



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



UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA -1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

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

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOCHIMIE

THEME

Effets de l'ingestion d'un régime contenant une huile thermooxydée et une huile thermooxydée et carencée en vitamine E sur l'activité de la catalase, la teneur en malondialdéhyde et l'histologie du tissu cérébral chez le rat

Présentée par :

soutenue le: 15/7 /2021

Mr FASSI MOHAMED BELKACEM

M^{lle} HAKEM KENZA

Devant le jury :

M^{me} ARKAM. F

Maitre Assistante "A"

USB D1

Présidente

M^{ME} KADRI. F

Maitre de Conférences "A"

USB D1

Examinatrice

M^{me} ROUAKI. F

Maitre de Conférences "A"

USB D1

Promotrice

Année Universitaire :2020/2021

Remerciements

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

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

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

A « Mme Arkam. F », maître-assistante classe « A » à la faculté S.N.V à l'université de Blida -1- d'avoir bien voulu nous faire l'honneur de présider ce jury

A « Mme Kadri.F. » maître conférences classe « A » à la faculté S.N.V à l'université de Blida -1- qui a bien voulu consacrer de son temps pour lire et juger notre travail.

Nos vifs remerciements à « Mme Eddaikra. A », Maître Assistante "A" à l'université de Blida, pour son aide dans l'étude statistique

Nous exprimons également nos sincères remerciements à « Mr Abou Mustapha » ingénieur de labo au niveau du centre de recherche scientifique et technique en analyse physico-chimique (CRAPC) pour leurs conseils et leurs appuis pendant toute la durée du stage.

DÉDICACES

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

A mes très chers parents

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

A mon chers frère Nabil

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

A la mémoire de ma grand- mère maternelle

Que je n'oublierais jamais.

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

A toute ma famille

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

A mes amis proches

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.



Kenza



Dédicace ...

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

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers, A ma chère a

A ma chère maman

A celle qui m'a transmis la vie, je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que

Vous me donnez depuis mon enfance, quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi

A mon cher papa

Ecole de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide, Je vous remercie

A ma sœur manel

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

A ma famille, mes chers amis,

Et une spécial dédie pour mon oncle Aziz et mes tantes Assia, sa fille Miriam, et Cherifa, qui m'ont apporté tout leur soutien

A mes chers amis : Fouzi et Khaled.



MOHAMED



Résumé

L'objectif de notre travail est de déterminer l'effet de l'ingestion de l'huile thermooxydée et thermooxydée et carencée en vitamine E sur l'activité de la catalase, le taux en malondialdéhyde et l'histologie du tissu cérébral de rats mâles de souche wistar traité pendant 4 semaines.

Au terme de cette étude expérimentale, les principaux résultats obtenus montrent une augmentation du taux en malondialdéhyde, accompagnée d'une diminution hautement significative de l'activité de la catalase du lot nourris avec de l'huile oxydée et ceci par rapport au lot témoin, cela prouve l'effet toxique de l'huile oxydée. Par contre nous avons obtenu pour le lot huile oxydée et carencée en vitamine E une diminution non significative du taux en malondialdéhyde accompagnée d'une augmentation non significative de l'activité de la catalase par rapport au lot huile oxydée, cela montre que la carence en vitamine E n'a pas eu d'effet toxique supplémentaire chez le lot huile oxydée et carencé en vitamine E.

Enfin, l'étude histologique du cerveau a montré un parenchyme cérébrale normal pour le lot témoin, cependant chez le lot huile oxydée on a observé un œdème avec une importante congestion au niveau du parenchyme cérébrale avec présence d'un amas lymphocytaires, l'histologie du lot huile oxydée carencé en vitamine E, a révélé la présence d'un foyer nécrotique avec densification et dystrophie neuronales.

Mots clés : huile oxydée, vitamine E, catalase, malondialdéhyde, cerveau, rat

Abstract

The objective of our work is to determine the effect of the ingestion of thermooxidized and vitamin E-deficient oil on the catalase activity, the malondialdehyde level and the histology of the brain tissue of male wistar rats treated for 4 weeks.

At the end of this experimental study, the main results obtained show an increase of the malondialdehyde level, accompanied by a highly significant decrease of the catalase activity of the batch fed with oxidized oil and this in comparison with the control batch, which proves the toxic effect of the oxidized oil. On the other hand, we obtained for the oxidized oil and vitamin E deficient batch a non-significant decrease of the malondialdehyde level accompanied by a non-significant increase of the catalase activity compared to the oxidized oil batch, this shows that the vitamin E deficiency did not have any additional toxic effect in the oxidized oil and vitamin E deficient batch.

Finally, the histological study of the brain showed a normal cerebral parenchyma for the control lot, however in the oxidized oil lot we observed an edema with an important congestion at the level of the cerebral parenchyma with the presence of a lymphocytic cluster, the histology of the oxidized oil lot deficient in vitamin E, revealed the presence of a necrotic focus with densification and neuronal dystrophy.

Key words : oxidized oil, vitamin E, catalase, malondialdehyde, brain, rat

الملخص

يهدف هذا العمل الى تحديد تأثير تناول الزيت محروق مؤكسد والزيت المحروق المؤكسد منقوص الفيتامين E على نشاط CAT ومستوى MDA وانسجة دماغ ذكور الجرذان من سلالة wistar خلال مدة 4 اسبوع .

بعد الفترة التجريبية، أظهرت النتائج الرئيسية التي تم الحصول عليها زيادة معتبرة للغاية في مستوى MDA، يرافقه انخفاض جد معتبر في ال CAT للجرذان التي يتم تغذيتها بالزيت المؤكسد منقوص الفيتامين E مقارنة بالفئة التي يتم تغذيتها بالزيت المؤكسد، من ناحية أخرى حصلنا على تغيرات في المجموعة المغذية بالزيت المؤكسد منقوص الفيتامين E، حيث زاد النشاط الانزيمي لل CAT زيادة معتبرة يقابله انخفاض في مستويات ال MDA

وأخيراً، أظهرت الدراسة النسيجية لدماغ نسيج حشوي عادي للمجموعة الجرذان الشاهدة، ولكن في المجموعة HO، لوحظ تورم مع احتقان كبير في محيط النسيج الحشوي للدماغ، فضلاً عن انتفاخ طبقتي السحايا مع وجود تجمعات لمفاوية. من ناحية أخرى، فإن أنسجة المجموعة HOE ، تبين وجود تركيز نخرية مع تكثيف وضمور الخلايا العصبية.

الكلمات الرئيسية: زيت مؤكسد، جرد، مضاد تأكسد، دماغ، فيتامين E.

Liste des abréviations

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

ERA : Espèces Réactives de l'Azote.

EROA : Espèces Réactives Oxygénées et Azotées.

$O_2^{\cdot -}$: Anion Superoxyde.

OH^{\cdot} : Radical Hydroxyl.

RO^{\cdot} : Radical Alkoxy.

ROO^{\cdot} : Radical Peroxyl.

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

1O_2 : Oxygène Singlet.

HOCL : Acide Hypochloreux.

ROOH : Hydroperoxyde.

NO^{\cdot} : Monoxyde d'azote.

HNO_2 : Acide Nitrique.

$ONOO^-$: Peroxynitrite.

NO_2 : Nitrique Dioxyde.

O_2 : Oxygène Moléculaire.

$O_2^{\cdot -}$: Radical Superoxyde

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Hydrogène.

H^+ : Ion Hydrogène.

NOS : Nitrique Oxyde Synthase.

$NADP^+$: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

$ONOO^{\cdot}$: Peroxynitrite.

RL : radical libre

LPO : lipoperoxydation

AGE : acide gras essentiel

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés.

L• : Radical Alkyle.

LOO• : Radical Peroxyle.

LOOH : Hydroperoxydes.

MDA : Malondialdehyde.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

SOD : Superoxyde Dismutase.

CAT : Catalase.

ROO• : Radicaux Peroxydes.

α -T : α -Tocophérol.

α -T•:Radical α -Tocophéroxy.

VLDL : Lipoprotéines de très basse densité.

Lot HO : lot huile oxydée

Lot HOE : lot huile oxydée et carencé en vitamine E

BSA : Bovine Serum Albumin

TBA : Acide Thiobarbiturique.

TBA-RS : Substances Réactives de l'Acide Thiobarbiturique

Liste des figures

Figure 1 : Différents espèces réactives oxygénées et azotées.....	3
Figure 2: Présentation schématique des sources de radicaux libre et leur effet sur la corps humain.....	3
Figure 3: les différentes étapes de la peroxydation lipidique	6
Figure 4: Différents types antioxydants non-enzymatiques	9
Figure 5:Les différentes structures des formes de la vitamine E	10
Figure 6 : Structure du alpha-Tocophérol et des différents vitamerès	10
Figure 7 : Les principales étapes de la biosynthèse de la vitamine E.....	11
Figure 8 : métabolisme de la vitamine E.....	13
Figure 9:Coopération entre les systèmes non enzymatiques et enzymatiques.....	14
Figure 10:Broyage des échantillons cérébraux à l'aide d'un broyeur homogénéiseur.	16
Figure 11: Automate de traitement des tissus.....	20
Figure 13:la coloration Hématoxyline-Eosine	21
Figure 14: Evaluation des poids corporels chez les rats en croissance.	22
Figure 15 : Evaluation des poids cérébraux chez les rats en croissance.	24
Figure 16 : Effets de l'huile oxydée sur le taux en MDA (Figure 16. a) et l'activité de la catalase (figure 16. b) au niveau du tissu cérébrale chez des rats de souche wistar, par rapport au lot témoin.	24
Figure 17 : Effet de la supplémentation en huile oxydée et huile oxydée carencé en vitamine E (HOE), au niveau du tissu cérébrale chez des rats en croissance, par rapport aux lots témoin.	28
Figure 18 : Micrographie du parenchyme cérébrale (10×, H&E) montrant architecture normal chez le lot "témoin " flèche bleu : neurone pyramidale, flèche jaune : oligodendrocytes	29
Figure 19 :Micrographie du parenchyme cérébrale du lot huile oxydée HO, montrant la présence d'un œdème et de congestions a la périphérie du tissus cérébral (figure .19.a) et une infiltration lymphocytaire (figure.19. b) (40×, H&E).PC: parenchyme cérébrale, Oe: œdèmes, CG: congestion L: infiltration lymphocytaire	29
Figure 20 : Micrographie du parenchyme cérébrale du lot HOE montrant la présence d'un foyer nécrotique ; (a):(10×, H&E), (b) : (40×, H&E). PC : parenchyme cérébrale, N: foyer nécrotique, Nc: cellules nécrotiques. Montrant la présence d'une densification et dystrophie neuronales ; DN : densification neuronale	30

Liste des tableaux

Tableau I: Gamme d'étalonnage réalisée à partir de la solution BSA	18
Tableau II: Concentrations et quantités de réactifs nécessaires au dosage de l'activité catalase	19

Table des matières

Introduction	1
Partie I : Etude Bibliographique	2
Chapitre I : Stress oxydatif	2
I.1. Généralités	2
I.2. Les radicaux libres	2
I.2.1. Notions sur les radicaux libres	2
I.2.2. Différentes espèces réactives	3
I.3. Les principales Sources d'espèces réactives	3
I.4. Action des radicaux libres.....	4
I.4.1. Les protéines	4
I.4.2. Les lipides	4
I.4.3. Acides nucléiques	4
Chapitre II : Peroxydation lipidique	5
II.2. Importance de ce processus	5
II.2. Mécanisme de l'oxydation lipidique	5
II.2.1. Les étapes de la peroxydation lipidique	5
II.3. Toxicité des produits d'oxydation	7
II.3.1. Toxicité des huiles oxydées	7
II.3.2. Manifestations toxiques.....	7
Chapitre III : Antioxydants	8
III.1. Le systèmes antioxydants	8
III.2. Différents types d'antioxydants	8
III.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	8
III.2.2 Les antioxydants non enzymatiques	9
Chapitre VI : La vitamine E	10
VI.1. Introduction	10
VI.2. Structure.....	10
VI.3. Biosynthèse	11

VI.4. Propriétés physico-chimiques	12
VI.5. Source	12
VI.6. Métabolisme	12
VI.7. Action anti-oxydant de l'alpha tocophérol	13
Partie II : Etude Expérimental.....	15
Chapitre I: Matériel et méthode.....	15
I.1. Matériel.....	15
I.1.1. Matériel biologique	15
A. Animaux étudiés.....	15
B. Elevage.....	15
I.1.2. Matériel non biologique	16
I.2. Méthodes.....	16
I.2.1. Dosage des protéines (Lowry et <i>al.</i> , 1951)	16
I.2.2. Dosage du malondialdéhyde (Draper, 1993).....	18
I.2.3. Dosage de la catalase (Aebi, 1984)	19
I.2.4. Réalisation des coupes Histologiques.....	20
I.3. Etude statistique.....	21
Chapitre II : Résultats et discussion.....	22
II.1. Effets de l'ingestion d'un régime alimentaire contenant une huile oxydée et huile oxydée et carencée en vitamine E sur les paramètres pondéraux.....	22
II.2. Effets de l'ingestion d'un régime alimentaire contenant une huile oxydée sur le taux en malondialdéhyde et l'activité de la catalase du tissu cérébral	24
II.3. Effets de l'ingestion d'un régime alimentaire contenant une huile oxydée et carencée en vitamine E sur la teneur en malondialdéhyde et sur l'activité de la catalase au niveau du tissu cérébral.....	28
II.4. Effets de l'ingestion d'un régime alimentaire contenant une huile oxydée et une huile oxydée et carencée en vitamine E sur l'histologie du tissu cérébral.....	29
Conclusion.....	32
Références bibliographiques	35
Annexe.....	

Introduction

Introduction

L'oxygène moléculaire présente la particularité d'être un élément indispensable et toxique pour l'Homme, car il peut se transformer dans l'organisme en anions superoxydes, pour générer d'autres espèces réactives oxygénées (**Daumbadouard, 2006**) et il peut également générer d'autres radicaux libres à partir de l'azote (**Li et al., 2013**). Les variations de ces espèces réactives induisent un effet paradoxal sur la cellule, bénéfique à des niveaux faibles ou modérés (**Valko et al., 2007**), ou délétères à des niveaux élevés, induisant ainsi « un stress oxydatif », qui est la résultante d'un déséquilibre entre une génération excessive des espèces réactives oxydantes et une capacité d'élimination par un système antioxydant réduite (**Sies, 1991**) ; cet état, s'il est prolongé peut indirectement induire des maladies chroniques (**Phaniendra et al., 2015**). Parmi les différents organes du corps, le cerveau est le plus vulnérable aux dommages oxydatifs en raison de sa forte consommation d'O₂, la présence de niveaux élevés d'acides gras polyinsaturés et de la nature dégénérative de neurones, ce qui peut conduire à diverses maladies neurodégénératives (**Li et al., 2013**) ou directement en provoquant des dommages sur l'ADN, les protéines et les lipides membranaires, pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire (**Santo et al., 2016**).

Les lipides sont d'importants constituants de l'alimentation : apport énergétique et source d'acides gras essentiels mais également de vitamines liposolubles. Les acides gras essentiels sont les précurseurs des eicosanoïdes avec leurs dérivés supérieurs polyinsaturés, ils sont incorporés dans les membranes dont ils influencent les propriétés physico-chimiques et biologiques telles que la stabilité, la perméabilité aux drogues ou les activités enzymatiques associées. Le corps gras riche en acide gras essentiels est l'huile de tournesol qui lors de son oxydation conduit à la formation d'espèces réactives d'oxygène. Lorsque des ERO commencent à s'accumuler dans la cellule, ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense antioxydantes présentes dans la cellule comme le glutathion, les vitamines E et C, la bilirubine, l'acide lipoïque, et des enzymes comme la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX), les peroxyrédoxines... (**Delattre et al., 2005**).

