

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Blida 1



Faculté de science de la nature et de la vie

Département agro-alimentaire

Spécialité : nutrition et pathologie

Filière : Sciences Agro-Alimentaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Thème :

**Impact d'une supplémentation en lycopène sur la matrice
aortique des rats rendu hyperhomocystéinémiques**

Réalisé par:

Kara Asmaa

Bouzaghti Hakima

Soutenu devant le Jury :

-Dr.Kouidri A

MCB USDB

Présidente

- Mr.Louni S

MAA USDB

Examineur

- Dr. IDRES A

MCB USDB

Promotrice

Année universitaire : 2019/2020

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction1

- **Revue bibliographique**

Chapitre 1 : Homocystéine

I. Homocystéine

1- Définition.....5

2- Métabolisme de l'homocystéine5

2-1- Voies métaboliques..... 5

2-2- Voies d'élimination.....7

2-3- Régulation du métabolisme.....7

3- Formes circulantes de l'homocystéine plasmatique8

4- Dosage et valeurs normales de l'Hcy 9

II. Hyperhomocystéinémie

1- Définition.....9

2- classification de L'hyperhomocystéinémie..... 9

3- Facteurs favorisant une hyperhomocystéinémie9

3-1- Facteurs génétiques.....9

3-2- Facteurs nutritionnels.....10

3-3- Facteurs environnementaux.....11

III. Aorte

1- Définition	11
2- Histologie	12

IV. Action physiopathologique de l'Homocystéine

1- Formation d'athérome	12
2- Carcinogénèse	13
3- Matrice extracellulaire	13
4- Effet de l'homocystéine sur l'endothélium.....	14

Chapitre 2 : Lycopène

I. Généralité sur lelycopène

1- Définition.....	17
2- Structure chimique.....	17
3- Propriétés physico-chimiques	18
4- Les sources alimentaires	19
5- Niveau de consommation du lycopène.....	20
6- La digestion et l'absorption.....	20
7- Transport et métabolisme.....	21
8- Répartition dans les tissus.....	23
9- Mécanismes d'action du lycopène	24

II. Les effets biologiques de Lycopène

1- Prévention des maladies cardio-vasculaires.....	25
2- Prévention de cancer	26
3- Lutte contre le stress oxydative.....	27
4- Effets sur d'autres pathologies	27

• Matériel et méthodes

I. Matériel biologique

1- Choix et entretien du modèle animal.....	30
---	----

2- Régime alimentaire	30
3- Protocole expérimental.....	31

II. Méthodes

1- Techniques opératoires

1-1- Technique d'Administration par gavage	33
1-2- Evaluation pondérale.....	33
1-3- Prélèvement sanguin.....	33
1-4- Prélèvement des organes.....	33
2- Techniques analytiques	33
2-1- Dosage de l'homocystéine plasmatique	33
2-2- Dosage du Cholestérol total.....	34
2-3- Dosage des triglycérides	35
2-4- Dosage des lipoprotéines hautes densité (HDLc)	36
2-5- Dosage de la protéine C réactive ultra-sensible (CRP _{us})	38
3- Technique histologique	38
a. La Fixation.....	38
b. La déshydratation.....	39
c. L'éclaircissement	39
d. L'imprégnation	39
e. Inclusion	39
f. L'étalement des coupes	39
g. La coloration topographique (l'hématoxyline-éosine, HE) et (Rouge Sirius)	39
h. Montage et observation des lames	40
4- Méthodes Statistiques	40

Résultats

I. Le poids des rats	43
II. Biochimie plasmatique	44
1. Effet de l'administration du lycopène sur les rats hyperhomocystéinémiques.....	44
2. Effet du lycopène sur le profil lipidique des rats hyperhomocystéinémiques.....	45
2.1. Cholestérol total	45
2.2. La triglycéridémie.....	47
2.3. HDL-cholestérol	48
2.4. LDL-cholestérol	49
3. Effet du lycopène sur la concentration de la protéine C réactive ultra-sensible (CRP _{us}) plasmatique.....	50
4. Concentration en lycopène hépatique des rats	51
III. Résultat histologique de la paroi de l'aorte	52
1-Aorte normal	52
2- Effet de la méthionine sur la structure histologique de la paroi artérielle.....	52
3- Effet du lycopène sur les changements histopathologique	53
Discussion	55
Conclusion et perspectives	61
Références bibliographiques	63
Annexe.....,	80

Remerciement

On tient tout d'abord à remercier le bon dieu.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre professeur et encadreur Mme IDRES AICHA pour toute l'aide et le soutien qu'elle nous a apporté en suivant notre travail de près, Avec sérieux et intérêt.

Nous tenons à remercier par la même occasion les membres du jury ; DR Kouidri Amel Présidente de jury et l'examineur Ms Louni Sofiane.

Nous remercions Mme Oumran chef de service de laboratoire de la biochimie à l'hôpital de Tipaza.

Ce mémoire portera des traces indélébiles d'une équipe qui a été exemplaire.

Dédicace

A ma très chère mère Dahbia.

A mon cher père Abdelkarim.

A mon frère et sœurs Oualhadj, Yasmine et Lina.

A ma famille entière.

A mes meilleures amies.

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, je dédie ce
mémoire.*

Kara. A

Dédicace

A ma très chère mère Saliha.

A mon cher père Mohamed.

A mes frères et ma sœur Abdelbari, Omar et chaimaa.

A ma famille entière.

A mes meilleures amies.

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, je dédie ce
mémoire.*

Bouzaghti. H

Résumé

Des études épidémiologiques ont démontré que l'augmentation de l'homocystéine constitue un facteur de risque des maladies athérosclérotiques et thrombotiques qui peut conduire à diverses manifestations cliniques, notamment à des atteintes de la matrice aortique, accompagnées par un stress oxydant. L'effet de la consommation des fruits et légumes se traduit par une augmentation de la capacité antioxydante du plasma. D'autres études épidémiologiques attestent l'existence d'une corrélation positive entre la consommation des produits à base de tomate riches en caroténoïdes et la diminution du risque de développement de certaines pathologies telles que le cancer et l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires. Ce qui fait des produits dérivés de la tomate des aliments de valeur nutritionnelle très intéressante.

Durant notre travail expérimental, une hyperhomocystéinémie est induite chez des rats Wistar (*Rattus norvegicus*) par l'ingestion de la méthionine 500 mg/kg/de pc/jour pendant 3 mois. L'impact biologique de ce facteur de risque a été analysé au niveau pondéral et plasmatique par le dosage de certains paramètres biochimique aussi au niveau histologique de la matrice aortique, d'une part nous avons évalué l'effet d'administration de lycopène qu'est susceptible à réduire ou prévenir le dysfonctionnement métabolique causé par une hyperhomocystéinémie. Les résultats de notre travail révèlent que l'hyperhomocystéinémie engendre une augmentation du poids corporel, des perturbations de nombreux paramètres biochimiques plasmatiques, par exemple la concentration en LDLc est de 0.69 g/l soit une augmentation de 1.40 fois supérieur comparé au groupe témoin ($p < 0.010$) de plus TG ont augmenté significativement chez les rats sous régime enrichi en méthionine (MET) ($p < 0.0025$). Alors que la supplémentation en lycopène entraîne la diminution de l'homocystéine, la normalisation des marqueurs biologiques, la restauration de la structure histologique, ainsi qu'une diminution du stress oxydatif et de l'inflammation. Le lycopène administré à une dose de 5mg/Kg/poids corporel/jour, représente un excellent moyen thérapeutique pour détecter les dépôts de collagènes ainsi la fibrose induite par une hyperhomocystéinémie.

Mots clé : lycopène, hyperhomocystéinémie, maladies cardiovasculaires, profil lipidique, inflammation.

