ping Zhang, Yanqing Huang, Luwen Wang..(2008).** Effects of S-adenosylmethionine on liver methionine metabolism and steatosis with ethanol-induced liver injury in rats. *Hepatol Int*; **2**:346–352.
- **TZylberstein, D. E., Bengtsson, C., Bjorkelund, C., Landaas, S., Sundh, V., Thelle, D. and Lissner, L.(2004).** Serum homocysteine in relation to mortality and morbidity from coronary heart disease: a 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg, *Circulation*; **109**: 601-606.
-

COLORATION AU TRICROME DE MASSON (VARIANTE MASSON-GOLDNER)

Déparaffinage

Hydratation

Coloration nucléaire à l'hématoxyline de Groat 1 s

Lavage à l'eau courante 5 min

Coloration à la fuschine-ponceau 1 min 30 s

Rinçage à l'eau acétifiée

Coloration à l'orangé G molybdique 1 min 30 s

Rinçage à l'eau acétifiée

Bleu d'aniline 4 min 30 s

Rinçage à l'eau acétifiée jusqu'à l'élimination du colorant

Déshydratation

Montage au baume de Canada.



BOVEA

Notre produit Lycopène utilisé Provenant d'U.S.A Fabriqué en U.S.A.

Est un antioxydant naturel extrait de la tomate. Il se présente sous forme de pastilles de 10mg (lyc-o-mato)

Ingédients : 10mg lycopène, glucides 0g, sodium 0mg

Il contient autres molécules bio actives naturelles :

Lycopène oléorésine, de l'huile d'olive, la gélatine, la glycérine, la lécithine de soja et du caramel comme colorant.