L'objectif de notre travail est d'étudier les effets de l'ingestion d'un régime contenant une huile thermooxydée d'une part et thermooxydée et carencée en vitamine E d'autre part sur l'évolution de la croissance, l'activité de la catalase, le taux en malondialdéhyde et l'histologie du tissu cérébral de rats mâles de souche wistar pendant une durée de 4 semaines

Partie I : Etude Bibliographique

I.1. Généralités

En 2019, **Daenen et al.** ont défini le stress oxydant comme un déséquilibre entre la production des radicaux libres (RL) et la synthèse des espèces réactives d'oxygène/d'azote (ERO/ERN) et la capacité de l'organisme à réduire leur effet délétère par les systèmes de protection antioxydante, ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (**Kirschvink et al., 2008**), d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'inactivation du système enzymatique ou d'intoxication par des métaux lourds « fer, cuivre et magnésium » (**Pincemail et al., 2002**).

En santé, les RL et les antioxydants restent en équilibre mais dans des conditions de stress oxydatif, il existe un grand nombre d'ERO et REA que d'antioxydant (**Olorunnisola et al., 2019**), ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : la peroxydation lipidique (LPO), l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN (**Deaton, 2003**), provoquant ainsi le développement du cancer, du diabète, des maladies neurodégénératives et cardio-vasculaires (**Ratnam et al., 2006**), l'organisme humain a développé des systèmes de défense pour traiter le stress oxydant et lutter contre les espèces réactives qui sont préjudiciables à la vie humaine (**Prior et Cao, 1999 ; Laguerre et al., 2007**).

I.2. Les radicaux libres

I.2.1. Notions sur les radicaux libres

Selon **Afonso et al. (2007)**, un RL est une espèce chimique (atome ou molécule) neutre ou chargée contenant un électron célibataire sur sa couche périphérique rendant ainsi cette espèce chimique particulièrement instable, ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule, ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'un électron à partir d'un composé non radical (**Kocchilin-Ramonatxo, 2006**).

Les RL sont indisponibles à la vie parce qu'ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à

la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule et à la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes (Favier, 2003).

I.2.1. Différentes espèces réactives

Les espèces réactives comprennent deux classes de molécules, les ERO et les ERA, (figure 01) (Kalam et al., 2012).

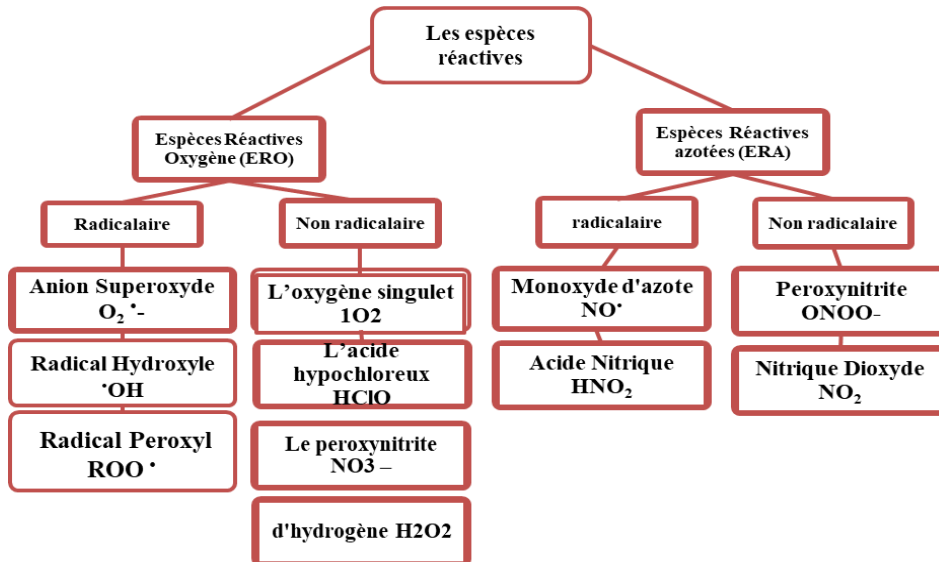


Figure 01 : Différents espèces réactives oxygénées et azotées (Valko et al., 2007).

I.3. Les principales Sources d'espèces réactives

Les ERO et ERN peuvent apparaître ou se former suite à des facteurs exogènes ou endogènes (figure 02)

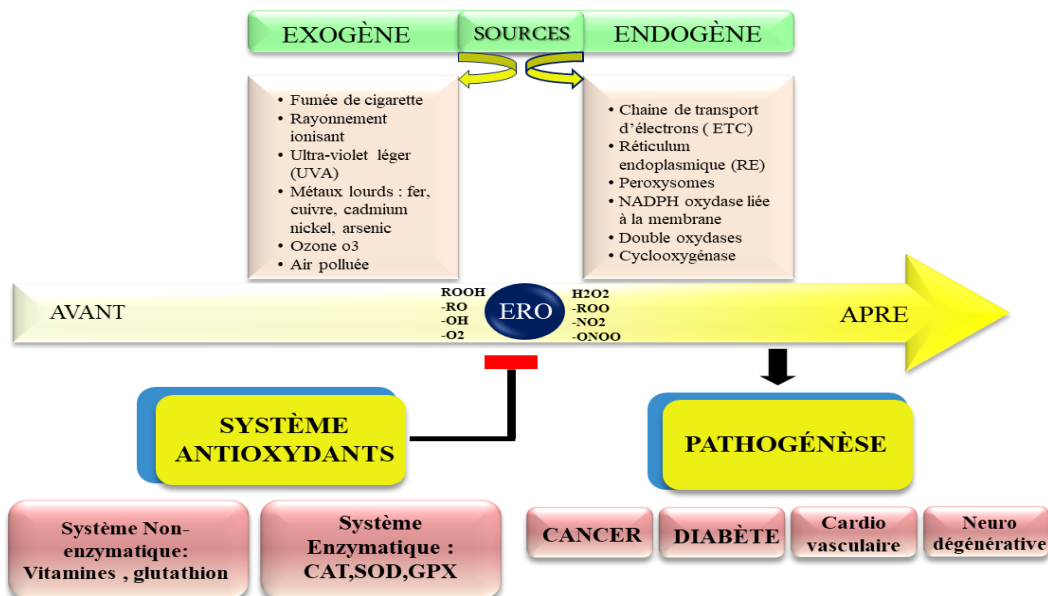


Figure 02: Présentation schématique des sources de radicaux libre et leur effet sur la corps humain (Sharifi-Rad et al., 2020)

I.4. Action des radicaux libres

Les RL sont capables d'entraîner des modifications chimiques altérant gravement les structures protéiques, lipidiques ainsi que les acide nucléique (Tessier et Marconnet, 1995).

I.4.1. Les protéines

Les ERO agissent sur les protéines en oxydant certains acides aminés (Stadtman et Levine, 2003), cette oxydation aboutit à la formation de produits carbonylés et hydroxylés. Les acides aminés soufrés dont la cystéine et la méthionine, les acides aminés basiques (arginine, leucine) et les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine sont plus particulièrement sensibles à ces phénomènes. (Poisson, 2013).

I.4.2. Les lipides

D'après Janeul (2003), les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ERO radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est à dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique la peroxydation lipidique (LPO) consiste en la modification oxydative des lipides est l'un des marqueurs les plus préférés du stress oxydatif elle peut être enzymatique (contrôlée) ou non enzymatique (Colas, 2010 ; Rahal et al., 2014).

I.4.3. Acides nucléiques

L'ADN est une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène, les cibles de ces dommages sont les mitochondries et l'ADN nucléaire. La réactivité de H_2O_2 et $O_2 \cdot$ n'est pas suffisante pour endommager directement l'ADN, mais les deux peuvent générer des radicaux $OH\cdot$ La réaction entre $OH\cdot$ et ADN peut entraîner divers processus, c'est-à-dire formation d'adduits sur l'ADN l'oxydation des bases et des résidus des sucres, des cassures de chaîne par arrachement d'un atome d'hydrogène du 2 désoxyribose (simple et double brins), pontages ADN-protéines dans les nucléoprotéines, formation de sites abasiques. (Bensakhria, 2018), soit entraînent des erreurs de lecture et de Synthèse par des ADN polymérases translesionnelles infidèles aboutissant à une mutation ponctuelle dans le génome qui peuvent avoir de graves conséquences sur la synthèse des protéines, soit une impossibilité de copier l'ADN qui aboutira à la mise en route du suicide programmé des cellules par un apoptose (Favier, 2003).

II.1. Importance de ce processus

Les cycles successifs de chauffage auxquels sont soumis les corps gras, lors de leur utilisation en friture profonde provoquent des altérations importantes des AGE, du fait de leur insaturation, ils sont particulièrement fragiles. Vis à vis du processus de dégradation et de rancissement, qui est peu important dans les conditions normales de stockage ou d'utilisation culinaire en cuisson "unique", le corps gras riche en AGE est l'huile de tournesol (qui contient plus de 60% de 18:2 (n-6) et moins de 1% de 18:3(n-3)). L'huile d'olive (contenant 80% de 18:1 (n-9) et 15% AGE) donc moins riche en AGPI est plus stable vis à vis des dégradations, l'huile de tournesol se différencie des huiles de colza, de soja ou d'arachide par une vitesse de dégradation et une concentration en esters oxydés finale légèrement plus importante après une dégradation par cycle de chauffage à 220°C, (Guillaumin, 1976).

II.2. Mécanisme de l'oxydation lipidique

La réaction d'oxydation lipidique est initiée entre le lipide polyinsaturé quelle que soit leur origine (huiles végétales, huiles de poissons, graisses animales, membranes cellulaires, lipoprotéines) et l'oxygène : la peroxydation lipidique (Cillard, 2006). Ce processus commence par l'abstraction d'atomes d'hydrogène des AGPI et l'apparition de RL et se poursuit avec addition d'oxygène et la formation d'hydroperoxydes lipidiques conjugués produits primaires de la LPO. Ceux-ci sont relativement instables, ils se décomposent par la suite en aldéhydes saturés et insaturés, cétones et des alcools qui sont les produits secondaires (Pre, 1991).

Il est reconnu depuis longtemps que des niveaux élevés de radicaux libres ou d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent causer des dommages directs aux lipides. Les glycolipides, les phospholipides et le cholestérol sont les cibles préférées de ces dommages (Ayala et al., 2014).

II.2.1. Les étapes de la peroxydation lipidique

L'oxydation des lipides polyinsaturés est un processus radicalaire de réactions en chaîne qui se décompose en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (figure 03)

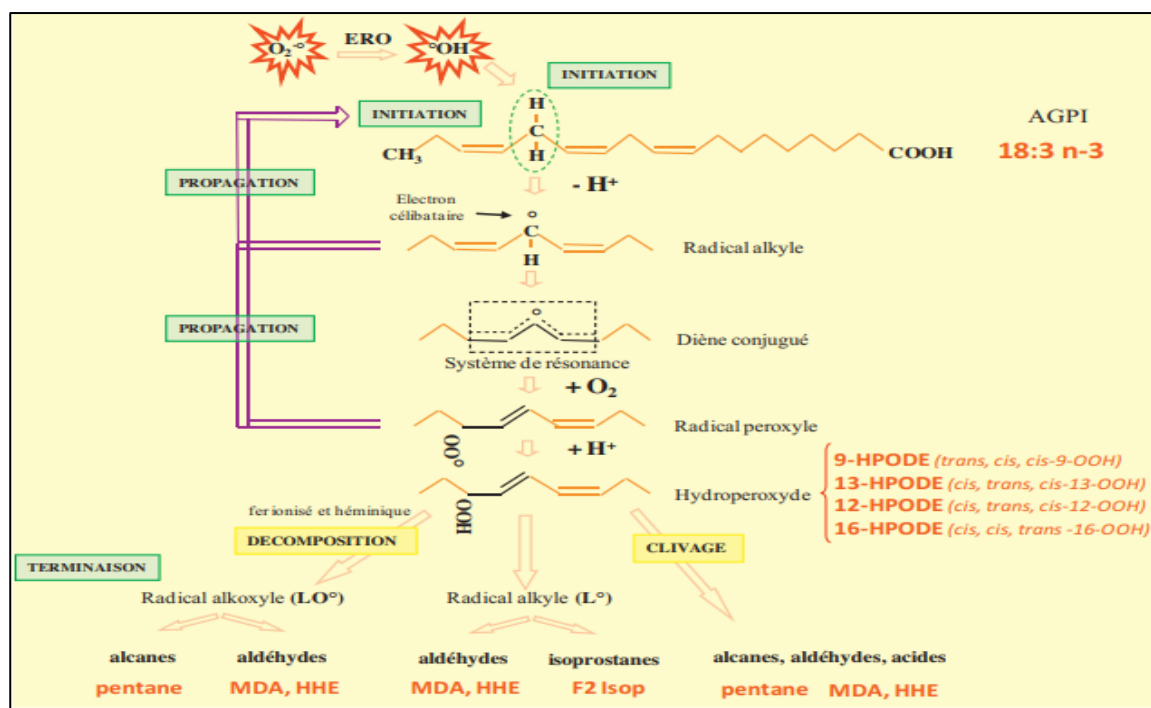


Figure03: les différentes étapes de la peroxydation lipidique (Durand et al., 2013)

A. La phase d'initiation

Le stade initial est dû à l'attaque d'une espèce radicalaire réactive (radicaux hydroxyles, alcoxyles, peroxydes, l'oxygène singulet ou le peroxydinitrite), afin d'arracher un hydrogène du groupement méthylène bis-allylique situé en α d'une double liaison d'un acide gras polyinsaturé (LH) ce qui conduit à la formation d'un radical centré sur l'atome de carbone ; $\cdot\text{CH}$ ou L^\bullet) (Michel et al., 2008).

B. La phase de propagation

Au stade de propagation de la chaîne de peroxydation le radical formé dans la phase d'initiation est stabilisé par réarrangement intramoléculaire pour former un diène conjugué facile à réagir avec l'oxygène radical peroxyde, LOO^\bullet (Gardner, 1989), qui peut à son tour arracher un hydrogène d'une autre molécule d'acide gras adjacente (LH), créant ainsi une réaction en chaîne pour former un hydro peroxyde LOOH en régénérant un radical L^\bullet .

C. La phase de terminaison

La terminaison de cette réaction en chaîne se produit lorsque deux radicaux se rencontrent. Si deux radicaux identiques (ROO^\bullet) réagissent entre eux pour donner une molécule de ROOR et une molécule d'oxygène, ou si un autre radical OH^\bullet et un radical ROO^\bullet réagissent entre eux pour donner un peroxyde (ROOR) et une molécule d' O_2 , ces réactions entraînent obligatoirement une modification de la structure lipidique membranaire (Pasquier, 1995).

II.3. Toxicité des produits d'oxydation

Dans les conditions physiologiques normales, du fait de l'efficacité des systèmes de défense, LPO présente une nocivité réduite. Il en est tout autrement lors d'intoxication par certains xénobiotiques dont le métabolisme génère d'importantes quantités de RL, débordant les possibilités de protection enzymatique et épuisant le pool des scavengers. Alors apparaissent pleinement les effets toxiques et irréversibles de ce processus (**Pre, 1991**).

II.3.2. Toxicité des huiles oxydées

Selon **Kanasawa et al.(1985)**, les esters polymérisés de masse moléculaire élevée > 1000 ne sont pas absorbés, l'hydrolyse des triglycérides par la lipase pancréatique diminue avec le degré de polymérisation (**Entressangles, 1986**). La toxicité des esters cycliques est reconnue, ils sont réputés pour être cancérigènes, les dérivés peroxydés sont absorbés après transformation en produits plus stables dans l'intestin (**Bergan et Draper, 1970**). Le passage dans la lymphe des esters oxydés est plus faible et plus lent que celui des acides gras normaux et le taux de passage varie avec la valeur des esters oxydés (**Combe et al.,1978**). Les esters polymérisés ne sont pas absorbés sauf dans le cas d'une intubation mais l'absorption et l'incorporation dans les lipides tissulaires sont très limitées. Ainsi la toxicité d'une huile autoxydée est liée principalement à la présence d'esters oxydés.

II.3.2. Manifestations toxiques

L'absorption des esters peroxydés ou des dérivés oxydés s'accompagne de manifestations toxiques mais de nombreuses incertitudes demeurent quant au mode d'action de ces produits, l'assimilation des produits d'oxydation à des doses importantes induit une réduction de la croissance chez les jeunes rats, des perturbations digestives, le métabolisme lipidique du foie est altéré avec une augmentation du poids de cet organe (**Kanasawa et al., 1985**).