Summary

Epidemiological studies have shown that the increase in homocysteine constitutes a risk factor for atherosclerotic and thrombotic diseases effect, which can lead to various clinical manifestations, including aortic matrix damage accompanied by oxidative stress. The consumption of fruits and vegetables results in an increase in the antioxidant capacity of the plasma. Others épidemiological studies continue to suggest a positive correlation between the consumption of tomato products rich in carotenoids and a lower risk of developing certain types of cancer and atherogenic diseases. This makes tomato products very interesting for health.

During our experimental work, hyperhomocysteinemia is induced in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) by ingesting methionine 500 mg / kg / bw / day for 3 months. The biological impact of this risk factor that analyzed at weight and plasma level by the determination of certain biochemical parameters also at the histological level of the aortic matrix, on the one hand, we evaluated the effect of administration of lycopene, which is likely to reduce or prevent the metabolic dysfunction caused by hyperhomocysteinemia.

The results of our work reveal that hyperhomocysteinemia causes an increase in body weight, disturbances of many plasma biochemical parameters, for example the LDLc concentration is 0.69 g / l, an increase of 1.40 times greater compared to the control group ($p < 0.010$) in addition TG were significantly increased in rats on a methionine enriched diet (MET) ($p < 0.0025$). while lycopene supplementation leads to a decrease in homocysteine, the normalization of biological markers, and restoration of the structure. Histologic, as well as a decrease in oxidative stress and inflammation. Lycopene administered at a dose of 5 mg / Kg / body weight / day, represents an excellent therapeutic means for fibrosis induced by hyperhomocysteinemia.

Keywords: lycopene, Hyperhomocysteinemia, cardiovascular diseases, Inflammation.

ملخص

أظهرت الدراسات الوبائية أن زيادة الهوموسيستين هي عامل خطر لأمراض تصلب الشرايين وتجلط الدم والتي يمكن أن تؤدي إلى مظاهر سريرية مختلفة، بما في ذلك تلف الكبد مصحوبا بالإجهاد التأكسدي. تأثير تناول الفاكهة والخضروات هو زيادة قدرة البلازما المضادة للأكسدة. تؤكد الدراسات الوبائية وجود علاقة إيجابية بين استهلاك المنتجات القائمة على الطماطم الغنية بالكاروتينات وانخفاض خطر الإصابة ببعض الأمراض مثل السرطان وتصلب الشرايين وأمراض القلب والأوعية الدموية. هذا يجعل منتجات الطماطم غذاء ذو قيمة غذائية مثيرة للاهتمام.

(rattus norvegicus) خلال عملنا التجريبي يتم تحفيز فرط الهوموسيستين في فئران ويسترن

عن طريق تناول 500 ملغم/كغم/يوم من الميثيونين لمدة 3 أشهر. تم تحليل الأثر البيولوجي لعامل الخطر في الوزن والبلازما من خلال تحديد بعض المعايير البيوكيميائية على مستوى النسيجي لصفوفة الأبهري، من ناحية قمنا بتقييم تأثير إعطاء اللايكوبين الذي من المرجح أن يقلل أو يمنع الخلل الأيضي الناتج عن فرط الهوموسيستين في الدم.

الدم يعطى اللايكوبين بجرعة 5 ملغم/كغم/يوم وهو وسيلة علاجية ممتازة للتليف الناتج عن فرط الهوموسيستين في

تكشف نتائج عملنا أن فرط الهوموسيستين في الدم يسبب زيادة في وزن الجسم، واضطرابات في العديد من العوامل البيوكيميائية للبلازما، على سبيل المثال تركيز LDLc هو 0.69 جم / لتر، أي بزيادة قدرها 1.40 مرة. بالمقارنة مع مجموعة التحكم ($p > 0.010$) بالإضافة إلى زيادة في TG. بشكل ملحوظ في الفئران التي تتبع نظامًا غذائيًا غنيًا بالميثيونين (MET) ($P > 0.0025$). بينما تؤدي مكملات اللايكوبين إلى انخفاض في الهوموسيستين، فإن اتباع نظام غذائي غني بالميثيونين (MET + LYC) قلل بشكل ملحوظ من مستويات Hcy بمقدار 0.75 مرة مقارنة بالفئران التي تتبع نظامًا غذائيًا غنيًا بالميثيونين (MET). توحيد المؤشرات الحيوية واستعادة الهيكل الأنسجة وكذلك انخفاض في الجهد التأكسدي والالتهابات.

الكلمات الرئيسية: اللايكوبين، فرط الهوموسيستين، وأمراض القلب والأوعية الدموية، الالتهابات.

Liste des figures

Figure	Titre	page
Partie bibliographique		
Figure 01	Formule de l'homocystéine (Raisonnier, 2011).	5
Figure 02	Métabolisme de l'homocystéine (Haynes, 2002).	7
Figure 03	Formule chimique du Lycopène (Boumendjel et al., 2012).	12
Figure 04	Schémas de la voie métabolique du lycopène (Jonathan et al., 2012).	18
Figure 05	Représentation schématique de la paroi artérielle (Kahle et al., 1990 ; Stevens et Lowe, 19).	23
Partie pratique		
Figure 06	Pastilles de lycopène (lyc-o-mato, 10mg).	32
Figure 07	Conversion enzymatique de l'homocystéine libre.	34
Figure 08	Histogramme représentant l'évolution pondéral(g) des rats des différents lots.	42
Figure 09	Histogramme représentant pourcentage de gain corporel	43
Figure 10	Evolution de l'homocystéinémie ($\mu\text{mol/L}$) des rats des différents lots.	44
Figure 11	Evolution de la cholestérolémie (g/L) chez les rats des différents lots	45
Figure 12	Evolution de la triglycéridémie chez les rats des différents lots.	46
Figure 13	Evolution du HDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.	47
Figure 14	Evolution du LDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.	48
Figure 15	concentration de CRPus plasmatique (mg/l) des différents lots.	49
Figure 16	concentration en lycopène hépatique des rats de différents lots en ($\mu\text{g/g}$).	50

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Partie bibliographique		
Tableau 01	Classification des hyperhomocystéinémies (Mouchabac, 2008).	9
Tableau 02	Propriétés du lycopène (Shie et Le Maguer, 2000).	18
Tableau 03	Taux de perte du lycopène lors de la cuisson du jus de tomate (Shie et Le Maguer, 2000).	19
Tableau 04	Teneur en lycopène dans les tomates et produits de tomates et quelques aliments (Teneurs Approximatives selon les analyses de différents laboratoires) (Véronique et Daniel, 2001).	19
Tableau 05	Concentration moyenne du lycopène (et SD) nmol/g de poids (Véronique et Daniel, 2001).	24
Partie pratique		
Tableau 06	Evolution pondérale (g) des rats.	42
Tableau 07	Concentration plasmatique en Hcy ($\mu\text{Mol/l}$).	43
Tableau 08	concentration plasmatique en cholestérol total.	45
Tableau 09	la concentration plasmatique en triglycéride (g/l).	46
Tableau 10	la concentration plasmatique en HDL-Cholestérol (g/l).	47
Tableau 11	la concentration plasmatique en LDL-cholestérol (g/l).	48
Tableau 12	Détermination de la protéine C réactive ultra-sensible (CRPus) plasmatique (mg/l).	49
Tableau 13	Concentration en lycopène hépatique des rats des différents lots en (ug/g).	50

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AGPI : Acides gras polyinsaturés acides.

B6 : La pyridoxine.

B9 : folate ou folacine.

B12 : cobalamine (Cbl).

BCMO1 : bêta-carotène 15,15'-monooxygénase 1.

BCMO2 : bêta-carotène 15,15'-monooxygénase 2.

BHMT : bêtaïnehomocystéine méthyltransférase.

CBS : Cystathionine- β -Synthase.

CEs : Cellules endothéliales.

CGL : Cystéine γ Lyase.

EURAMIC: european multicenter case-control study on Antioxidants, Myocardial /infarction, and Cancer of the breast.

eNOS: eNOS uncoupling.

GPX: Glutathion peroxydase.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

Hcy : Homocystéine.

HDLc : Cholestérol porté par les HDL.

HHcy : Hyperhomocystéinémie.

HHcu : Hyperhomocystéinurie.

HMGCoA : hydroxy-3-méthyl glutaryl coenzyme A.

HPLC : chromatographiques incluant la chromatographie liquide à haute performance.

JNK-kinases: c-Jun N-terminal kinase.

LDLc : Cholestérol porté par les LDL.

MAT : Méthionine-Adénosyl-Transférase.

Met : méthionine.

MMP2 : Métalloprotéinases élastolytiques de type 2.

MMP9 : Métalloprotéinases élastolytiques de type 9.

MS: Méthionine Synthase.

NO : oxyde nitrique.

O₂⁻ : Anions superoxydes.

OH : Hydroxyl.

ONOO : Peroxynitrite.

PLP : Phosphate de pyridoxal.

RE : Réticulum endoplasmique.

SAH: S-Adénosine-L-Homocystéine.

SAM: S-Adénosyl-L-Méthionine.

SOD: Superoxydedismutase.

SRB1: scavengerreceptor B1.

TIMP 1 : Procollagène de type I et d'inhibiteur tissulaire de métalloprotéinase-1.

TNF- α : Facteur de nécrose tumoral α .

UPR: Unfolded Protein Response.

VLDL: Very low-density lipoprotein.

Introduction

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

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

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

Dans ce cadre, des études épidémiologiques ont montré que la consommation de fruits et légumes avait un impact bénéfique, attribué en partie à certains micronutriments dont les caroténoïdes, sur ces pathologies et sur certains types de cancer. Parmi ces caroténoïdes, le lycopène occupe une place importante. Des études ont suggéré qu'il est spécifiquement et individuellement liés à une diminution des pathologies cardiovasculaires et de ses complications.

Dans ce présent travail, un état d'hyperhomocystéinémie est induit chez des Rats Wistar provenant de l'animalerie de l'USTHB, par administration quotidienne d'une dose chronique de méthionine a pour objective d'évaluer bénéfices du lycopène dans la prévention des

maladies cardiovasculaires causées par l'hyperhomocystéinémie, les rats ont reçu par voie orale (gavage) une dose de lycopène déterminée pendant 3 mois.

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

- L'évolution du poids corporel,
- La détermination de l'Homocystéinémie,
- La détermination du profil lipidique (cholestérolémie, HDLc, LDLc et la triglycéridémie).
- La détermination de la CRP_{us}.
- Dosage du lycopène hépatique.

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

Revue bibliographique

Chapitre I : Homocystéine

I. Homocystéine

1- Définition

L'homocystéine (Hcy) est un acide aminé soufré, non constitutif des protéines, formée au cours du métabolisme de la méthionine. Cette dernière, est un acide aminé essentiel qui joue un rôle particulier dans la biosynthèse des protéines (**Buyschaert et Hermans, 2003 ; Edith et al., 2010**), puisque toutes les chaînes protéiques démarrent par l'incorporation d'une méthionine en position N-terminale (**Mouchabac, 2008**). L'homocystéine (Hcy) est formée au niveau intracellulaire à partir de la méthionine apportée par l'alimentation. Elle est synthétisée par toutes les cellules de l'organisme. Le catabolisme de l'Homocystéine se produit principalement dans le foie et dans les reins par deux voies : la voie de la reméthylation et la voie de la transsulfuration (**Selhub, 1999 ; Stipanuk, 2004**).

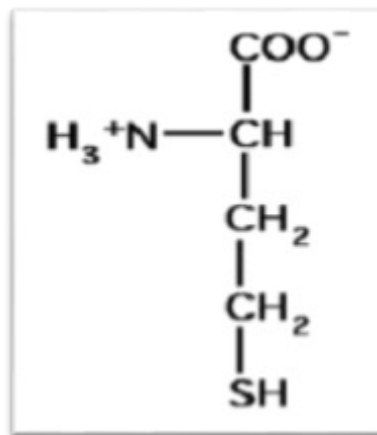


Figure 01 : Formule de l'homocystéine (**Raisonnier, 2011**).

2- Métabolisme de l'homocystéine

2-1- Voies métaboliques

L'Hcy est métabolisée selon deux voies : la voie de la reméthylation et la voie de la transsulfuration :

- **La voie de la reméthylation**

Elles assurent la reméthylation de l'Hcy en méthionine selon deux réactions enzymatiques distinctes. La principale réaction fait intervenir deux enzymes :

La 5-MéthylTétraHydroFolate (5MTHF), donneuse de groupement méthyl. Sa formation est sous la dépendance d'une enzyme, la 5,10-MTHFR (5,10-MéthylèneTétraHydroFolate

Réductase), et la Méthionine Synthase (MS) dont le cofacteur est la vitamine B12. Ce transfert du groupe méthyl, qui permet la synthèse de la méthionine, n'est possible qu'en présence de méthylcobalamine ; d'où la synergie d'action entre la vitamine B9 et la vitamine B12. La deuxième réaction se déroule en grande partie au niveau du foie. Elle est de faible activité, et fait intervenir une enzyme hépatique, la bétaine-homocystéine méthyltransférase. La bétaine est la molécule donneuse de groupement méthyl. L'importance relative de ces deux voies de reméthylation varie en fonction du tissu considéré et du statut protéique. En cas d'apport protéique excessif la voie de la transulfuration est favorisée, à l'inverse en cas de déficit protéique, la voie de la reméthylation est favorisée afin de maintenir un pool cellulaire suffisant en méthionine (Selhub, 1999 ; Stipanuk, 2004).

• La voie de la transulfuration

La majorité d'Hcy n'est pas reméthylée mais catabolisée en cystéine par la voie de la transulfuration. Cette voie permet à la méthionine, d'apporter un atome de soufre pour la formation de cystéine. L'activation de la méthionine en S-Adénosyl-L-Méthionine (SAM) se fait sous l'influence de la Méthionine-Adénosyl-Transférase (MAT). La SAM, principal donneur de groupement méthyl de l'organisme, cède ensuite ce groupement pour donner naissance à la S-Adénosine-L-Homocystéine (SAH). Cette molécule est hydrolysée en adénosine et en homocystéine par la S-Adénosyl-L-Homocystéine Hydrolase. Sous l'influence de la Cystathionine- β -Synthase (CBS), l'Hcy se condense ensuite avec la sérine pour former la cystathionine, elle-même clivée et désaminée en cystéine et en α -céto butyrate (par la Cystéine γ Lyase [CGL]). Ces deux réactions nécessitent la présence d'un cofacteur enzymatique, le phosphate de pyridoxal ou vitamine B6 (Selhub *et al.*, 1999 ; Stipanuk *et al.*, 2004).

Le taux d'Hcy va donc dépendre d'une part des activités enzymatiques de la CBS, de la MS et de la MTHFR et d'autre part de la disponibilité en THF, issus du métabolisme de l'acide folique (vitamine B9) et des vitamines B6 et B12 comme cofacteurs indispensables au bon fonctionnement de ce cycle métabolique (Aubard *et al.*, 2000). La figure suivante représente le métabolisme de l'homocystéine.