III.1. Le systèmes antioxydants

Selon **Gutteridge** en (1995), les défenses antioxydantes endogènes comprennent un réseau de molécules enzymatiques et non enzymatiques antioxydantes compartimentées qui sont généralement distribuées dans le cytoplasme et divers organites cellulaires. Dans les organismes eucaryotes, plusieurs enzymes antioxydantes primaires omniprésentes, telles que la superoxyde dismutase, la catalase et plusieurs peroxydases, catalysent une cascade complexe de réactions pour convertir les ERO en molécules plus stables, telles que l'eau et l'O₂.

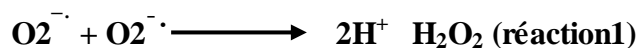
III.2. Différents types d'antioxydants

Les antioxydants sont répertoriés en fonction de leur source, les antioxydants endogènes enzymatiques sont plus impliqués dans la neutralisation des ERO que les antioxydants non enzymatiques exogènes sont des donneurs de proton ou électron (**Durand et al., 2013**).

III.2.1. Les antioxydants enzymatiques

A. Superoxyde dismutase

SOD (EC 1.15.1.1) : c'est l'une des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (**Fridovich, 1995 ; Landis et Tower,2005**). Chez les mammifères, il existe trois formes de SOD : la SOD1 cytosolique (Cu, Zn-SOD), la SOD2 mitochondriale (Mn-SOD) et la SOD3 extracellulaire (EC-SOD), et elle joue un rôle central dans la défense contre le stress oxydatif (**Scandalias, 1993**). Elles catalysent la dismutation du superoxyde en molécules de peroxyde d'hydrogène et d'oxygène (réaction 1) (**Nguyen et al.,2019**).



B. Catalase

La catalase (CAT, 1.11.1.6) : enzyme antioxydante intracellulaire contenant de l'hème qui catalyse la dismutation du H₂O₂ en H₂O et en O₂ (réaction 2)



L'enzyme se trouve chez tous les eucaryotes aérobies et joue un rôle important dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène généré dans les peroxysomes par les oxydases impliquées dans la β-oxydation des acides gras, le cycle du glyoxylate et le catabolisme des purines (**Hertwig et al., 1992**), la catalase est un homotétramère avec une masse moléculaire

de 240 KDa et est largement distribué dans la cellule (Powers et Jackson, 2008).

C. Les glutathion peroxydases

Les GPx font partie d'une famille d'isozymes multiples qui catalysent la réduction de H_2O_2 ou d'hydroperoxydes organiques pour générer de l'eau ou des alcools correspondants en utilisant du glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électrons (Margis et al, 2008), il existe au moins cinq isoenzymes GPX, chez les mammifères, Le GPX1 est principalement présent dans les érythrocytes, les reins et le foie, et le GPX4 est fortement exprimé dans les cellules épithéliales rénales et les testicules. La GPX2 cytosolique et le GPX3 extracellulaire sont mal détectés dans la plupart des tissus, à l'exception du tractus gastro-intestinal et du rein, respectivement. Récemment, un nouveau membre, GPX5, exprimé spécifiquement dans l'épididyme de souris (Matés et Sánchez-Jiménez, 1999)

III.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les principaux systèmes antioxydants non enzymatiques les plus connus chez les animaux et les végétaux sont réparties en deux groupes : système antioxydant endogène et exogène (figure04) :

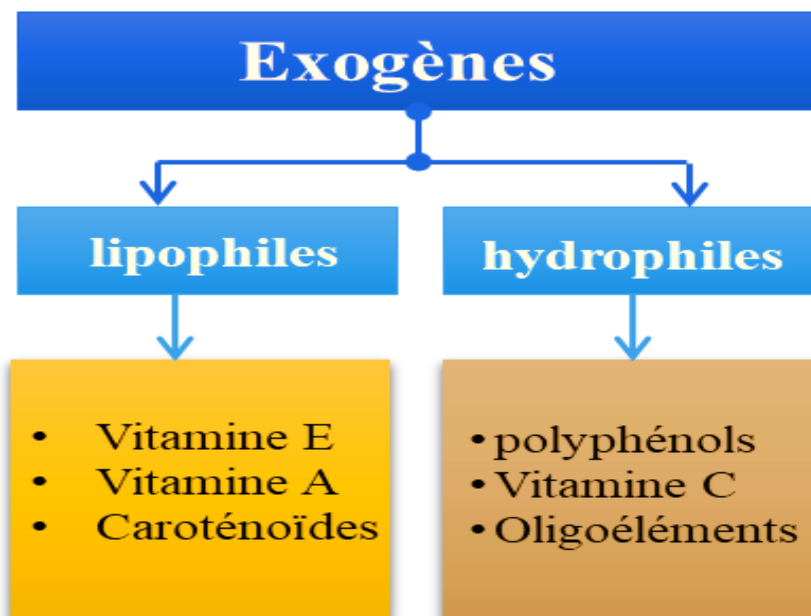


Figure 04: Différents types antioxydants non-enzymatiques (Durand et al.,2013).

VI.1. Introduction

Connue aussi sous le nom d' α -tocophérol, est un composé lipophile mono phénolique et un puissant antioxydant qui protège les membranes cellulaires des dommages causés par les RL. On la trouve dans divers aliments, notamment les huiles végétales (smith, 2020), la vitamine E joue alors le rôle de "terminateur" ou "briseur" de la propagation des réactions en chaîne caractérisant la LPO des membranes biologiques (Descamps et al.,2006).

VI.2. Structure

La vitamine E présente différentes formes moléculaires : Des vitamines alpha, beta, gamma et delta, chaque vitamère existant sous différentes formes stéréo-isomériques dont une seule, parmi les huit formes possibles, est naturelle : la forme RRR. La molécule présente deux parties (Figure 05) : un noyau 6-OH-chromane qui possède la fonction anti-oxydant, et une chaîne latérale à 16 atomes de carbone de structure isoprénique, celle-ci définissant deux grandes familles : les tocophérols à chaîne latérale saturée et les tocotriénols avec une chaîne latérale présentant trois doubles liaisons. Cette chaîne latérale détermine la lipophilicité et la stéréochimie de la molécule (Figure06). (Cuvelier et al.,2003).

Vitamin E	R ₁	R ₂	R ₃	Molecular Weight
α -tocopherol	CH ₃	CH ₃	CH ₃	430.71
β -tocopherol	CH ₃	H	CH ₃	416.68
γ -tocopherol	H	CH ₃	CH ₃	416.68
δ -tocopherol	H	H	CH ₃	402.65
α -tocotrienol	CH ₃	CH ₃	CH ₃	424.66
β -tocotrienol	CH ₃	H	CH ₃	410.63
γ -tocotrienol	H	CH ₃	CH ₃	410.63
δ -tocotrienol	H	H	CH ₃	396.61

Figure05 : Les différentes structures des formes de la vitamine E (Peh et al.,2016)

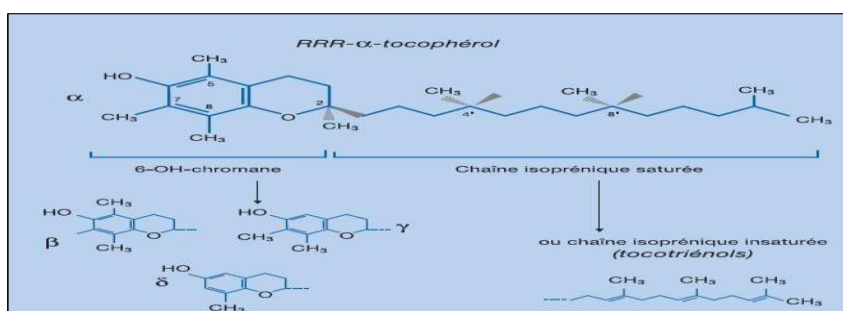


Figure06 : Structure du alpha-Tocophérol et des différents vitamerès (Bonnefont-Rousselot et al., 2007)

VI.3. Biosynthèse

La biosynthèse de la vitamine E s'effectue uniquement chez les plantes, les algues et certaines plantes non photosynthétiques telles que les champignons (Threlfall, 1971). Il existe 2 voies de synthèse de la vitamine E : La voie des tocotriénols et la voie des tocophérols (Figure 8). Dans la première, l'acide homogentisique réagit avec une molécule de géranylgeranyl pyrophosphate pour donner un intermédiaire, le 6 géranylgeranyltoquinol, qui donnera naissance à un tocotriénol monométhylé, le δ -tocotriénol. Des méthylations supplémentaires permettront d'obtenir le β -tocotriénol, le γ -tocotriénol et l' α -tocotriénol. La chaîne latérale peut ensuite être saturée pour former α -tocophérol (Janiszowska et Pennock, 1976). Par rapport aux tocophérols, les tocotriénols sont des antioxydants plus puissants, ils sont impliqués dans une variété d'autres fonctions importantes de signalisation et de métabolisme telle que la régulation des voies du métabolisme des lipides et de la biosynthèse des acides gras, et qu'ils modulent l'homéostasie du glucose, ce qui pourrait les rendre utiles pour la prévention du diabète (Smith, 2020). Lors de la seconde voie de synthèse, une molécule de phytol diphosphate est greffée sur le carbone 6 de l'acide homogentisique simultanément à une réaction de décarboxylation, pour former le 2-méthyle-6-phytylplastoquinol ou phytyltoquinol. Une méthylation en position 3 permet la synthèse du 2,3-diméthyle-6-phytylplastoquinol, qui subira une étape de cyclisation pour former le γ -tocophérol. Une 2eme méthylation en position 5 donne l' α -tocophérol (figure07) (Cuvelier et al., 2003).

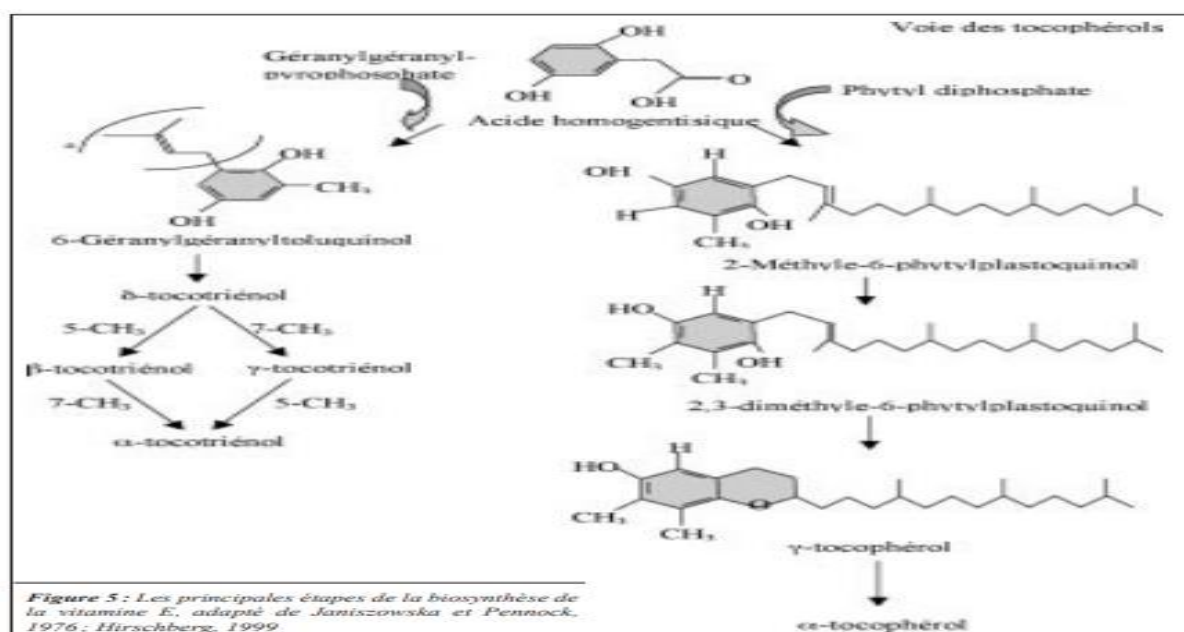


Figure 07 : Les principales étapes de la biosynthèse de la vitamine E (Cuvelier et al., 2003)

VI.4. Propriétés physico-chimiques

Les tocophérols sont des huiles jaune clair à température ambiante, insolubles dans l'eau, solubles dans les corps gras et les solvants organiques (éthers, acétone, chloroforme, Méthanol, alcools méthyliques et éthyliques) (**Bourgeois, 2003**). Ils sont stables à la chaleur, à la lumière visible, mais sont rapidement détruits par les rayons UV et en présence d'oxygène ou d'oxydants (**Guilland, 2009**).

Selon Combs et **McClung (2016)**, les tocophérols et leurs acétates ont une absorption maximum compris entre 280 et 300 nm (292 nm).

VI.5. Source

Dans la nature, la vitamine E se trouve dans les légumes, les plantes et les huiles végétales. La distribution des tocophérols dans le règne végétal est principalement l' α -tocophérol dans les plantes vertes à feuilles et le γ -tocophérol dans les parties non vertes des plantes telles que les fruits et les graines non vertes, comme les amandes, les avocats, les noisettes, les cacahuètes et les graines (**Peh et al., 2016**).

La vitamine E n'est biosynthétisée que par des organisme photo synthétiser. L' α -T est contenu dans les chloroplastes des cellules végétales alors que les vitamères β -, γ -, et δ - se trouvent généralement en dehors des parties vertes (**Gerald et Combs, 2012**). Les huiles de germe de blé, de tournesol et de carthame sont riches en α -T, tandis que les huiles de maïs et de soja contiennent principalement la γ -tocophérol. Les tissus animaux ont tendance à contenir de faibles quantités d' α -T, principalement dans les tissus adipeux qui varie en fonction de l'apport alimentaire de la vitamine E (**Gerald et Combs, 2012**). Chez les animaux, on la trouve dans la viande d'oie et chez plusieurs animaux marins dont le saumon et le homard (**Cuvelier et al., 2003**).

VI.6. Métabolisme

Le métabolisme de la vitamine E sous toutes ses formes est un processus complexe dont les événements clé sont l'absorption intestinale de la vitamine E, son transport, et enfin, des tris sélectifs entre isoformes de vitamine E et/ou leurs dégradations en métabolites qui se déroulent dans le foie (**Schmölz, 2016**). L'absorption intestinale des lipides et des vitamines liposolubles dépend de la fonction pancréatique, de la sécrétion biliaire, de la formation micellaire et du transport à travers les membranes intestinaux (**Muller et al., 1974 ; Hollander, 1981**).

La vitamine E est liposoluble et elle est absorbée sous forme de micelles, englobent la vitamine E et aident à la faire passer dans l'intestin. Les chylomicrons, produits par l'intestin grêle, transportent les micelles dans la lymphe. Elles restent dans les chylomicrons résiduels, ou distribuée aux tissus périphériques lors de la lipolyse par les lipases endothéliales, est captée par le foie. Cette incorporation met en jeu l' α -tocopheroltransferprotein (attp), ce qui va permettre sa distribution aux tissus périphériques (Traber, 2007). Approximativement la moitié de l' α -T plasmatique est présente dans les LDL et l'autre moitié est distribuée entre

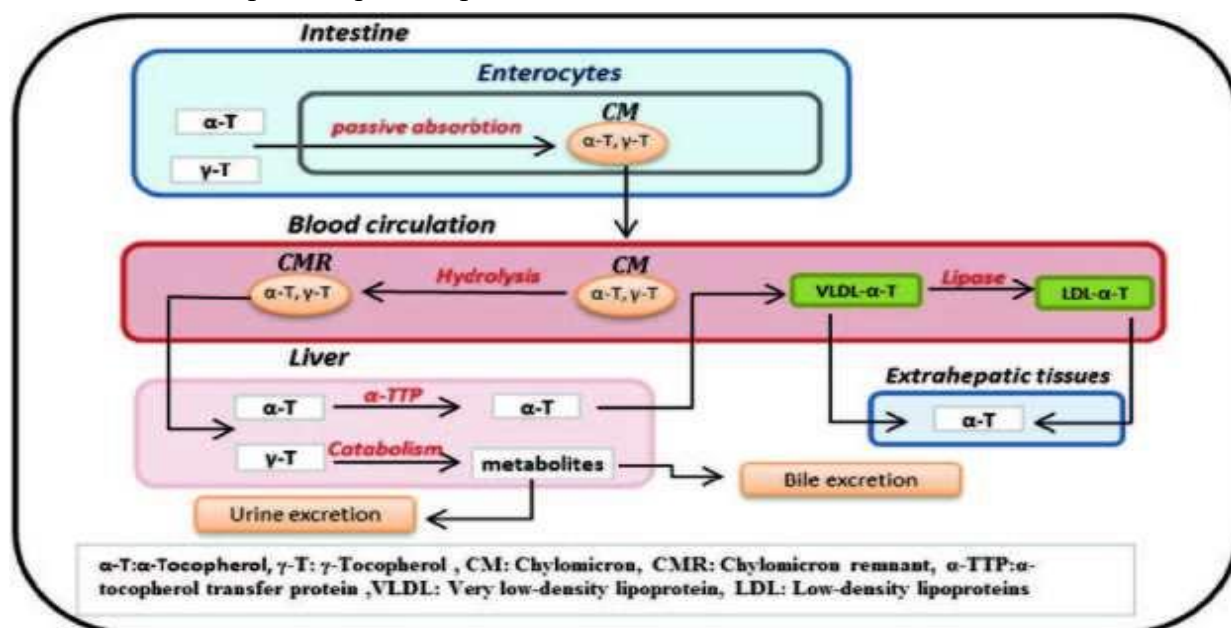


Figure 08: métabolisme de la vitamine E (Albahrani et Greaves, 2016).

Dans le foie, les différentes isoformes de vitamine E sont soumises à un tri sélectif, les dirigeant soit vers leur dégradation en différents métabolites au niveau hépatique par un mécanisme commun d' ω hydroxylation catalysée par des enzymes à cytochrome P450 suivie d'une β -oxydation. Bien qu'il existe une forme phosphorylée de l' α -tocophérol, présente en petites quantités dans divers échantillons biologiques (plasma, tissus...) qui proviendrait d'une phosphorylation de l' α -tocophérol.

VI.7. Action anti-oxydant de l' α tocophérol

Le principal rôle nutritionnel de la vitamine E est celui d'un antioxydant biologique. (Combs et McClung, 2016), il piège les radicaux libres peroxydes, formés à partir des AGPI, et bloque ainsi la propagation de la LPO. Dans ce mécanisme, l' α -T est oxydé en radical chromanoxyle (α -TO \cdot), physiologiquement régénérable. Ce radical entre en effet dans une chaîne de réactions de régénération faisant intervenir entre autres la vitamine C (Guillard, 2011).

La vitamine E radicalaire est régénérée par la vitamine C à l'interface cytosolique de la membrane, et l'interaction entre l'ascorbate (Asc) et le radical tocophéroxyl serait facilitée par le positionnement d'un noyau chromanoxyle à proximité de la surface de la membrane (Guillard, 2011). Une interaction synergique de la vitamine E et de l'ascorbate, qui avait été suggérée par Packer et al en 1979 s'est avéré assez efficace pour inhiber la LPO, non seulement en solution homogène, mais aussi dans les systèmes hétérogènes tels que les micelles, les membranes et les lipoprotéines. La combinaison d'(α -tocophérol et d'ascorbate était très efficace pour inhiber presque complètement l'oxydation des lipoprotéines et du plasma (figure09) (Niki et Traber, 2012).

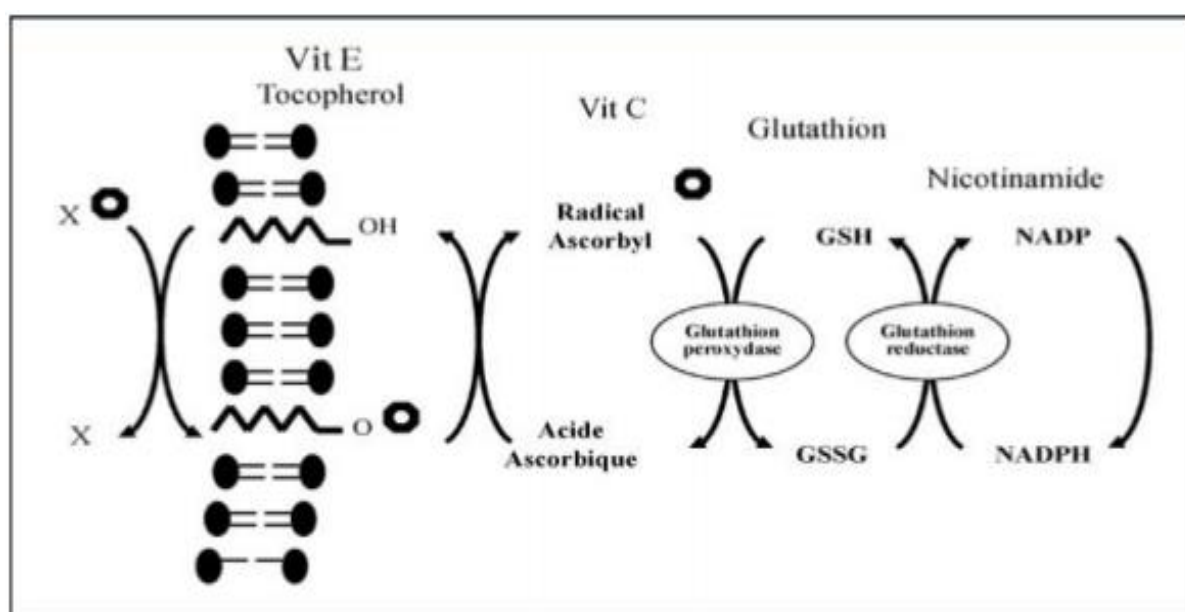


Figure09: Coopération entre les systèmes non enzymatiques et enzymatiques (Leverve, 2009).

Partie II : Etude Expérimental

Notre étude qui s'est étalée entre le mois de mars et le mois de juillet, et qui consiste à étudier les effets de régimes contenant de l'huile de tournesol oxydée et une huile de tournesol oxydée et carencée en vitamine E sur la teneur en MDA, l'activité de la CAT ainsi que sur l'histologie du tissu cérébral chez des rats de souches wistar âgé d'un mois, l'ensemble de ces dosages a été réalisé respectivement au centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC / Bou Ismail, Tipaza) et au niveau du laboratoire d'anatomie de l'hôpital Frantz-Fanon/Blida .

Vue que nous n'avons pas nous même réaliser la partie qui porte sur l'élevage et le sacrifice, nous ferons un rappel sur les animaux étudiés, l'élevage ainsi que la préparation des régimes.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

A. Animaux étudiés

Une huile de tournesol fortement oxydée par insufflation d'air à 98°C (**Drozdowski et Szukalska,1987**) a été administré a des rats pendant une durée de 4semaines.

- le premier lot reçoit un régime équilibré avec 5 g/100g d'aliments d'huile fraiche : lot témoin
- Le second lot reçoit un régime équilibré avec 5g/ 100 g d'aliments de cette huile oxydée : lot HO
- le troisième lot reçoit un régime carencé en vitamine E avec 5g / 100g d'aliments de cette huile oxydée : HOE

Les rats sont âgés de trois semaines quand débute l'essai nutritionnel, ils sont en plein croissance et le restent pendant le traitement. A cet âge, il est plus facile d'induire une carence en AGE (**Sinclair et Collins,1968 ; Foot et al., 1982**)

B. Elevage

Les expériences ont été réalisées sur des rats mâles de souche Wistar, qui ont été fournis par le centre d'élevage de l'Institut Pasteur de Kouba.

Après sevrage (3 semaines), 3 lots expérimentaux de 3 animaux chacun sont constitués. Les aliments sont donnés sous forme de poudre huileuse dans des boites de Pétri à raison de 25 g/ jour / rat, quantité recommandée (**Jadot, 1981**) et changés chaque jours, l'eau est donnée *ad libitum*.

Chaque cage contient un rat maintenu sur une litière de sciure sans qu'il ne soit possible d'éviter la coprophagie, ce qui peut éventuellement limiter l'apparition d'une carence en AGE, car les selles contenant de l'acide linoléique (**Holman, 1970**). La température de l'animalerie était de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ avec un cycle jour - nuit de 12 heures et une hygrométrie de 35 %. Les animaux reçoivent un régime en poudre composé d'aliments alpidique auxquels est incorporée soit de l'huile de tournesol fraîche, soit de l'huile oxydée, en raison de 5g/ 100g d'aliments. La teneur des aliments en différents constituants est semblable pour les trois régimes (tableau, annexe01).

I.1.2. Matériel non biologique (Annexe 02)

I.2. Méthodes

I.2.1. Dosage des protéines (Lowry et al., 1951)

A. Principe

Le dosage des protéines totales est déterminé par la méthode de **Lowry et al. (1951)**, C'est une mesure colorimétrique où l'addition d'un sel de cuivre en milieu alcalin puis du réactif de Folin-Ciocalteu à une solution protéique donne une coloration bleu foncé. Cette coloration résulte de la réaction du cuivre avec les liaisons peptidiques et la réduction de l'acide phospho-tungsto-molybdique par la tyrosine, le tryptophane et la cystéine. On réalise une gamme étalon de solution d'albumine à 1mg/ml (Annexe 03), l'absorbance est mesurée à 750nm après le développement de la couleur pendant 45 min à l'abri de la lumière.

B. Mode opératoire

❖ Extraction des protéines

- 9ml d'une solution de triton X-100 (0.5%) sont mis dans un tube Potter en présence de 100 mg de l'échantillon du cerveau, -l'échantillon est broyé par un broyeur homogénéisateur de Potter Thomas pendant 1min (figure 10),



Figure 10: Broyage des échantillons cérébraux à l'aide d'un broyeur homogénéiseur (photo original).

- 1ml de TCA à 1% est mis dans un tube en verre contenant 100 μ l de l'homogénat,
- Centrifugation à 4000 tr/min pendant 15min,
- Le surnageant est éliminé, et le culot est repris dans 1ml de TCA à 1% et centrifugé à 4000 tr/min pendant 15min,
- Le surnageant est éliminé une deuxième fois, les bords supérieurs des tubes sont séchés par la suite avec du papier filtre,
- Le culot est repris dans un mélange d'alcool/éther (v/v) et centrifugé à 4000 tr/min pendant 5min,
- Le surnageant est jeté, les bords supérieurs des tubes sont séchés par la suite avec du papier filtre.
- Lavage avec 1ml d'éther éthylique, et centrifugation à 4000 tr/min pendant 5min,
- Le culot parfaitement séché à l'air chaud, est repris dans 1 ml de NaOH (1M).

❖ Préparation des solutions de dosage

Solution A : préparée par mélange des trois solutions suivantes :

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

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

❖ Dosage des protéines

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

❖ Préparation de la courbe d'étalonnage

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

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

Tableau I: Gamme d'étalonnage réalisée à partir de la solution BSA

I.2.2. Dosage du malondialdéhyde (Draper, 1993)

A. Principe

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

B. Mode Opérateur

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

- -100 mg de l'échantillon du cerveau sont broyés en présence de 9 ml de tampon phosphate KH₂PO₄(0,2 M à pH=7,4),
- -1ml de TCA à 10 % sont mis dans un tube à essai, contenant 200 µl d'homogénat, -le mélange est mis à ébullition dans un bain marie à 100 °C pendant 30 min,
- -après refroidissement, le mélange est versé dans des tubes secs et centrifugé à 4000 tr/min pendant 10 min,
- -un volume du surnageant est récupéré, auquel est ajouté un même volume d'une solution aqueuse de TBA saturée,
- -Ce mélange est mis à ébullition dans un bain marie à 100 °C pendant 30 min, -après refroidissement, la densité optique est mesurée à 532 nm

C. Expression des résultats

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

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

[MDA] : concentration en MDA en n moles/mg de protéines.

DO : densité optique lu à 532nm.

[Protéines]: concentration de l'extrait en protéines (mg/ml)

I.2.3. Dosage de la catalase (Aebi, 1984)**A. Principe**

En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H₂O₂ en fonction du temps (Aebi, 1984).

B. Mode opératoire

- Broyer 100mg de l'échantillon de cerveau dans 9ml de triton X-100 à 1% à l'aide d'un homogénéisateur de Potter Thomas pendant 30-45 seconde sous glace
- Préparer le tampon phosphate (50mM a pH=7) (Annexe 05)
- Préparer la solution de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (30 mM) (tableau IV) (Annexe05)
- Lire l'absorbance a 240nm pendant un temps de 3 min (point chaque 30 secondes)
- Préparation des solutions :
- La Solution tampon phosphate
 - Dissoudre 6,81 g de KH₂PO₄ dans de l'eau distillée est compléter à 1000ml(a)
 - Dissoudre 8,82 g de Na₂HPO₄, 2H₂O dans de l'eau distillée est compléter à 1000ml (b)
 - -mélanger 1 ml de la solution (a) avec 1,5 ml de la solution (b)
 - -ajuster le pH=7.
- La Solution Peroxyde d'hydrogène (30 mM)
 - -diluer 0,34 ml de H₂O₂ à 30% avec la solution I jusqu'à 100ml.

Tableau II: Concentrations et quantités de réactifs nécessaires au dosage de l'activité catalase

	Témoin (blanc)	Essai
Solution I	1ml	/
Echantillon	2ml	2ml
Solution II	/	1ml

La lecture de l'absorption se fait à 240 nm durant 3 min. L'activité CAT est calculée selon l'équation suivant :

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

V: volume de l'échantillon

v: volume total,

Δt: temps de décomposition du H₂O₂

A1: absorbance à t₀

A2: absorbance à t (3min)

X : quantité des protéines mg/ml

I.2.4. Réalisation des coupes Histologiques

Les coupes histologique du tissu cérébrale des différents lots ont été réalisés au niveau du laboratoire d'Anatomie pathologique, de l'Hôpital Frantz-fanon /Blida. La technique utilisée est celle proposée par **Martoja et Martoja., (1967)** à l'hématoxyline/ éosine.

Les fragments du cerveau de chaque rat sont retirés du Formol 10 % et sont mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

▪ Déshydratation

Les échantillons sont ensuite déshydratés par l'agitation rapide d'un automate spécial (figure 11) afin éliminer l'eau des tissus. Cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'alcool de concentration croissante (70%, 90% et 100%).



Figure 11 : Automate de traitement des tissus (photo original).

▪ Inclusion

Les tissus sont alors plongés dans des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur). Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe.

Les blocs sont mis sur une plaque métallique réfrigérée (figure 12) pour obtenir une solidification rapide. les cassettes sont sont noté par un crayon pour ne pas confondre



Figure 12 : Module de refroidissement des blocs de paraffine (photo original).

▪ Coupes et coloration

Les blocs d'inclusions sont collés sur un porte-échantillon, les coupes sériées sont réalisées à l'aide d'un microtome (l'épaisseur est de 4 à 7 microns). Ces coupes sont étalées et fixés sur des lames gélatineuses.

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Héματοxyline-Eosine (ou HéματοéineEosine) selon les étapes suivantes (figure13):

- Déparaffiner et hydrater les lames dans du xylène pendant 30 min et passage dans 3 bains d'alcool à concentration décroissante 100% -90% -70%, chacun pendant 3min,
- Lavage 1 min à l'eau du robinet,
- Immerger 5 min dans un bain d'Héματοxyline de Groat, qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux),
- Rinçage des lames 5 min à l'eau courante,
- Immerger dans un bain d'Eosine (30 secondes) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme),
- Déshydrations des lames dans 3 bains d'alcool à concentration croissante 70-95-100,
- Mise en contacte lame-lamelle,
- Observation au microscope photonique à Gr: *40 puis *100,
- Prise de photos micrographiques.



Figure 13:la coloration Héματοxyline-Eosine (photo original).