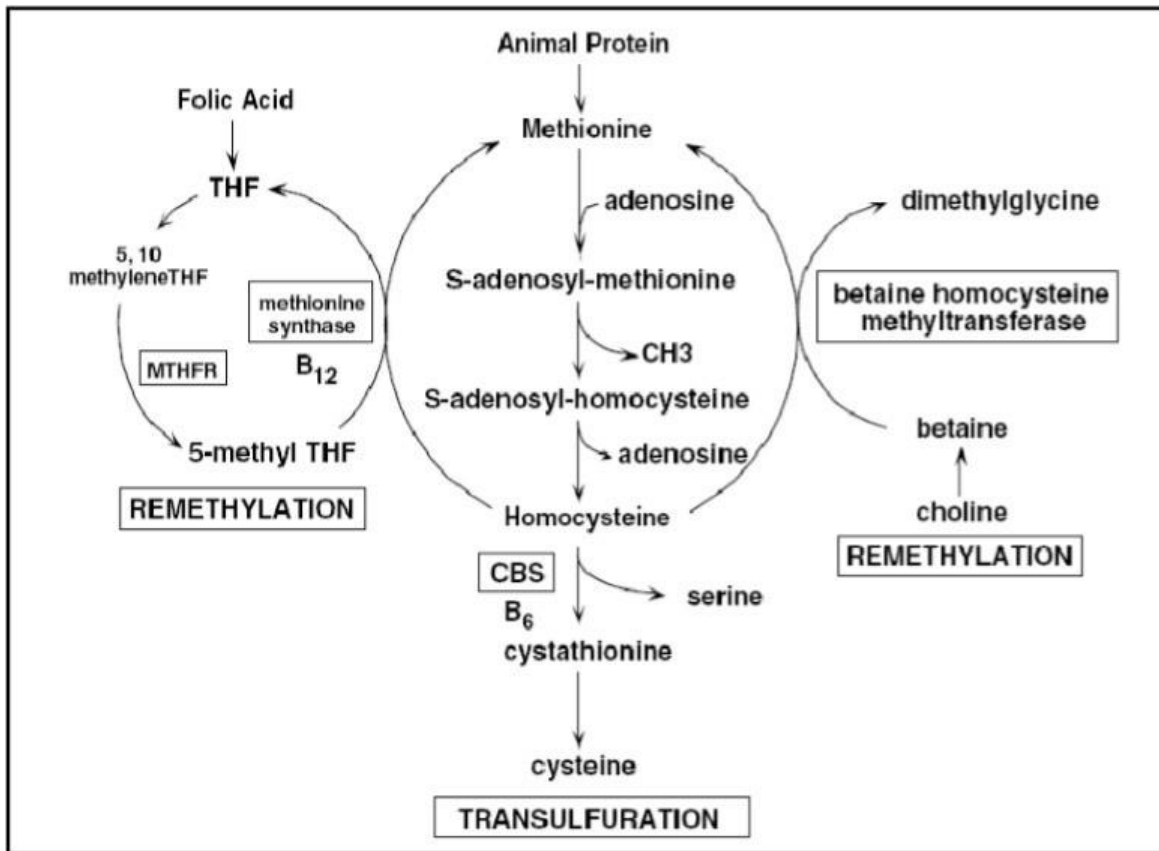


Figure 02 : Métabolisme de l'homocystéine (Haynes, 2002)

2-2- Voies d'élimination

L'Homocystéine intracellulaire est rapidement éliminée via le plasma qui renferme des concentrations d'Hcy avoisinant 10 $\mu\text{mol/l}$. Ce mécanisme d'élimination hors des cellules complète le catabolisme de l'Hcy par la voie de transulfuration et permet de maintenir des concentrations intracellulaires basses de cet acide aminé potentiellement cytotoxique (Zittoun, 1998).

Le devenir de l'Hcy plasmatique n'est pas bien connu. Chez les sujets sains, l'excrétion rénale est faible, compte tenu de l'Hcy formée. Il est possible que l'Hcy plasmatique soit captée par les cellules et ensuite métabolisée et que la reméthylation de l'Hcy en méthionine (Met), pourrait être une voie importante d'élimination de l'Hcy (Zittoun, 1998).

2-3- Régulation du métabolisme :

Les facteurs limitant du métabolisme de l'Hcy sont les activités enzymatiques de la CBS, la MTHFR et la MS et les cofacteurs vitaminiques (vitamines B6, B9 et B12).

En cas d'apport protéique excessif, la voie de transulfuration est favorisée par rétrocontrôle positif de la CBS et rétrocontrôle négatif de la MTHFR, avec un régulateur allostérique la s- adénosyl-méthionine (SAM). En revanche, en cas de déficit protéique, la voie de reméthylation est privilégiée pour assurer un pool cellulaire suffisant de méthionine (**Demuth et al., 2000 ; Roblin et al., 2007**). Dans les deux cas, la concentration intracellulaire en Hcy est toujours faible (entre 5 et 15 $\mu\text{mol/l}$) puisque l'Hcy est métabolisée dès sa formation (**Demuth et al., 2000 ; Buyschaert et Hermans, 2003**).

Le foie joue un rôle essentiel dans cette régulation : le métabolisme de la méthionine, et ainsi la possibilité de méthylation, a lieu pour 80% dans le foie. Trois des enzymes clés du métabolisme de l'Hcy sont exclusivement hépatiques. C'est le cas de la BHMT et de la méthionine adénosyl transférase (MAT) qui existe sous deux formes : MAT1 qui n'existe que dans les hépatocytes et MAT2 qui est ubiquitaire. Enfin, la voie de la transulfuration (l'enzyme CBS) est uniquement hépatique (**Roblin et al., 2007**).

3- Formes circulantes de l'homocystéine plasmatique

Le plasma humain contient des quantités réduites et oxydées d'Hcy. Le sulfhydryle ou la forme réduite s'appelle homocystéine et le disulfure ou la forme oxydée connue sous le nom d'homocystine. Les formes du disulfure existent également avec la cystéine et avec des protéines contenant les résidus réactifs de cystéine (Hcy liée aux protéines) (**Demuth et al., 2000**).

L'Hcy donc peut se trouver sous 3 formes : environ 70 % de l'Hcy est liée aux protéines, près de 30 % est sous forme de disulfures. À peine 1 % de l'Hcy est présente dans le plasma à l'état libre. Le terme d'Hcy plasmatique totale représente l'addition de ces trois formes (**Mairesse et al., 2010**).

4- Dosage et Valeurs normales de l'Hcy

Plusieurs techniques permettent le dosage de l'Hcy plasmatique : techniques chromatographiques incluant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), chromatographie échangeuse d'ions, chromatographie en phase inverse de composés fluorescents ou chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse. L'Hcy peut également être dosée par les techniques immunoenzymatiques avec détection en polarisation de fluorescence, enzyme linked immunosorbent assay (Elisa), en chimiluminescence, en électrophorèse capillaire, et enfin en immunonéphélométrie. Quel que soit le type de

technique utilisée pour le dosage de l'Hcy totale, la fonction thiol (-SH) est libérée des disulfures à l'aide d'un agent réducteur (**Zittoun, 1998 ; Buyschaert et Hermans, 2003 ; Lebreton *et al.*, 2009**).

Chez l'humain, le taux normal d'Hcy plasmatique à jeun est de 5 à 15 $\mu\text{mol/l}$ (**Caussé, 2008**). Alors que chez des autres espèces animales (la souris, le rat, le chat et la vache), il est de 3 à 10 $\mu\text{mol/l}$ (**Edith *et al.*, 2010**).

II. Hyperhomocystéinémie

1- Définition

L'hyperhomocystéinémie (HHcy) se définit par l'élévation du taux d'Hcy plasmatique total, au-delà de 15 $\mu\text{mol/l}$ (**Refsum *et al.*, 1998**) due à une perturbation dans le métabolisme de l'Hcy causée par des facteurs génétiques, nutritionnels ou environnementaux (**Descheemaeker et Provoost, 1999**).

2- Classification de L'hyperhomocystéinémie

Tableau 01 : Classification des hyperhomocystéinémies (**Mouchabac, 2008**).

Type	Valeurs
Hyperhomocystéinémie modérée	15 à 30 $\mu\text{mol/l}$
Hyperhomocystéinémie intermédiaire	30 à 100 $\mu\text{mol/l}$
Hyperhomocystéinémie sévère ou majeure	>100 $\mu\text{mol/l}$

3- Facteurs favorisant une hyperhomocystéinémie

3-1- Facteurs génétiques

Il existe plusieurs polymorphismes des enzymes clés intervenant dans le métabolisme de l'Hcy (**Aubard *et al.*, 2000**).