I.3. Etude statistique

L'analyse statistique des résultats est réalisée par le test de t-student en utilisant le logiciel XLSTAT. Ce test à permet de comparer les moyennes des différents lots expérimentaux. Les résultats sont exprimés comme: moyenne plus ou moins l'écart type et sont considérés comme:

- significative lorsque ($P \leq 0,05$),
- Très significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$),
- Hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).avec (P): seuil de signification

II.1. Effets de l'ingestion d'un régime alimentaire contenant une huile oxydée et huile oxydée et carencée en vitamine E sur les paramètres pondéraux

II.1.1. Variation du poids corporel

Le suivi du poids corporel des rats nourris avec différents régime a été réalisé tous les 3 ou 4 jours, (Figure 14 et Annexe 04)

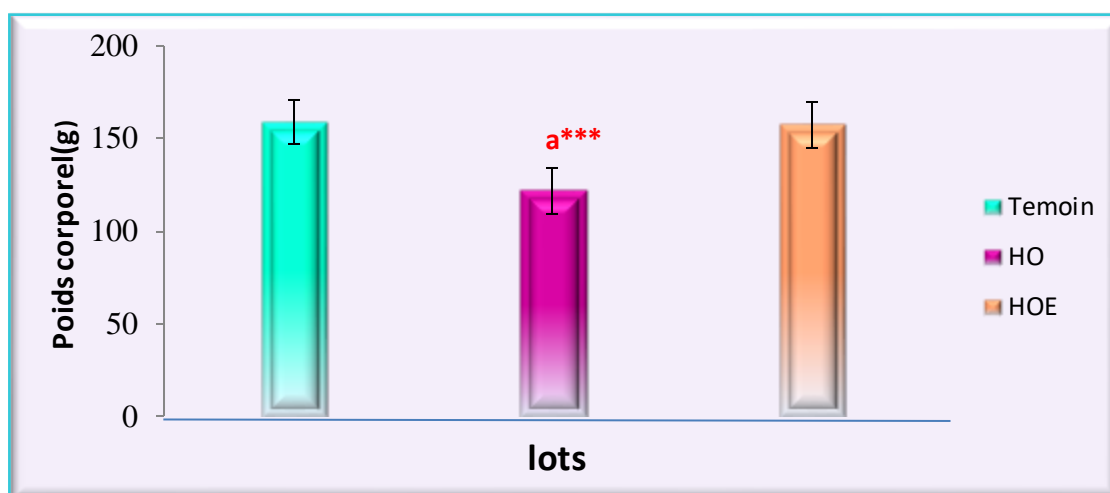


Figure 14 : Evaluation des poids corporels chez les rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ entre témoin et groupe traités). Entre témoin et 2 lots traités ; a : comparaison avec le lot témoin, b : comparaison avec le lot HO

Nous supposons que le ralentissement de croissance est dû à l'ingestion d'esters oxydés contenu dans l'huile oxydée et que cette huile a provoqué une toxicité par la présence de dérivés oxygénés et d'un apport lipidique moindre, mais également par la diminution de l'utilisation digestive des protéines, il vrai que **Nielson et al. (1984)**, rapportent, que la plupart des acides aminés réagissent avec les produits primaires et secondaires des lipides oxydés ceci diminue l'utilisation digestive des protéines, des acides aminés et des graisses, ce qui induit une baisse de croissance.

Notons que nos résultats corroborent avec un nombre important d'études réalisées par de nombreux auteurs :

Blanc-Gondarmary, (1989), a lui aussi obtenue une réduction de croissance allant de 20 à 23 % chez des rats nourris pendant 1 mois avec un régime contenant 4% d'huile de tournesol oxydée pendant 30h à 98°C ; d'autre auteurs, en particulier **Vilas et al. (1976)**, ont obtenu une réduction de poids corporelle de rats nourris pendant 14 semaines avec une huile de maïs oxydées **Lopez Valeras et al. (1994)**, ont eux aussi obtenu une réduction de

croissance après ingestion pendant 4 semaines d'une huile de tournesol oxydée pendant 10 heures à 180°C.

En 1993, **Osim** a réalisé une étude sur les effets de la consommation chronique d'une huile de palme thermooxydée sur le poids corporel, il a constitué 3 groupes de rats albinos nourris respectivement avec 15 % d'huile de palme thermooxydée, 15% d'huile de palme fraîche et un lot témoin nourri avec un régime standard sur une période de 10 mois, il a obtenu une baisse significative du poids corporel chez les rats nourris avec 15% d'huile de palme oxydée par rapport au lot nourris avec un régime contenant 15% d'huile fraîche.

Kanane et al. (2018); Rouaki et Kanane (2019), ces auteurs ont montré que 5% d'huile oxydée réduit de manière significative le poids corporel, ce qui peut être dû aux dommages cellulaires causés par l'augmentation de la peroxydation lipidique et à la production de ERO. Pour le lot HOE, nous n'avons obtenus aucune variation significative du poids corporel par rapport au lot HO après 4 semaines de traitement, nous supposons que la carence en vitamine E n'a pas eu d'effet sur la croissance des rats. Notre hypothèse est confirmée par **Minakata et al.** Qui a stipulé en 1987 que la déficience en vitamine E n'a aucun effet apparent sur le poids des rats ni sur leur santé avant 4 mois.

Notons que nos résultats corroborent les observations faites par **Vilas et al. (1975)**, qui n'ont pas observées de variation de poids corporel de rats nourris avec un régime carencés en vitamine E et contenant de l'huile oxydée aux taux 7% et ceci par rapport au témoin et après 8 semaines de traitement. En 1984, **Csallany et al.** N'observèrent aucune différence entre le poids corporel d'un lot de rats nourris avec de l'huile oxydée et carencé en vitamine E et le lot témoin.

II.1.2. Variation du poids cérébral

La variation du poids du tissu cérébral des rats témoins et nourris avec des régimes contenant une huile oxydée et une huile oxydée et carencée en vitamine E, sont représentés dans la (Figure 15 et Annexe 05)

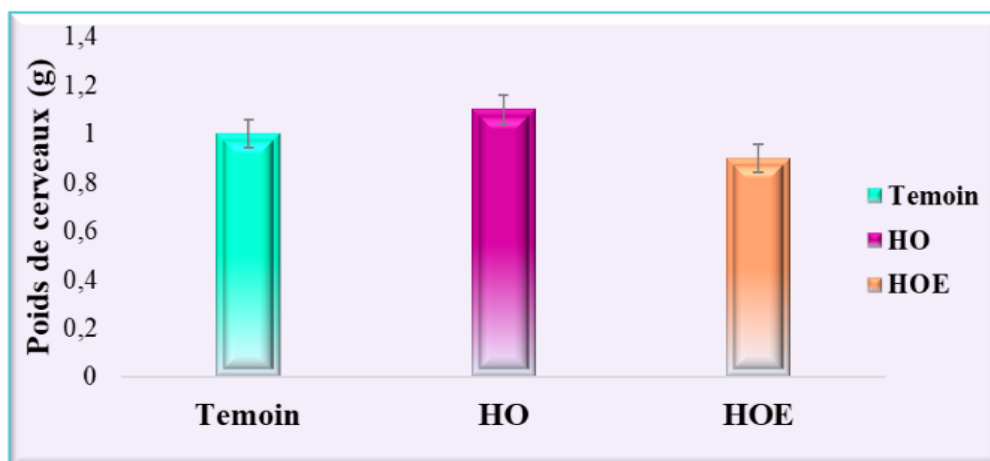


Figure 15 : Evaluation des poids cérébraux chez les rats en croissance. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ entre témoin et groupe traités). Entre témoin et lots traités ; **a** : comparaison avec le lot témoin, **b** : comparaison avec le lot HO

Nous n'observons aucune variation du poids des hémisphères cérébraux rapportés à 100g de rats, il est connu que le cerveau, est un organe hautement protégé par la barrière hémato-encéphalique.

II.2. Effets de l'ingestion d'un régime alimentaire contenant une huile oxydée sur le taux en malondialdéhyde et l'activité de la catalase du tissu cérébral

Les résultats obtenus lors de la mesure des deux paramètres intervenant au cours du stress oxydatif, à savoir le MDA et la CAT, ont montré chez le lot huile oxydée une augmentation du taux en MDA et une baisse hautement significative de l'activité de la catalase par rapport au lot témoin (Figure 16 et annexe 05) :

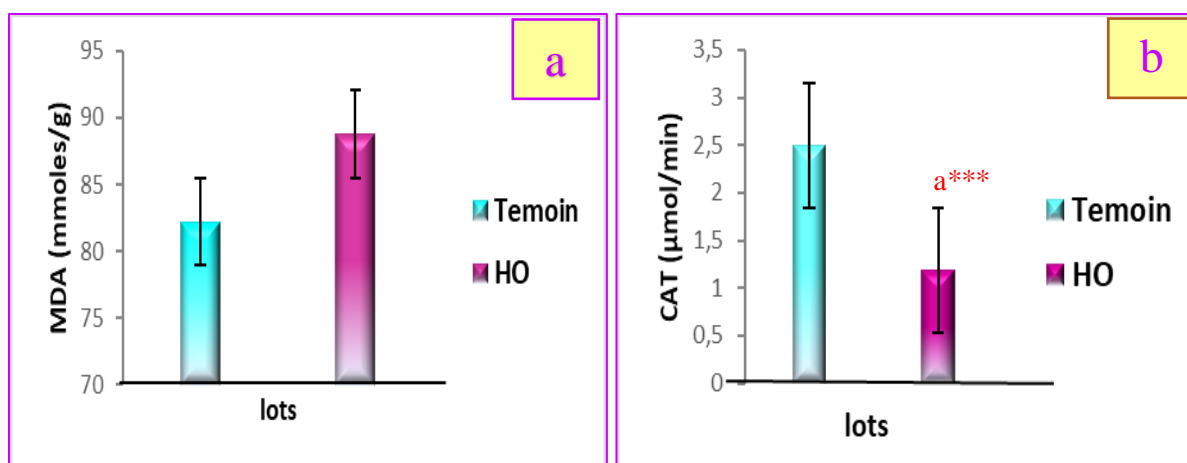


Figure 16: Effets de l'huile oxydée sur le taux en MDA (Figure 16. a) et l'activité de la catalase (figure 16. b) au niveau du tissu cérébrale chez des rats de souche wistar, par rapport au lot témoin. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Entre témoin et 2 lots traités ; **a** : comparaison avec le lot témoin, **b** : comparaison avec le lot HO

Il est largement connu que les protéines sont des cibles importantes des dommages oxydatifs médiés par les ERO ; c'est dans ce contexte que nous pouvons émettre l'hypothèse que le résultat de la baisse significative concernant l'activité de la catalase peut être interpréter par le fait que la catalase étant une protéine, elle a pu être altérer par les composants toxique contenue dans l'huile oxydée surtout que cette baisse est accompagnée de l'augmentation significative du taux en MDA qui due à l'effet toxique de l'huile oxydée. Selon **Sharma et al. (1999)**, une élévation des radicaux libres est liée à la diminution de l'activité des enzymes antioxydants (SOD, CAT et GPx).

Une étude réalisée par **Ammouche et al.** en 2002, et mené sur des rats Wistar nourris d'un régime contenant 5% d'une huile de tournesol oxydée pendant 48 heures sous insufflation d'air sur une période de 3 mois, à montrer une augmentation du taux en MDA au niveau du cerveau, ils déduisent que ces résultats sont due à l'effet toxique de cette huile oxydée.

En 1989, une autre étude similaire avait été réaliser par **Blanc- Grandardmary** qui avait administré une huile de tournesol oxydée pendant 30 heures à 100 °C au taux de 4%, leur observation à révéler une augmentation de la teneur en TBA-RS au niveau du cerveau, eux aussi ont conclue à un effet toxique d'huile oxydée qui avait induit cette augmentation.

De même, **Izaki et al. (1984)**, ont montré qu'après une ingestion pendant 13 semaines de 15% d'huile oxydée, celle-ci induit le doublement de la concentration hépatique en MDA.

En effet en 2009, une étude réalisée par **Bharthan et al.** Ont montré que le lipopolysaccharide (LPS) provenant d'*E. Coli* (serotype 0111 : B4) induis un stress oxydatif chez des rats de type Wistar, ils obtiennent une augmentation significative du MDA accompagnée d'une diminution significative de L'activité de la CAT par rapport au témoin. Ils déduisent que les LPO peuvent causer des dommages aux niveaux des membranes à savoir la fluidité et la perméabilité et peuvent également augmenter la vitesse de dégradation des protéines.

D'ailleurs de **Castroet al. (2009)**, ont eux aussi obtenue que la diminution de l'activité enzymatique de la catalase est du probablement à une production accrue d'ERO, et à leur accumulation intracellulaire qui dépasse la capacité de détoxification des enzymes antioxydants, ce qui entraine le développement ultérieur de lésions tissulaires

D'autres études montrant l'effet du stress oxydatif induit par d'autres composants autre que l'huile oxydée sont à citer :

Le Polychlorinate Biphényl (PCB), également connu sous le nom de l'Aroclor 1254, polluant environnemental retrouvé dans la chaîne alimentaire, déjà étudié par **Brown et al. En (1987)**, ces derniers ont montré qu'une fois dans l'organisme, il sera transporté par le sang dans différents organes à savoir le foie, le muscle et le tissu adipeux ou il sera accumulé dans celui-ci du fait de sa nature lipophile. Le PCB est connu comme étant un médiateur de ROS, donc Inducteur du stress oxydatif. Plusieurs études ont montré qu'il affecte le système enzymatique de protection contre la peroxydation lipidique. Nous citerons quatre études pour montrer ses effets en tant qu'inducteur de stress oxydatif ainsi que son action sur les enzymes

antioxydantes : dans l'ensemble de ces études le PCB a été administré par voie intrapéritonéale à une dose de 2 mg/kg poids corporel/jour et ceci pendant 30 jours à des rats de souche Wistar adulte de 3 mois :

La première étude réalisée en **2004** par **Senthil kumar et al.**, sur des cellules de Sertoli, les résultats obtenus ont montré une augmentation significative des LPO, et une diminution significative de la SOD, de la GPx, de la CAT et de la GR.

En **2007**, trois études ont été réalisées, l'une portant sur le fémur (**Ramajayam et al.**), la seconde sur le sperme (Krishnamorthy et al.), et la troisième sur différentes régions du cerveau (**Sridevi et al.**), toutes trois ont montré une augmentation significative des LPO, les études menées par **Ramajayam et al. Et Krishnamorthy et al.** Quand elles ont montré une diminution significative de la SOD et de la GPx ; **Krishnamorthy et al.**, ont également dosé la CAT, la GR ainsi que l' α T, les résultats ont montré une baisse significative de l'ensemble de ces paramètres.

En **2011**, **El-Gendy** réalisa une étude montrant l'effet de l'aluminium chez des rats mâles de type albinos. Son étude a été réalisée sur quatre organes à savoir, le foie, le cerveau, le rein et le testicule. Il obtint une élévation de la peroxydation lipidique au niveau des quatre organes étudiés, qui est traduite par l'augmentation de la production en MDA. Ceci suggère la participation des radicaux libres induisant une oxydation cellulaire provoquée par la toxicité de l' Al^{3+} . Selon **Stevanovic et al. (2008)**, le mécanisme d'action de l' Al^{3+} induit des changements provoquant des réarrangements lipidiques, les lipides membranaires peuvent être attaqués et ainsi faciliter la propagation de la peroxydation lipidique touchant à l'intégrité

de la membrane, diminuant sa fluidité, détruisant les récepteurs et les canaux ioniques et aboutissant finalement à la mort cellulaire.

En 2012, **El-mahder et al.**, réalisent une étude afin d'évaluer le potentiel d'une hépatotoxicité et l'effet oxydant du Khat (*Catha edulis*), les résultats ont montré une augmentation significative de la teneur en MDA au niveau du sérum, du foie et du rein de rats males de type albinos traités par le Khat t ceci par rapport au témoin. Ils expliquent ces résultats par le fait que quelques constituants du Khat (spécialement les alcaloïdes) peuvent être convertis en des métabolites prooxydant, ou induisent la diminution de la synthèse/activité du système antioxydant (**Al-Hashem et al., 2011**).

Stadtman et Levine (2000), ont énoncé que les résultats les plus fréquents de modifications oxydatives des protéines sont : une diminution de l'activité enzymatique, une stabilité plus faible face à la chaleur, une hydrophobicité augmentée et une susceptibilité plus forte à la dégradation protéolytique. D'après **Favier (2003)**, la diminution de la teneur en protéines est due au faite de leur sensibilité aux attaques radicalaires, surtout celles qui comportent le groupement sulfhydryle(SH), c'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire, les protéines peuvent alors subir des réticulations par formation des ponts bi-tyrosine détectables par fluorescence, soit subir des coupures en cas d'agression forte, soit des modifications de certains acide aminés en cas d'agression modéré.

En finalité les résultats obtenus lors de la présente étude viennent corroborer l'ensemble des résultats obtenus par les auteurs cités, nous avons montré que l'huile oxydée avait réellement un effet toxique confirmé par l'augmentation du taux en MDA dans le tissu cérébrale accompagné par la baisse de la cat L'augmentation significative du MDA accompagnée de la diminution significative des enzymes intervenants dans la détoxification des lipoperoxydes (LPO) notamment la CAT, a été décrite dès **1966** par **Roubal et Tappel**, qui ont indiqué que les effets nocifs des LPO sur les protéines consistaient en des dénaturations plus ou moins marquées se traduisant par des baisses de solubilité.

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

II.3. Effets de l'ingestion d'un régime alimentaire contenant une huile oxydée et carencée en vitamine E sur la teneur en malondialdéhyde et sur l'activité de la catalase au niveau du tissu cérébral

Les résultats que nous avons obtenu lors du dosage du taux en MDA et de l'activité de CAT des rats nourris avec un régime contenant 5% d'huile oxydée et 5% d'huile oxydée et carencée en vitamine E ont montré une diminution du taux en MDA chez le lots HOE par rapport au lot HO et une augmentation significatif de l'activité de CAT pour le lots HOE et ceci par rapport au lot HO (figure17)

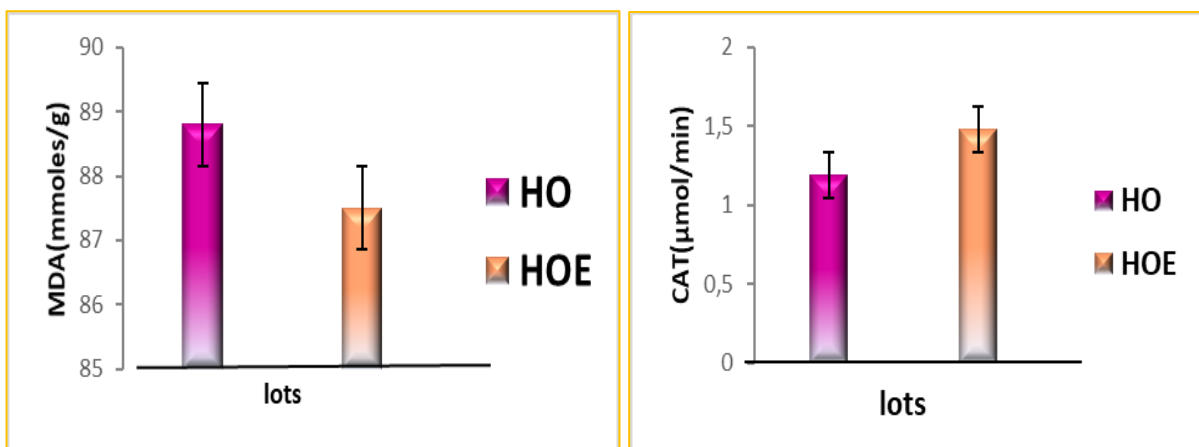


Figure 17 : Effet de la supplémentation en huile oxydée et huile oxydée carencée en vitamine E (HOE), au niveau du tissu cérébrale chez des rats en croissance, par rapport aux lots témoin. Chaque barre représente la moyenne \pm SE (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Entre témoin et 2 lots traités ; **a** : comparaison avec le lot témoin, **b** : comparaison avec le lot HO

Très peu d'étude ont traité la carence en vitamine E en présence d'un stress oxydative, nous essayerons dans notre cas d'apporter le plus d'information sur le lot HOE que nous allons comparer au lot HO :

Benedetti et al. (1990) , ont observé que chez des rats nourris pendant 2 semaines d'un régime contenant 15 % d'huile de soja chauffée à 180 ° C pendant 48 heures induit une augmentation de la teneur en TAB - RS dans le cerveau avec l'Age. D'autres types de protection sont vraisemblablement actifs pendant la maturation cérébrale, ainsi la concentration en vit E au niveau du cerveau augmente considérablement chez le rat entre la naissance et le moment de sevrage (**Chaudière et al., 1988**) ; dans notre étude, chez le lot huile oxydée et carencée en vitamine E, le régime était équilibré en vit E durant toute l'expérimentation et du fait de sa demi - vie assez longue qui est de 29, 4 jours, il a pu masquer la carence en vitamine E chez le lot huile oxydée et carencée en vitamine E et donc remplir un rôle important dans la détoxification des lipoperoxydes durant le stade de croissance ce qui

explique la variation non significative de l'activité de la CAT pour le lot HO ET HOE.

II.4. Effets de l'ingestion d'un régime alimentaire contenant une huile oxydée et une huile oxydée et carencée en vitamine E sur l'histologie du tissu cérébral

L'examen histologique du lot témoin a montré un parenchyme cérébral à aspect normal contenant des neurones pyramidaux au niveau du cortex cérébral et présentant de petits noyaux ronds qui leur sont associés, connus comme des cellules satellites nommées oligodendrocytes de la matière grise (figure 18)

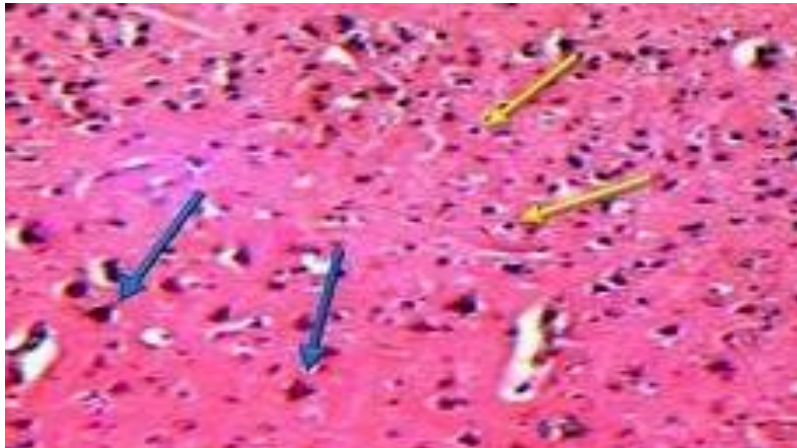


Figure 18 : Micrographie du parenchyme cérébrale (10×, H&E) montrant architecture normale chez le lot "témoin" flèche bleue : neurone pyramidal, flèche jaune : oligodendrocytes

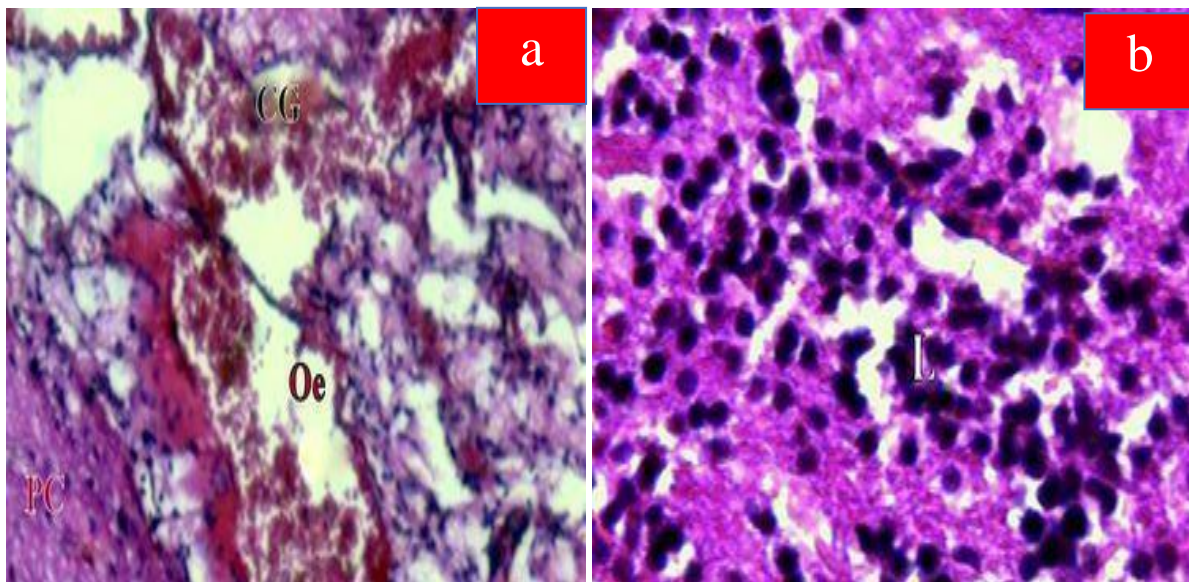


Figure 19 : Micrographie du parenchyme cérébrale du lot huile oxydée HO, montrant la présence d'un œdème et de congestions à la périphérie du tissu cérébral (figure 19.a) et une infiltration lymphocytaire (figure 19.b) (40×, H&E). PC: parenchyme cérébral, Oe: œdèmes, CG: congestion L: infiltration lymphocytaire

Ces observations suggèrent que l'oxydation de huile a induit la formation de composée toxique qui ont altéré le parenchyme cérébrale confirmé par la présence de congestion, infiltrat lymphocytaire, sachant que la vitamine E a un effet protecteur

Le principal site des dommages des radicaux libres dans les cellules cérébrales sont les mitochondries, en effet, selon **Singal et al.(1983)**, l'attaque extensive des radicaux libres contribue aux dommages de l'ADN dans les mitochondries qui ne peuvent plus fonctionner d'une manière normale ce qui induit la mort cellulaire. Il apparaît que les radicaux et les aldéhydes issus de la lipoperoxydation endommagent toutes les membranes et par la même les organites subcellulaires ainsi que les protéines (enzymes notamment) et le génome, leur action sur la membrane des lysosomes est lourde de conséquences, car elle peut conduire à leur rupture qui s'accompagne de la libération d'enzymes catalysant l'hydrolyse des protéines, des acides nucléiques et des polysaccharides cellulaires (dépolymérisation de l'acide hyaluronique) (**Pre,1991**).

Les coupes histologiques du tissu cérébral obtenu chez les rats nourris avec un régime contenant huile oxydée et carencé en vitamine E montrent la présence d'un foyer nécrotique avec densification et dystrophie neuronales (Fig. 20. a, b) :

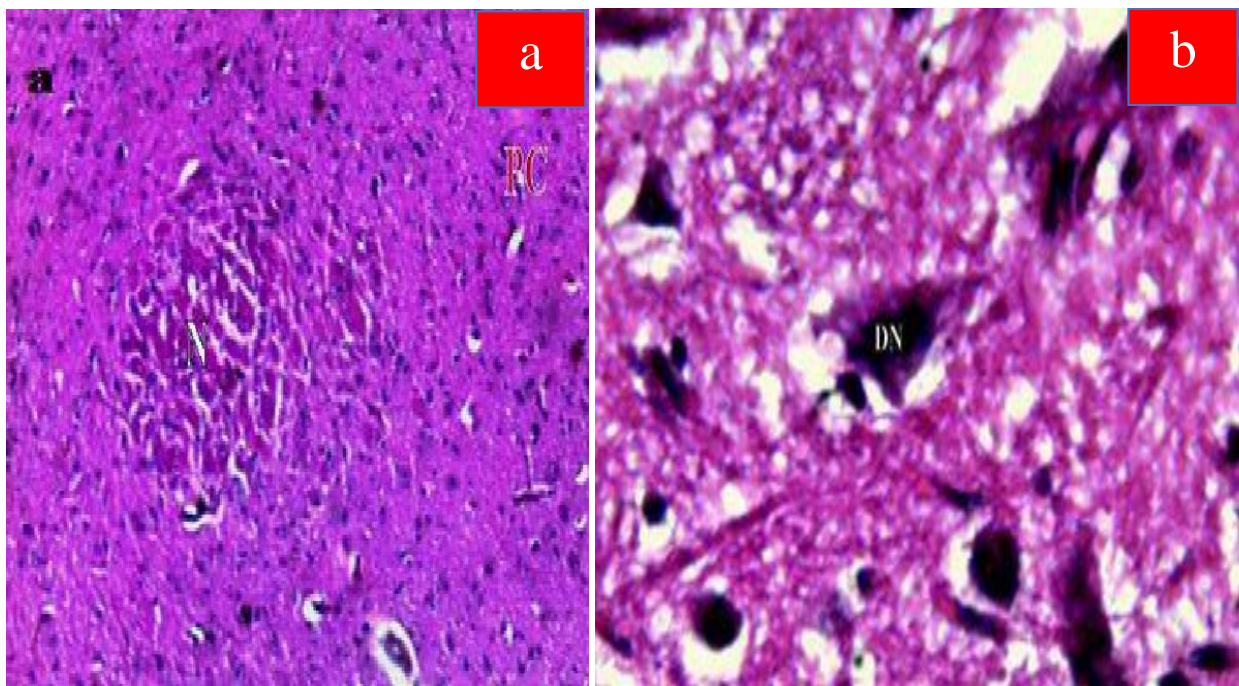


Figure 20 : Micrographie du parenchyme cérébral du lot HOE montrant la présence d'un foyer nécrotique ; (a):(10×, H&E), (b) : (40×, H&E). PC : parenchyme cérébrale, N: foyer nécrotique, Nc: cellules nécrotiques. Montrant la présence d'une densification et dystrophie neuronales ; DN : densification neuronale

Ces observations peuvent être le résultat de la présence de composés toxiques contenues dans l'huile oxydée et non pas la carence de la vitamine E, car rappelons que dans notre étude, chez le lot huile oxydée et carencé en vitamine E, le régime était équilibré en vitamine E durant toute l'expérimentation du fait de sa demi - vie assez longue qui est de 29, 4 jours, il a dû masquer la carence en vitamine E chez ce lot.

En effet, selon **Ferry et al.(2012)**, la vitamine E est l'un des antioxydants les plus puissants, elle protège les membranes cellulaires des effets de la peroxydation, elle a donc un rôle de stabilisateur des membranes, y compris les membranes neuronales. Elle interrompt le phénomène de peroxydation lipidique en captant les radicaux peroxydes et en prévenant la propagation du processus de la lipoperoxydation. Ainsi, l'activité antioxydante de la vitamine E à la capacité d'éviter l'apparition de maladies chroniques, particulièrement celles causées par un composant du stress oxydatif : comme les maladies neurodégénératives, cardiovasculaires, l'athérosclérose et le cancer (**Stampfer et al., 1993 ; Nwanguma et al., 1998**).

La fonction antioxydante de la vitamine E dépend de plusieurs facteurs, à savoir les conditions de stress (modérées ou fortes) et la présence de co-antioxydants. Il est connu que l'augmentation de la concentration en αT aboutit à l'augmentation des radicaux a-tocopheroxyl, qui peuvent amorcer la cascade de peroxydation des lipides (**Upson et al., 1999**).

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

Quand le système antioxydant est équilibré, cette action pro oxydante de l'a - tocopheroxyl est inhibée par les co-antioxydants. Cependant, les concentrations élevées d' α surproduisent des radicaux a-tocopheroxyl, qui ne peuvent plus être efficacement désintoxiqués par les co-antioxydants (**Stocker, 1999**). C'est ce mécanisme cité par Stocker qui a été observé dans la présente étude, d'où une toxicité plus importante chez le groupe HOE que chez le groupe OH.