-Enzyme cystathionine bêta synthétase (CBS) : Environ une soixantaine de mutations différentes du gène de la CBS ont été décrites. Ces mutations sont récessives et autosomiques. Les rares sujets homozygotes (1/100 000) présentent le tableau classique de l'hyperhomocystéinurie (HHcu) congénitale décrite pour la première fois en 1962 par **Carson et Neill** Il existe dans cette maladie congénitale une accumulation d'Hcy dans le sang (>400 $\mu\text{mol/l}$) et une élimination urinaire anormalement importante de l'Hcy sous sa forme oxydée.

L'HHcu est associée à un retard mental, à des anomalies osseuses et oculaires et à une athérosclérose précoce aboutissant très souvent à un décès avant l'âge de 30 ans. Les sujets hétérozygotes sont beaucoup plus nombreux et ils sont caractérisés par des taux normaux d'Hcy (Aubard *et al.*, 2000 ; Lawrence de Koning *et al.*, 2003).

-Enzyme méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR) : Plusieurs mutations du gène de la MTHFR ont été identifiées. Une de ces mutations est le variant thermolabile C677T, mutation autosomique récessive provenant du remplacement d'une cytosine en position 677 par une thymine, et à l'origine de la substitution d'une alanine par une valine (C677→T, ala→val) (Roblin *et al.*, 2007), consistant en une sensibilité anormale de l'enzyme à la chaleur. Ce génotype à l'état homozygote (TT) est habituellement associé à une élévation de l'Hcy plasmatique, à une diminution de l'activité enzymatique MTHFR et à une baisse des folates sériques, érythrocytaires et notamment des méthylfolates qui sont le produit de ce gène. Le génotype hétérozygote (CT) est associé à des conséquences moins graves que celui d'homozygote (Zittoun, 1998 ; Aubard *et al.*, 2000 et Descheemaeker, 2004).

3-2- Facteurs nutritionnels

Les enzymes du cycle de l'Hcy ont besoin de cofacteurs (vitamines B6 et B12) et de substrat (vitamine B9) pour fonctionner normalement. Ainsi, la diminution des apports en vitamines B6, B9 et B12 perturbe le métabolisme de l'Hcy et est responsable d'une augmentation des taux sanguins d'Hcy (Aubard *et al.*, 2000 ; Mouchabac, 2008). Il existe 3 types de carences en vitamines :

- l'interruption de la voie de transsulfuration par une déficience en coenzymes dérivés de la vitamine B6 (phosphate de pyridoxal : PLP).
- la carence en folates responsable d'un déficit en MTHF qui est le donneur de méthyle lors de la reméthylation de l'Hcy.
- la carence en vitamine B12, due à un défaut d'apport, d'absorption ou à un transport sanguin (Lawrence de Koning *et al.*, 2003 ; Namour *et al.*, 2003).

3-3- Facteurs environnementaux

L'homocystéine est plus basse de 30% chez l'enfant, elle augmente avec l'âge. L'Hcy est plus élevée chez l'homme que chez la femme de manière significative. L'Hcy est plus basse chez les femmes en période d'activité génitale que chez les femmes ménopausées. Le traitement

hormonal substitutif de la ménopause permet de réduire les taux d'Hcy de 10 à 15%. Ainsi, les taux d'Hcy baissent pendant la grossesse (**Aubard et al., 2000**).

L'HHcy existe fréquemment dans certaines situations pathologiques telles que l'insuffisance rénale, le diabète, l'hypothyroïdie, les cancers, l'atrophie gastrique, la maladie de Biermer (anémie pernicieuse) et certaines maladies prolifératives (hémopathie maligne) et la maladie de Parkinson (**Buyschaert et Hermans, 2003; Mouchabac, 2008**).

Plusieurs médicaments ont aussi été incriminés dans la genèse de l'HHcy en particulier ceux qui interfèrent avec le métabolisme des folates tels le méthotrexate (particulièrement lorsqu'il est associé à la sulfasalazine), les fibrates, la metformine, l'acide nicotinique (surtout associé au colestipol), certains antiépileptiques, la théophylline, la L-dopa et les anti-inflammatoires (action anti-folate) (**Buyschaert et Hermans, 2003 ; Descheemaeker, 2004**).

Enfin, l'Hcy tend à s'élever modérément chez les sujets fumeurs ainsi qu'en cas de consommation chronique d'alcool et/ou du café (**Buyschaert et Hermans, 2003 ; Mouchabac, 2008**).

III. Aorte

1-Définition

L'aorte est la plus grosse artère du corps humain. Chez l'adulte, son diamètre atteint près de 2,5 cm et l'épaisseur de sa paroi est d'environ 2 mm. Elle naît du ventricule gauche du cœur et elle s'étend jusqu'à l'abdomen. Les différentes parties de l'aorte sont nommées en fonction de leur forme et de leur position (**Daniel et Dominique, 2015**).

2-Histologie :

- **Intima** : L'intima compose d'un endothélium, pavimenteux, constitué de cellules aplaties plus ou moins jointives selon les territoires, reposant comme tous les épithéliums sur une lame basale et un tissu conjonctif. Cette intima joue un rôle physiologique majeur, car elle est la frontière passive entre le sang et la paroi vasculaire (**Lavabre-Bertrand, 2005 ; Fekhar, 2011**).
- **Média** : La média est constituée de cellules musculaires lisses (CML) empilées de façon concentrique en couches appelées unités lamellaires. Chaque unité lamellaire est entourée d'une matrice extracellulaire constituée des protéines fibreuses et élastiques et de

mucopolysaccharides (Wilson *et al.*, 2007). La média est très variable selon le type d'artère d'une couche, pour les artérioles, à plusieurs couches, pour les artères élastiques.

Dans les artères élastiques (l'aorte par exemple), la média est constituée de plusieurs lames élastiques entre lesquelles on retrouve les CML. Les artères musculaires possèdent une lame élastique interne et externe qui sépare la média respectivement de l'intima et de l'adventice (Wilson *et al.*, 2007). Cette média assure les fonctions propres à la paroi dans la région considérée (élasticité, modification de calibre...), ce qui explique que sa composition varie selon les territoires (proportion variable de lames élastiques et de fibres musculaires lisses...) (Lavabre-Bertrand, 2005).

- **Adventice** : C'est la tunique externe. Elle est constituée d'un tissu conjonctif peu organisé, riche en collagène et en fibres élastiques, et contenant des fibroblastes et des adipocytes et d'une enveloppe qui assure l'ancrage des artères aux structures avoisinantes. Elle est irriguée par des vasa vasorum qui ont un rôle nourricier pour l'adventice elle-même et pour la partie externe de la média (Wilson *et al.*, 2007 ; Fekhar, 2011).