Conclusion et perspectives

Conclusion

Dans la présente étude, notre objectif consistait à évaluer l'impact de l'huile oxydée et l'huile oxydée et carencée en vitamine E sur les paramètres pondéraux (poids corporel et poids cérébral), l'activité de la CAT (enzyme impliquée dans la protection contre la peroxydation lipidique), la teneur en MDA (biomarqueur de la lipoperoxydation), et enfin étudier les modifications histologique du tissu cérébral, l'ensemble de cette étude a été réalisée sur des rats de souche wistar traités pendant 4 semaines :

Au terme de cette étude expérimentale, il ressort clairement que :

- **sur le plan de la croissance** : L'ingestion de cette huile oxydée provoque une réduction significative de la croissance chez le lot HO par rapport au témoin, ce qui montre l'effet toxique de cette huile ; néanmoins, nous n'observons aucune variation significative du paramètre pondéral pour le lot HOE par rapport au lot HO, ceci laisse supposer que la carence de la vitamine E n'a pas eu un impact sur la croissance.

- **sur le plan du poids cérébral** : son étude révèle l'absence de variations significatives pour l'ensemble des lots, notons qu'il est connu que le cerveau, est un organe hautement protégé par la barrière hémato- encéphalique.

- **sur le plan métabolique** : les résultats obtenus chez le lot HO montrent une augmentation non significative de la teneur en MDA, accompagnée d'une diminution hautement significative de l'activité de la CAT par rapport au témoin, là aussi nous incriminons l'effet toxique de l'huile oxydée comme étant la cause de ces variations ; concernant le lot HOE nous avons obtenu des variations non significatives de la teneur en MDA et de l'activité de la CAT, ce qui nous permet de confirmer que la carence en vitamine E n'a pas affectée ces paramètres.

- **sur le plan cellulaire** : L'examen histologique du lot témoin, a montré un parenchyme cérébral normal, cependant chez le lot HO, on a observé un œdème avec une importante congestion du parenchyme cérébrale, ainsi que la présence d'un amas lymphocytaires. Enfin, l'histologie du lot HOE révèle la présence d'un foyer nécrotique avec densification et dystrophie neuronales.

Nous pouvons dire que les membranes cellulaires cérébrales sont riches en AGPI sensibles aux attaques radicalaires, ce qui fait que le système nerveux dépend étroitement de son potentiel de protection contre la peroxydation. Nous avons observé dans notre étude que l'activité de la CAT augmente d'une manière hautement significative, ce qui laisse penser que cette enzyme intervient dans la détoxification des composés toxiques générés par l'oxydation de l'huile. Notons également que l'étude histologique du tissu cérébral des rats du lot HO et HOE a montrée d'importantes altérations causées par cette même huile.

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

- Un essai nutritionnel sur une durée plus longue devrait être envisagé pour provoquer des perturbations lipidiques plus marquée dans le foie et le cerveau et rechercher un effet létal à long terme, ainsi qu'une répétition des essais avec des doses variables d'huile oxydée,
- Pourquoi y a-t-il eu maintien du poids des rats nourris avec un régime à base d'huile oxydée et carencé en vitamine E ?
- Le dosage de la teneur en vitamine E au niveau tissulaire et dans les excréments devrait être effectué, pour mieux évaluer la part utilisée,
- Le dosage des acides gras devrait être envisagé vue leurs importances dans les membranes cérébral,
- Parmi les enzymes de protection, il reste à évaluer les activités de la SOD et de la GPx dans les mêmes conditions, du fait qu'elle intervient d'une manière majoritaire dans la détoxification des radicaux libres.
- Et enfin, qu'en est-il de l'évolution du système de protection au cours du vieillissement ? En effet, selon **Haliwell et Gutteridge (1986)**, la peroxydation lipidique semble augmenter dans les tissus plus vieux, qu'elle est alors la situation de ces mécanismes de protection ?

Références bibliographiques

- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., et Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.
- Albahrani, A. A., et Greaves, R. F. (2016). Fat-soluble vitamins: clinical indications and current challenges for chromatographic measurement. *The Clinical Biochemist Reviews*, 37(1), 27.
- Alexander, J.C., Kok, T.S., Harris, P.G. (1988). Dietary protein level and oxidative stress in the livers of rats fed heated canola oil. *Nutr. Res.* 8: 673-684.
- Al-Hashem, F.H., Bin-Jaliah, I., Dallak, M.A., Nwoye, L.O., Al-Khateeb, M., Sakr, H.F., Eid, R.A., Al-Gelban, K.S., Al-Amri, H.S., Adly, M.A. (2011). Khat (*Catha edulis*) extract increases oxidative stress parameters and impairs renal and hepatic functions in rats. *Bahrain. Med. Bull.* 33: 32-36.
- Al-Mahdar, A.A., El-Denshary, E.S., Abdel-Wahhab., M.A. (2012). Alpha lipoic acid and alpha-tocopherol counteract the oxidative stress and liver damage in rats sub-chronically treated with Khat (*Catha edulis*) extra. *Global Journal of Pharmacology.* 6 (2): 94-105
- Ammouche, A., Rouaki, F., Bitam, A., Bellal, M.M. (2002). Effect of ingestion of thermally oxidized sunflower oil on the fatty acid composition and antioxidant enzymes of rat liver and brain in development. *Ann. Nut. Metab.* 46 (6): 268-275
- Ayala, A., Muñoz, MF et Argüelles, S. (2014). Peroxydation lipidique: production, métabolisme et mécanismes de signalisation du malondialdéhyde et du 4-hydroxy-2-nonéal. *Médecine oxydative et longévité cellulaire* .
- Bargan, J .G., et Draper H . H (1970). Absorption and metabolism of (14C)-methyl linoleate hydroperoxyde . In *Lipids* , 5 pp 975-982.
- Benedetti, C.P., Difelice M., Gentili V ., Tagliamonte B ., TOMASSI G.(1990).Influence of dietary thermally oxidized soybean oil on the oxidative status of rats of different ages In *Ann Nutr Metab* n°34,pp 221-231
- Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.
- Bharrhan, S., Chopra, K., Rishi, P. (2010). Vitamin E supplementation modulates endotoxin- induced liver damage in a rat model. *Am J Biomed Sci.* 2 (1): 51– 62
- Blanc –Gondardmary, P. (1989) . Chronical ingestion of oxidized oil in young rat effect on lipid composition and cytidyl transferase activity .thèse de doctorat

Références bibliographiques

- Bonnefont-Rousselot, D. et al. (2007) « Les Vitamines », p. 363
- Bourgeois, C. (2003). Les vitamines dans les industries agroalimentaires éditions TEC et DOC.11- 656..
- Buard, A.(1988).Etude des mécanismes de protection contre la peroxydation au niveau des microvaisseaux cérébraux de rats au cours du développement.DEA. Toxicologie Fondamentale et appliquée.
- Chaudiere, J .,ClemenT M.,Driss F. et Bourre J.M .(1987). Unaltered brain membranes after prolonged intake of highly oxidizable long –chain fatty acids of the (n-3) series IN Neuroscience Letters ,Vol 82,pp 233-239 .
- Cillard, J., et Cillard P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. Oleagineux, corps gras, lipides, 13(1), 24-29.
- Colas, R.(2010)Syndrome métabolique et diabète chez l'Homme. Composition lipidique et oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) plasmatiques en relation avec l'activation des plaquettes sanguines.Université de Lyon-Institut National des Sciences Appliquées de Lyon., France., PP 1-192
- Combe, N., Constantin M.J et Entressengles B.(1978).Etude sur les huiles chauffées IV-Absorption intestinale des espèces chimiques nouvel formées lors du chauffage des huiles.In revue francaise des corps gras n°10 483-488.
- Combs, J. R. et McClung J.P. (2016). Les vitamines: aspects fondamentaux de la nutrition et de la santé . Presse académique
- Craste de Paulet, A .(1986).Lipides et physiologie tissulaires ,Lipides membranaire et physiologie cellulaire.In Lipides et santé quelle vérités , Information aux médcin , Boulogne billancourt,Lesieur , pp 72-91
- Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L. (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. Annales de Médecine Vétérinaire, 147, 315-324.24.
- D. Hollander. (1981) Intestinal absorption of vitamins A, E, D, and K. Journal Laboratory and Clinical Medicine, 97, 449-462.
- D.P.R. Muller, J.T. Harries and J.K. Lloyd. (1974) The relative importance of the factors involved in the absorption of vitamin E in children. Gut, IS, 966-971.
- Daenen, K., Andries, A., Mekahli, D., Van Schepdael, A., Jouret, F., & Bammens, B. (2019). Oxidative stress in chronic kidney disease. Pediatric nephrology, 34(6), 975-991.

Références bibliographiques

- Daum-badouard, C. (2006). Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation .Thèse Université joseph fourier-grenoble.
- De Castro, M.A.C., Cavalcanti Neto, F.F., Lima, L.M.C., da Silva, F.M., de Oliveira, R.J., Zanesco. A. (2009).Production of free radicals and catalase activity during acute exercise training in young men.Biology of Sport, 26(2), 114-118.
- Deaton, CM. Marlin, DJ. (2003). Exercise-associated oxidative stress. Clinical Techniques in Equine Practice, Vol 2(3), pp. 278-291
- Delattre, J., Thérond, P., Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris : Lavoisier, 2005 : 281-309.
- Descamps, E., Gelé, P., Bordet, R., & Vamecq, J. (2006). Modulation pharmacologique du stress oxydatif. La Lettre du pharmacologue (Boulogne), 20(4), 107-118.Disorders/Int.J.Mol.Sci.(2013);14(12):24438-24475; Doi:10.3390/ijms141224438.
- Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (Cahiers de Nutrition et de Diététique, 48(5), 218-224.(2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux.
- Drozdowski, B. and, E. () A rapid instrumental method for evaluation of the stability of fats. J. Am. Oil Chem. Soc. 64, 1008– 1011.
- El-Gendy, A.M. (2011). Amelioration of aluminium - intake oxidative stress by some antioxidants in male albino rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine. 45: 536 – 546.
- Entressangles B.,(1986) .Des acides gras aux matières grasses alimentaires : matière grasses alimentaires. Généralités in lipides et santé :quelles vérités,informations aux médecins , boulogne billancourt, lesieur , pp 2-13.
- Favier A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique,270 : 108-115.
- Ferry, M., Mischlich, D., Alix, E., Brocker, P., Constans, T., Lesourd, B., Pfitzenmeyer, P., Vellas B. (2012). Nutrition de la personne agée. Elsevier Masson. 368 • Stampfer, M., Hennekens, C., Manson, J., Colditz, G., Rosner, B. and Willett,

- W. (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *N. Engl. J. Med.* 328:1444 –1449.
- Foot M ., Cruz T.F et Caldinin M.T. (1982). Influence of dietary fat on the lipid composition of rat brain synaptosomal and microsomal membranes . In *Biochimem.J* .,208, pp 631-640.
 - Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual review of biochemistry*, 64(1), 97-112.
 - Gardner, H. W. (1989). Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids. *Free Radical Biol. Med.* 7:65-86.
 - Gerald, F., Combs, J.R. (2012). *The Vitamins*, 4th Edition. Academic Press.600.
 - Guillaud, J. C. (2011). Les interactions entre les vitamines A, D, E et K: synergie et/ou compétition. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 18(2), 59-67.
 - Guillaud, J.C. (2009). Vitamines liposolubles (A, D, E et K). EMC - Endocrinologie - Nutrition, 6 (4), 1–21. doi: 10.1016 / s1155-1941 (09) 49502-7
 - Combs Jr, G. F., et McClung, J. P. (2016). *The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health*. Academic press
 - Guillaumin, R. ,Gente-Jauniaux M et Barbatic . (1977) . Etude sur les huiles chauffées : 1-préparation et caractéristique chimique des huiles darachide , palme,soja et tournsol chauffées a 220°C . In revue francaise des corps gras n°10 pp 477-481.
 - Gutteridge, J. M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 41(12), 1819-1828.
 - Hertwig, B., Streb, P., & Feierabend, J. (1992). Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence of interfering stress conditions. *Plant Physiology*, 100(3), 1547-1553.
 - Holman, R.T.(1970).Essentiel fatty acid deficiency .In progress in the chemistry of fats and other lipids ,vol IX polyunsaturated fatty acid part 2 . New –York,Pergamon Press, pp 275-348 in nutrition and health. Academic press.
 - Izaki, Y., Yoshikawa, S., Uchiyawa, M. (1984). Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on peroxidative criteria in rats. *Lipids*. 19: 324-331.
 - Jadot, G. (1981). *Le rat de laboratoire. 1-Réactif biologique*. Masson .

- Janeul C., (2003). Stress oxydant au niveau des plaquettes sanguines humaines dans le contexte du diabète: Etude du glutathion et de glutathion peroxydase 4. Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé, Lyon, France. thèse doctorat., pp: 1-201.
- Janiszowska, W., Pennock J.F. The biochemistry of vitamin E in plants. *Vitam. Horm.*, (1976), 34, 77-105.
- Kalam, S., Singh R., Mani A., Patel J., Naem KF., Pandey A. (2012). Antioxidants: elixir of life. *International Multidisciplinary Research Journal*, 1: 18-34.
- Kanane, A., Rouaki, F., Errahmani, M.B., Laraba, A., Mesbah, H., Ammouche, A. (2018). Pro-oxidant effects of a high α -tocopherol dose on kidney antioxidant biomarkers and histopathological aspects. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 1-12.
- Kanasawa, K., Kanasawa E et Natake M. (1985) .Uptake of secondary autoxidation products of linoleic acid by the rat . In *lipids*, 20, pp 412-419.
- Kirschvink, N., De Moffarts, B., Lekeux, P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*. 177:178–191
- Kocchilin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*, 20, 165-177. doi:10.1016/j.nupar.2006.10.178.
- Krishnamoorthy, G., Venkataraman, P., Arunkumar, A., Vignesh, R.C., Aruldas, M.M., Arunakaran, J. (2007). Ameliorative effect of vitamins (a-tocopherol and ascorbic acid) on PCB (Aroclor 1254) induced oxidative stress in rat epididymal sperm. *Reproductive Toxicology*. 23 (2): 239-245.
- Laguerre, M., Javier López-Giraldo, L., Lecomte, J., Pina, M., et Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 14(5), 278–292.
- Landis, G. N., & Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of ageing and development*, 126 (3), 365-379.
- Leger, C.L. (2000). La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardio-vasculaire, biodisponibilité. *Oléagineux. Corps Gras. Lipides*. 7 (3): 258-65.
- Lerverve, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ?. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219–224

- Li, J., O, W., Li, W., Jiang, Z.-G., et Ghanbari, H. (2013). Stress oxydatif et troubles neurodégénératifs. *Journal international des sciences moléculaires*, 14(12), 24438-24475. doi:10.3390/ijms141224438
- Mates, J.M., Sanchez-Jimenez F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological processes. *Front Biosci*. 4: 339-345.
- Michel, F., Bonnefont-Rousselot D., Mas E., Draï J.,Théron P. Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques/*Ann Biol Clin* .2008 ;66 (6), :page 604
- Margis, R., Dunand, C., Teixeira, FK, & Margis-Pinheiro, M. (2008). Famille de la glutathion peroxydase - un aperçu de l'évolution. *La revue FEBS* , 275 (15), 3959-3970.
- Nguyen, N. H., Tran, G. B., & Nguyen, C. T. (2020). Anti-oxidative effects of superoxide dismutase 3 on inflammatory diseases. *Journal of Molecular Medicine*, 98 (1), 59-69.
- Niki, E., & Traber, M. G. (2012). A history of vitamin E. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(3), 207-212.
- Nwanguma, B.C., Achebe, A.C., Ezeanyika, L.U. and Eze, L.C. (1998). Toxicity of oxidized fats II: tissue levels of lipid peroxides in rats fed a thermally oxidized corn oil diet. *Food Chem. Toxicol*. 37: 413 –416
- Olorunnisola Olubukola, S., Ajayi Ayodeji, F., Okeleji Lateef, O., Oladipo Abimbola, A., Emorioloye Johnson, T. (2019) Vitamins as Antioxidants.*Journal of Food Science and Nutrition Research*,2 (3), 214-235
- Osim, E. E., Owu, D. U., Isong, E. U., Umoh, I. B. (1994). Influence of chronic consumption of thermooxidized and fresh palm oil diets on basal metabolic rate, body weight and morphology of tissue in rats. *Discov Innov*. 6:389-396.
- Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*, 1995(276), 87-92
- Peh, H. Y., Tan, W. D., Liao, W., & Wong, W. F. (2016). Vitamin E therapy beyond cancer: Tocopherol versus tocotrienol. *Pharmacology & Therapeutics*, 162, 152-169.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. et Periyasamy, L. (2015) « Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases », *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. Springer India, p. 11-26. doi: 10.1007/s12291-014-0446-0.