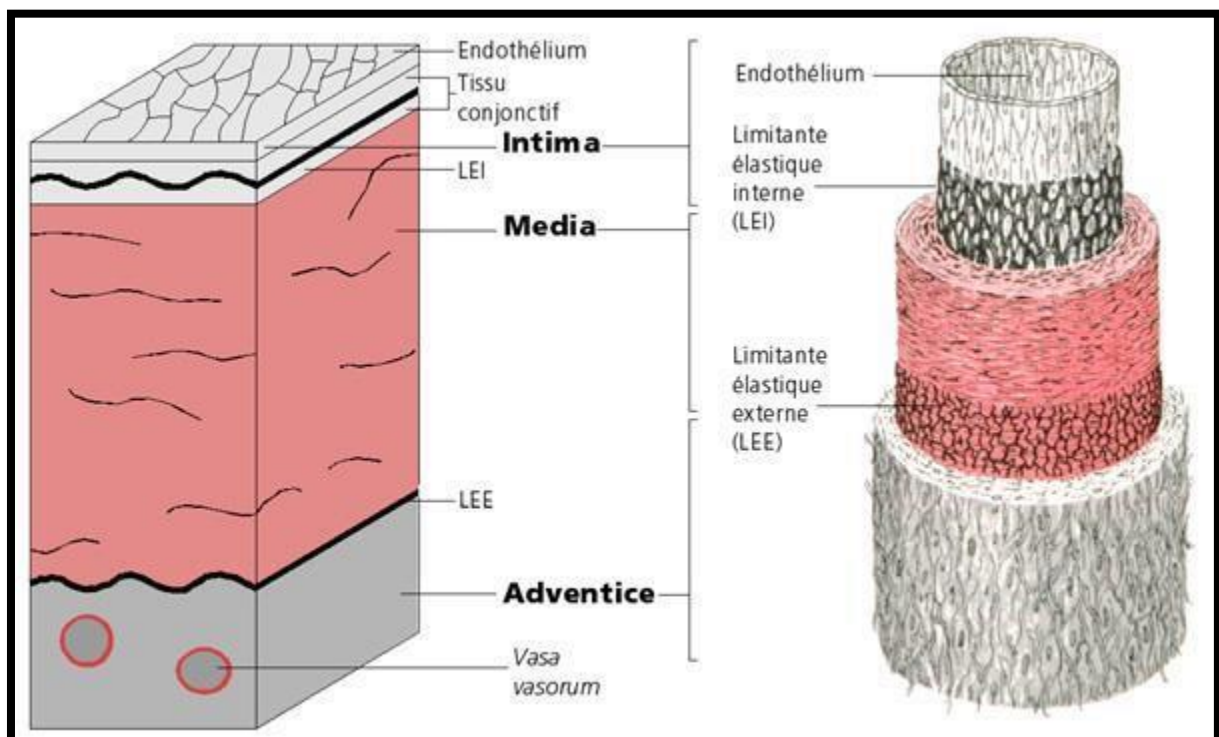


Figure 03 : Représentation schématique de la paroi artérielle (Kahle *et al.*, 1990 ; Stevens et Lowe, 1997).

IV. Action physiopathologique de l'Homocystéine

1- Formation d'athérome

L'homocystéine possède de nombreuses actions sur le système cardiovasculaire :

- dysfonctionnement endothélial (**Loscalzo, 1996 ; Zhang *et al.*, 2000 ; Doshi *et al.*, 2005**) et inhibe la relaxation vasculaire induite par le NO sur des aortes isolées de rat (**Emsley *et al.*, 1999**) et même in vivo (**Fu *et al.*, 2005**).
- prolifération des cellules musculaires lisses (**van Guldener et Stehouwer, 2000 ; Murthy *et al.*, 2005**), et initie aussi la production de TNF- α et de nombreux signaux cellulaires impliqués dans le processus inflammatoire (**Hofmann *et al.*, 2001 ; Wang *et al.*, 2005**).
- modification de la matrice extracellulaire (**Chaussalet *et al.*, 2004**) et oxydation des lipoprotéines (**Heinecke *et al.*, 1987 ; Heinecke, 1988 ; Bellamy *et al.*, 1997**).
- L'homocystéine se lie aux lipoprotéines et augmente ainsi leur capacité de liaison à la fibrine, potentialisant le risque athérogène (**McCully *et al.*, 1990**).
- Elle exerce son rôle pathogène par action sur plusieurs voies de la coagulation (**Abecassis *et al.*, 2004**).

2- Carcinogénèse

- Les cellules cancéreuses ont un défaut de métabolisation de l'homocystéine situé sur la voie de formation du thiorétinaco, (**McCully, 1994**). Une carence en thiorétinaco mitochondrial est associée à une formation excessive d'espèces radicalaires dans les cellules malignes et sénescentes (**Guilland *et al.*, 2003**).
- La S- adénosyl-homocystéine inhibe le transfert des groupes méthyles de la S- adénosyl-méthionine aux cytosines de l'ADN, par les méthyl transférases (**Ueland, 1982**) et inhibe le transfert de méthyle aux œstrogènes réalisé par les catéchol-O- methyl transférases (**Chen *et al.*, 2005**), diminuant la détoxification de ces hormones carcinogènes et augmentant ainsi le risque de cancer du sein (**Mannisto *et al.*, 1992**).

3- Matrice extracellulaire

- L'hyperhomocystéinémie perturbe l'organisation des tissus conjonctifs entraînant un déplacement du cristallin (luxation), une hyperlaxité ligamentaire et un développement anormal des cartilages.
- Elle agirait sur les fibrines mais aussi sur les collagènes (**Khan *et al.*, 2001**).

- L'Hcy induit directement l'expression des gènes codant pour le procollagène de type I et d'inhibiteur tissulaire de métaloprotéinase-1 (TIMP 1) dans les hépatocytes in vitro (Torres *et al.*, 1999), suggérant que l'Hcy puisse être un inducteur efficace de la fibrogenèse hépatique (Torres *et al.*, 1999 ; Garcia-Tevijano *et al.*, 2001).
- Elle pourrait aussi perturber le métabolisme des protéoglycanes soufrés tels le dermatane et l'héparane sulfate (Khan *et al.*, 2001). Par ailleurs, un taux élevé d'héparane sulfate est révélé chez des patients présentant une homocystéinémie supérieure à 15 $\mu\text{mol/l}$ (Briani *et al.*, 2005).
- L'augmentation de la sécrétion des métalloprotéinases élastolytiques de type 2 et 9 (MMP2 ; MMP9) par la dégradation de la structure élastique de la paroi artérielle au niveaux pathologiques de l'homocystéine (Chaussalet *et al.*, 2004).

4- Effet de l'homocystéine sur l'endothélium

- **Stress oxydatif**

L'homocystéine possède in vitro une action pro-oxydante, son groupe thiol étant oxydé peut former des espèces réactives de l'oxygène (anions superoxydes O_2^- , peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , et de radicaux hydroxyl OH^\cdot). Ces radicaux favoriseraient la discontinuité des cellules endothéliales in vitro qui est traduit par des lésions et de dysfonctionnement cellulaires (Loscalzo *et al.*, 1996). L'homocystéine peut également sensibiliser les cellules au stress oxydatif en diminuant l'expression d'une large gamme d'enzymes anti-oxydantes ; superoxyde dismutase (SOD) et glutathion peroxydase (GPX) sont les plus affectées. Des résultats indiquent notamment que l'expression et l'activité de l'hème oxygénase-1 et de la glutathion peroxydase étaient diminuées lors de cultures de cellules endothéliales après traitement par de l'homocystéine (Outinen *et al.*, 1999 ; Upchurch *et al.*, 1997).

L'effet pro-oxydant de la L-homocystéine peut être expliqué par un mécanisme appelé « eNOS uncoupling » (Pritchard *et al.*, 1995 ; Zhao *et al.*, 2003). Brièvement, la L-homocystéine fait qu'eNOS devient la source majeure de l'anion superoxyde (O_2^-). L' O_2^- inactive rapidement NO, conduisant à la formation de fortes concentrations de peroxynitrite (ONOO^-), un oxydant très puissant et toxique.

- **L'apoptose**

Zhang *et al.*, (2001) ont démontré que l'homocystéine induit la mort cellulaire par apoptose des cellules endothéliales humaines en culture par l'activation de l'UPR (Unfolded Protein Response). La voie de signalisation de l'UPR est régulée par une protéine

kinase transmembranaire de type-I ER (IRE-1) et des agents d'induction du stress du réticulum endoplasmique (RE). L'IRE-1 est responsable de la transduction du signal d'accumulation de UPR. L'activation de IRE-1 induite par l'Hcy provoque une activation rapide et soutenue des JNK-kinases (c-Jun N-terminal kinase), (**Cai *et al.*, 2014; Urano *et al.*, 2000**). Puisque l'activation persistante de JNK-kinases est associée à la mort par apoptose (**Chen *et al.*, 1996**), il est possible que l'Hcy induise la mort cellulaire par un mécanisme UPR-dépendant.

En outre, l'activation de la caspase 3 est essentielle pour l'apoptose induite par l'Hcy. Elle est impliquée dans l'apoptose des cellules HL-60 (**Huang *et al.*, 2001**), des cellules endothéliales (**Tyagi *et al.*, 2006**) et des cellules stromales humaines (**Kim *et al.*, 2006**).

Chapitre II : Généralité sur le lycopène

I. Généralité sur le lycopène

1- Définition

Le lycopène est un pigment naturel, il donne sa couleur rouge aux tomates, pastèques et papayes ... synthétisé par les végétaux et les microorganismes, appartenant à la famille des caroténoïdes, Le lycopène est le terpène caroténoïdien le plus abondant dans le fruit de tomate (**Boumendjel *et al.*, 2012**).

Son nom latin de la tomate : *Solanumlycopersicum*, il donne de la couleur à certains aliments, Il a aussi des propriétés antioxydants ; c'est-à-dire qu'il amoindrit les dommages faits aux cellules et réduit les risques de développer des cancers ou certaines maladies (**Gibault, 2006**).

La capacité du lycopène à neutraliser des radicaux libres est le double de celle de la bêta-carotène et elle est de 10 fois supérieure à celle de l'alpha-tocophérol et l'un des antioxydants les plus puissants parmi toutes les substances caroténoïdes ce qui rend sa présence très désirable dans la diète. Les radicaux-oxygène libres et les processus oxydatifs sont impliqués dans la physiopathologie de plusieurs maladies chroniques. La puissance de lycopène conférant ainsi un rôle dans la prévention des cancers et de l'athérosclérose en diminuant les dommages causés par l'oxydation tant au niveau des lipides et des lipoprotéines que des protéines et de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Il serait également la substance caroténoïde prédominante dans le plasma humain. Le lycopène étant liposoluble, il se retrouve généralement à l'intérieur des membranes cellulaires et dans diverses composantes lipidiques telles que les lipoprotéines de basse densité (LDL pour low density lipoproteins) et les lipoprotéines de très basse densité (VLDL pour very low density lipoproteins). Il serait donc logique de penser que son pouvoir de captation des radicaux libres est optimal dans un environnement lipidique (**Véronique et Daniel, 2001**).

2- Structure chimique de lycopène

Le lycopène est caractérisé par une structure acyclique symétrique contenant onze doubles liaisons conjuguées dans le centre de la molécule et deux non conjuguées qui confèrent à la molécule sa couleur rouge (figure 04).

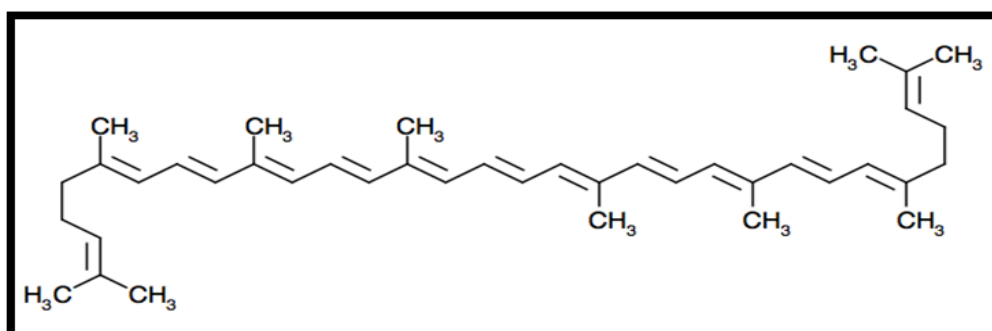


Figure 04 : Formule chimique du Lycopène (Boumendjel *et al.*, 2012).

3- Propriétés physico-chimiques

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

Tableau 02 : Propriétés du lycopène (Shie et Le Maguer, 2000).

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

Les procédés thermiques, tels la cuisson et le blanchiment représentent les principales causes de la perte et du changement de la configuration du lycopène (tableau 02). Notons que les isomères cis augmentent avec la température et le temps de transformation de l'aliment (Shie et Le Maguer, 2000).

Tableau 03 : Taux de perte du lycopène lors de la cuisson du jus de tomate (Shie et Le Maguer, 2000).

Température (°C)	Perte de lycopène (%)		
	1min de cuisson	3min de cuisson	7min de cuisson
90	0,6	0,9	1,1
110	2,2	3,2	4,4
118	3,7	6,0	9,1
124	5,5	8,5	12,5
130	7,4	11,5	17,1

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

4- Les sources alimentaires

Tableau 04 : Teneur en lycopène dans les tomates et produits de tomates et quelques aliments (Teneurs Approximatives selon les analyses de différents laboratoires) (Véronique et Daniel, 2001).

ALIMENTS	TENEUR (Mg /100g)
tomates fraîches	0.88 à 4,20
Tomates cuites	3,70
Sauce tomate	6,20
Concentré de tomate	5,4 à 150
Soupe de tomate	7,99
Poudre de tomate	11,20 à 12,60
Jus de tomate	5 à 11,60
Tomate séchée - à l'huile	46,50
Sauce pizza	12,70
Ketchup	9,90 à 13,40
Abricot	<0,01
Pastèque	2,30 à 7,20
Papaye	2 à 5,30

5- Niveau de consommation du lycopène

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

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

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

6- Digestion et absorption

De nombreux travaux, en cours, s'attachent à définir les mécanismes d'absorption compétitive entre caroténoïdes ou entre caroténoïdes et autres molécules lipidiques comme la vitamine E.

Plus de 50 caroténoïdes sont présents dans notre alimentation et sont susceptibles d'être dégradés dans l'estomac et dans l'intestin ou d'être absorbés, métabolisés et utilisés par l'organisme. Les lipides alimentaires, jouent un rôle important dans la dissolution des caroténoïdes et leur absorption car, l'ingestion simultanée de lipides stimule le flux biliaire, et la sécrétion des enzymes pancréatiques, permettant la formation des micelles (**Benakmoum, 2009**).

L'absorption du lycopène peut être affectée par plusieurs facteurs et propriétés des aliments. Parmi ces facteurs :

- La quantité de lycopène ingérée dans un repas.
- Le type d'aliment dans lequel se trouve le lycopène.

- L'ingestion simultanée de fibres alimentaires, l'interaction du lycopène avec d'autres substances caroténoïdes ou nutriments, la présence de protéines ou de lipides (**Véronique et Daniel, 2001**).
- La grosseur des particules alimentaires et les facteurs génétiques (**Shi et Le Maguer, 2000**).

Le lycopène est isomérisé de la configuration trans à la configuration cis, résultant en une molécule plus instable et riche en énergie, ce qui augmente l'absorption par la transformation des tomates (**Benakmoum, 2009**).

Dans le plasma, les substances caroténoïdes sont transportées exclusivement par les lipoprotéines. Le lycopène, substance caroténoïde dominante dans le plasma humain, possède une demi-vie de deux à trois jours dans l'organisme sous forme d'un mélange contenant 50 % de forme cis et 50 % de forme trans (**Stahl et Coll, 1992**).

L'absorption du lycopène semble plus importante lorsqu'il est ingéré à petite dose, toutefois la présence de bêta-carotène augmente son absorption et Les fibres alimentaires diminuent la biodisponibilité du lycopène (**Djouidi, 2016**).

7- Transport et métabolisme

Le lycopène, une fois ingéré va être intégré dans les micelles mixtes et absorbé dans les entérocytes par diffusion passive mais également via un processus actif. En effet, **Moussa et al** ont montré en 2008 que le récepteur scavengerreceptor B1 (SRB1) était impliqué dans l'absorption du lycopène par les cellules intestinales humaines mais aussi chez la souris (**Moussa et al., 2008**). Il est ensuite incorporé dans les chylomicrons au niveau de système lymphatique pour être transportés dans le foie. Le lycopène est principalement transporté ensuite par des lipoprotéines (VLDL) dans le plasma pour être redistribué vers les organes cibles et/ou de stockage. Parmi ces organes, les testicules accumulent une grande quantité de lycopène et aussi le tissu adipeux (**Chung et al., 2009**).

Dans le sérum et les tissus humains, plus de 50 % du lycopène se retrouve sous la configuration cis. Ce changement de structure implique également un changement de l'activité biologique. De fortes concentrations d'isomères cis ont été observées dans le sérum et dans des tissus prostatiques suggérant que l'isomérisation du lycopène de sa forme cis à trans puisse se faire in vivo au niveau des tissus (**Véronique et Daniel, 2001**).