Références bibliographiques

- Pincemail, J., Karine, B., Karine, C., & Jean-Olivier, D. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16, 233–239.
- Poisson-Moreau de Lizorieux, C. (2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique (Doctoral dissertation, Paris 11).
- Powers, S. and M. Jackson. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* (2008); 88(3): 1243-76.
- Pre, J. (1991). La lipoperoxydation. *Path. Biol.* 39 (7): 716-787
- Prior, RL. Cao, G. (2006). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Control Release Journal*, Vol 113(3), pp. 189-207.
- Rahal, A. Kumar A. Singh V. Yadav B. Tiwari R. Chakraborty S. Dhama K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Hindawi Publishing Corporation*, 2014. 1-19.
- Ramajayam, G., Sridhar, M., Karthikeyan, S., Lavanya, R., Veni, S., Vignesh, R.C., Ilangovan, R., Sitta Djody, S., Gopalakrishnan, V., Arunakaran, J., Srinivasan, N. (2007). Effects of Aroclor 1254 on femoral bone metabolism in adult male Wistar rats. *Toxicology*. 241(3): 99-105.
- Ratnam, VD. Ankola, DD. Baradwaj, V. Sahana, DK. Ravi Kumar, MNV. (2006). Role of antioxidants in Sciences, Vol 81, pp. 895-905.
- Rouaki, F., Kanane, A. (2019). Modifications biochimiques et histologiques du foie de rat soumis à un régime contenant une huile oxydée et supplémenté en vitamine E. *Revue Agrobiologia*, 9(1): 1188-1199.
- Santo, A., Zhu H., Li Y. R. *Reactive Oxygen Species/Cell Med Press* .(2016); 2(4):245–263, <http://dx.doi.org/10.20455/ros.2016.847>.
- Scandalias, JG. (1993) Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiol* 101:7–12.
- Scheibmeir, H.D., Christensen, K., Whitaker, S.H., Jegaethesan, J., Clancy, R., Pierce, J.D. (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*, 21(1), 24-28. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.iccn.2004.07.007> Login.

- Schmözl, L. (2016) « Complexity of vitamin E metabolism », *World Journal of Biological Chemistry*, 7(1), p. 14. doi: 10.4331/wjbc.v7.i1.14.
- Senthil Kumar, J., Banudevi, S., Sharmila, M., Murugesan, P., Srinivasan, N., Balasubramanian, K., Aruldas, M.M., Arunakaran, J.(2007). Effects of vitamin C and E on PCB (Aroclor 1254) induced oxidative stress, androgen binding protein and lactate in rat Sertoli cells. *Reproductive Toxicology*. 19 (2): 201-208.
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E. et Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.
- Sharma, N., Desigan, B., Ghosh, S., Ganguly, N.K., Majumdar, S. (1999). Effect of antioxidant vitamin E protective factor in experimental atherosclerosis in rhesus monkeys. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 43: 181-190.
- Sies, H. (1991) « Oxidative stress: From basic research to clinical application », *American Journal of Medicine*, 91(3 C), p. S31-S38.
- Sinclair A , J et Collins F, D.(1968).Fatty livers in rat deficiency in essential fatty acids .In *Biochim .Biophys.Acta.*,152,pp 498-510.
- Singal, P.K., Kapur, N., Dhillon, K.S., Beamish, R.E. and Dhalla, N.S. (1983). Role of free radicals in catecholamine-induced cardiomyopathy. *Can. J. Physiol. Pharm.* 60: 1390 –1397.
- Smith, R. G. Formes, Doses.(2020).Effets des Vitamines C et E Orthomolecular *Medicine News Service*, Apr 27.
- Sridevi, N., Venkataraman, P., Senthilkumar, K., Krishnamoorthy, G. and Arunakaran, J. (2007). Oxidative stress modulates membrane bound ATPases in brain regions of PCB (Aroclor 1254) exposed rats: Protective role of a-tocopherol. *Biomed. Pharmacother.* 61: 435 – 440
- Stadtman, E. R., et Levine, R. L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino acids*, 25(3-4), 207-218.
- Stampfer, M., Hennekens, C., Manson, J., Colditz, G., Rosner, B. and Willett, W. (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *N. Engl. J. Med.* 328: 1444 – 1449.
- Tessier, F., & Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports*, 10(1), 1–13 Lipide.

Références bibliographiques

- Threlfall, D.R.(1971).The biosynthesis of vitamins E and K and related compounds. *Vitam. Horm.* 29, 153-200.
- Traber, MG. (2007).Vitamin e regulatory mechanisms. *Annu Rev Nutr*; 27 : 347-62.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, MT., Mazur, M, et Telser, J .(2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.*The International Journal of Biochemistry and CellBiology*, p. 44-84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.39.
- Verhagen, H., Buijsse, B., Jansen, E., Bueno-de-Mesquita, B. (2006). The state of antioxidant affairs. *Nutrition Today*.41(6):244-250 .

Annexe

Annexes

Annexe 01

Tableau III : composition des régimes expérimentaux (g/100g)

Ingrédients	Régime alimentaire		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3
Caséine	20	20	20
DL-méthionine	00.16	00.16	00.16
Agar-agar	02	02	02
Amidon de maïs	44.90	44.90	44.90
Sucre cristallisé	21.94	21.94	21.94
Huile fraîche	05	/	/
Huile oxydée	/	05	05
Mélange minéral	04	04	04
Mélange vitaminique	02	02	02

Annexe 02

A. Verrerie et autres :

- Pissette
- Compresses
- Lames de bistouri
- Ciseaux.
- écarteurs.
- Pinces.
- Plaque de contention.
- Flacons
- Micropipette (de 10 μ l à 1000 μ l),
- Pipettes graduées (1ml, 5ml, 10ml)
- Tubes à essai.
- Tubes en verre.
- Portoirs.
- Béchers de 50ml et 250ml,
- Erlenmeyer de 250ml
- Cuve de chromatographie.
- Boites de Pétri.
- Lames et lamelles.
- Embouts de contenance de 1000 μ l.
- Embouts de contenance de 200 μ l.
- Spatule.
- Entonnoir.
- Papier absorbant
- Cassettes d'inclusion.

B. Réactifs chimiques :

- Ether Ethylique.
- Triton X-100.
- Acide trichloracétique.

Annexes

- Alcool.
- Hydroxyde de sodium (NaOH).
- Tartrate de Na⁺ K⁺.
- Sulfate de cuivre (CuSo₄).
- Sulfate de carbonate de sodium Na₂Co₃.
- Folin ciocalteu.
- Phosphate de potassium monobasique KH₂Po₄.
- Butyl-Hydroxtoluène (BHT).
- Phosphate disodique Na₂ HPo₄, 2H₂O.
- Peroxyde d'hydrogène H₂O₂.
- Eau distillée.

C. Appareillages :

❖ Appareillages nécessaires pour le dosage des paramètres du stress oxydatif :

- Broyeur Homogénéiseur (Potter de Thomas).
- Balance de précision (KERN).
- Centrifugeuse (ROROFIX 32 A).
- Spectrophotomètre UV-visible
- Bain-marie
- Agitateur
- pH mètre
- Réfrigérateur
- Automates de traitement des tissus (Myr).
- Module de refroidissement de paraffine (Leica).
- Microtome (Leica).
- bain de flottaison de paille (Firlabo).
- Plaque chauffante (Stuart).
- Etuve (Sakura).
- Distillateur.
- Microscope optique (Zeiss).
- Appareil photo (Canon).

Annexes

Annexe 03

Courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de LOWRY (1951), l'albumine sérique bovine (BSA) est utilisée comme protéine de référence (fig.1)

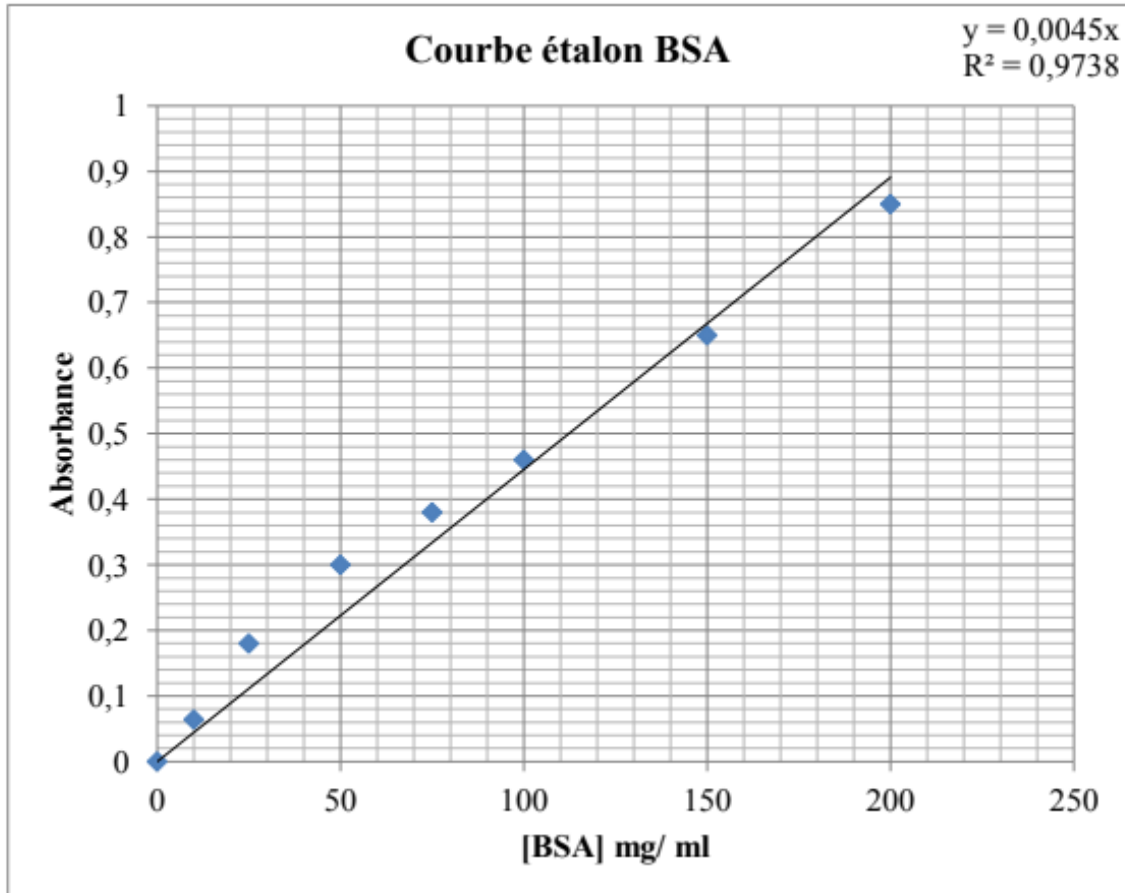


Fig .1.: Courbe étalon du dosage des protéines.

Annexes

Annexe 04

La variation du poids corporel et le poids cérébral chez les rats wistar (témoins, lot HO, lot HOE)

paramètres	Lots expérimentaux		
	Témoin	Lot HO	Lot HOE
Poids corporel (g)	159,1±18,6	^{a***} 121,7±32,4	157,3±13,2
Poids cérébrale (g)	1,0±0,2	1,1±0,4	0,9±0,1

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 entre témoin et groupe traités ; **a** : comparaison avec le Lot témoin, **b** : comparaison avec le lot HO.

Annexes

Annexe 05

La variation de la teneur en protéines, taux en malondialdéhyde (MDA) et l'activité de la catalase (CAT) chez les rats en croissance (témoins, HO, HOE).

	Lots expérimentaux		
Paramètres	Témoin	Lot HO	Lot HOE
MDA (mmole/mg)	82,2±0,3	88,8±2,2	87,5±2,4
CAT (μmole/mi nute/mg)	2,5±0,3	1,19±0,14 a***	1,48±0,31 a**

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 entre témoin et groupe traités ; **a** : comparaison avec le Lot témoin, **b** : comparaison avec le lot HO.

Annexes

Définition et Rôle des Réactifs :

1- **Triton** : Le Triton 100 est un surfactant non ionique utilisé pour la perméabilisation des cellules.

2- **L'albumine de sérum bovin (BSA)** : est une protéine globulaire (~ 66 000 Da) Utilisée dans de nombreuses applications biochimiques en raison de sa stabilité et de son absence d'interférence dans les réactions biologiques. La BSA est également couramment utilisée pour déterminer la quantité d'autres protéines, en comparant une quantité inconnue de protéine à des quantités connues de BSA, par l'utilisation d'une gamme d'étalonnage.

3- **L'Acide Trichloroacétique (TCA)** : est un analogue de l'acide acétique, Utilisé comme agent précipitant de protéines en chimie clinique ayant également un rôle dans l'arrêt de réactions enzymatiques. Le TCA est un acide relativement faible, il ne peut donc pas hydrolyser les liaisons peptidiques des protéines, mais il maintient un pH acide dans l'eau. L'ajout de TCA aux protéines dans une solution aqueuse perturbe les molécules d'eau liées à l'hydrogène entourant une protéine alors ces molécules de protéines ne restent plus solubles et peuvent être récupérées par centrifugation.

4- **Mélange d'Alcool (éthanol) et d'éther** : Un mélange d'alcool et d'éther est utilisé pour Solubiliser les lipides.

5- **L'éther** : Le rôle principal de l'éther dans cette méthode est de se débarrasser du TCA résiduel par quelques lavages à l'éther.

6- **Tartrate de sodium et de potassium** : Le sel de Rochelle, est le nom commun du tartrate double de sodium et de potassium. Ce sel double est un additif alimentaire utilisé comme antioxydant et régulateur de pH. C'est un précipitant courant en cristallographie des protéines et un ingrédient du réactif Biuret utilisé pour mesurer la concentration en protéines. Cet ingrédient maintient les ions cuivriques en solution à un pH alcalin. Le tartrate est ajouté en tant que chélatant (stabilisant) car il forme l'ion complexe soluble (tartrate de cuivre alcalin).

7- **Sulfate de cuivre (CuSO₄)** : Est utilisé comme électrolyte pour produire des cations multivalents: (Cu²⁺). Dans des conditions alcalines, les ions cuivriques (Cu²⁺) se chélatent avec les liaisons peptidiques, ce qui entraîne une réduction des ions cuivriques (Cu²⁺) en ions cuivreux (Cu⁺). Les ions Cu et les radicaux du Trp, Tyr et Cys (protéine) réduisent le complexe acide phosphotungstique/acide phosphomolybdique (couleur jaune) contenu dans le réactif FolinCiocalteu produisant ainsi une couleur bleue.

Annexes

8- Carbonate de sodium (Na_2CO_3) : Le carbonate de sodium est le sel disodique de l'acide Carbonique ayant des propriétés alcalinisantes.

9- Réactif de Folin Ciocalteu : C'est un mélange de tungstate de sodium et de molybdate de sodium dans l'acide phosphorique et l'acide chlorhydrique. Les ions cuivreux (Cu^+) réduisent le réactif de Folin pour produire une couleur bleue qui peut être lue à 650-750 nm. L'intensité de la couleur produite est proportionnelle à la quantité de liaisons peptidiques, c'est-à-dire la taille ainsi que la quantité de protéine / peptide. La présence de tyrosine, de tryptophane, de cystéine, d'histidine et d'asparagine dans les protéines contribue à augmenter le potentiel réducteur et à augmenter l'intensité de couleur produite. Par conséquent, l'intensité de couleur bleue produite dépend de la composition des molécules de protéines.