L'isomère cis présente une meilleure biodisponibilité que le trans, probablement parce qu'il est plus facilement solubilisé par les sels biliaires et ainsi plus facilement incorporé aux chylomicrons. Après la formation de la micelle et la solubilisation du lycopène, ce dernier passe dans les cellules de la muqueuse intestinale par diffusion passive où il sera incorporé aux chylomicrons (**Benakmoum, 2009**).

La métabolisation de lycopène reste encore à compléter. La bêta-carotène 15,15'-monooxygénase 1 (BCMO1) et la bêta-carotène 15,15'-monooxygénase 2 (BCMO2) ce sont des enzymes impliqués dans le métabolisme *in vitro* et *in vivo*, de lycopène ; Ces deux enzymes sont surtout bien connues pour cliver respectivement de façon symétrique et asymétrique le Bêta-carotène, aboutissant à la formation d'acide rétinolique et d'apo-caroténals. La contribution relative de chacune et leur activité respective sur le lycopène restent cependant à préciser (**Erwan, 2010**).

Hu *et al.*, (2006), ont montré qu'une surexpression de BCMO2 chez le furet permettait la détection de métabolites dont l'apo 10' lycopenal et du 13 cis apo 10' lycopenal après incubation avec le 5-cis lycopène mais pas avec le all-trans lycopène.

Sur la base de ces résultats, les auteurs ont proposé une voie métabolique possible du lycopène. Les résultats sur la conversion du 5-cis lycopène en apo-lycopénal ont été confirmés *in vivo* chez le furet, un animal dont le métabolisme des caroténoïdes est proche de celui de l'Homme (**Erwan, 2010**).

La présence d'autres métabolites, l'apo-8'-lycopenal et l'apo-12'-lycopénal, a été démontrée dans le foie de rat suite à un régime riche en lycopène (**Gajic *et al.*, 2006**).

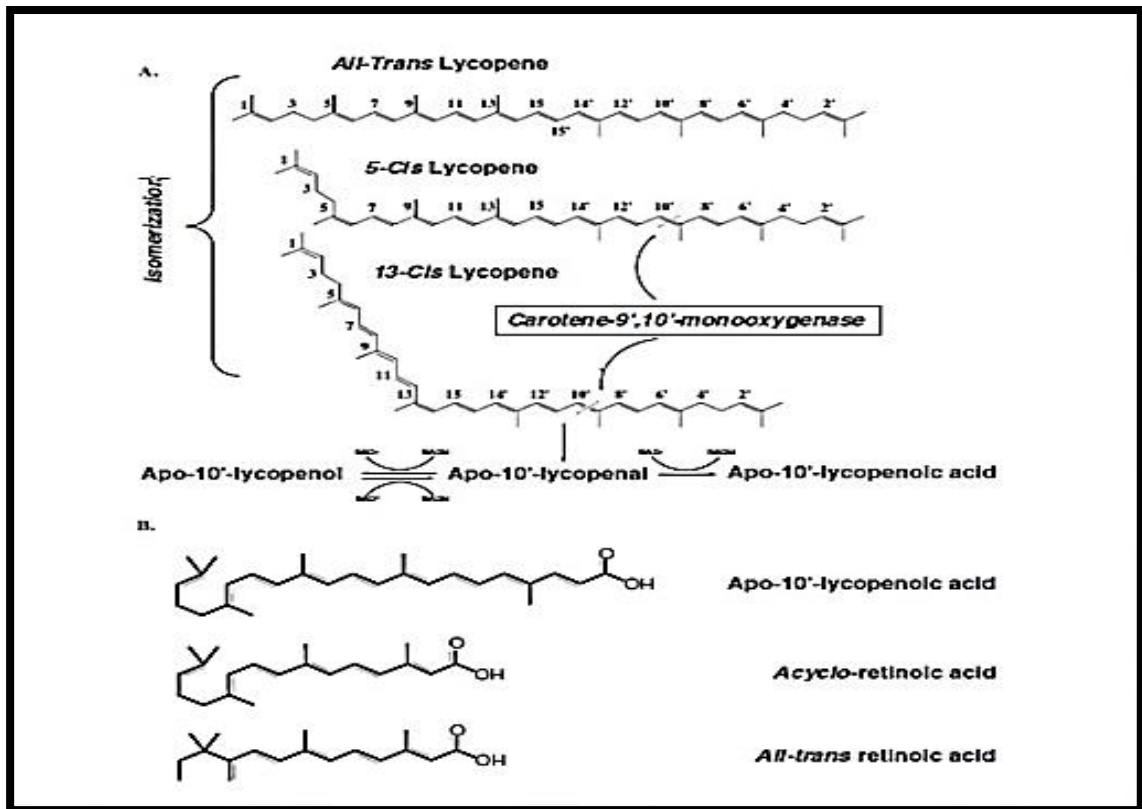


Figure 05 : Schémas de la voie métabolique du lycopène (jonathan *et al.*, 2012).

(A) 5-cis et 13-cis lycopène sont préférentiellement clivée par CMO2 en 9'10' double liaison. Le produit de clivage, l'apo-10'-lycopenal, peut être oxydé en outre l'apo-10'-lycopenol ou réduite à l'apo-10'-acide lycopenoic, dépendante de la présence de NADH.

(B) Les structures chimiques de l'apo-10'-lycopenoic, l'acide acyclorétinoic, et acide tout trans rétinoïque (jonathan *et al.*, 2012).

8- Répartition dans les tissus

La concentration moyenne de lycopène de différents tissus chez l'humain et le rat :

Tableau 05 : Concentration moyenne du lycopène (et SD) nmol/g de poids (**Véronique et Daniel, 2001**).

Tissus	Humain	Rat
Testicule	4,34 à 21,36	NA
Rate	NA	21,21 (2,22)
Glande surrénal	1,90 à 21,60	NA
Foie	1,28 à 5,72	20,30
Sein	0,78	NA
Poumon	0,22 à 0,57	0,115 (0,015)
Pancréas	0,70	NA
Prostate	0,80	0,32 (0,06)
Cœur	NA	0,08 (0,03)
Rein	0,15 à 0,62	NA
Colon	0,31	0,046 (0,006)
Cerveau	ND	0,017 (0,006)
Estomac	0,20	NA
Ovaire	0,30	NA
Peau	0,42	NA

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

9- Mécanismes d'action du lycopène

Deux hypothèses principales ont été proposées pour expliquer les activités antiathérogènes du lycopène : mécanismes non oxydatif et oxydatif.

Les mécanismes non oxydatif a été suggéré qu'en raison de la réglementation de l'écart-jonction de communication dans les cellules de fibroblastes d'embryon de souris.

L'hypothèse de l'oxydation figure l'oxydation du LDL dans l'étape primaire initiale conduisant à son absorption par les macrophages à l'intérieur de la paroi artérielle et la formation de

cellules spumeuses et la plaque athéromateuse. Les modifications oxydatives reflètent non seulement les acides gras polyinsaturés acides(AGPI), mais aussi l'oxydation du cholestérol, des phospholipides. En plus de la formation de cellules spumeuses et la plaque dans la paroi artérielle, les composants de LDL oxydé peuvent également influencer d'autres événements qui ont trait à l'augmentation du risque de maladie coronarienne. Il s'agit notamment de leur capacité à augmenter l'accumulation de cholestérol par les macrophages, leur capacité à produire des protéines avec une activité chimiotactique de monocytes et de l'activité cytotoxique pour une variété de cellules, provoquant des lésions endothéliales. Lycopène a également été montré pour agir comme un agent hypocholestérolémiant par inhibition de l'enzyme HMG-CoA réductase et a émis l'hypothèse d'empêcher l'athérogenèse en protégeant critiques biomolécules cellulaires, notamment les lipides, les lipoprotéines, les protéines et de l'ADN.

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

II. Effets biologiques

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

1- Prévention des maladies cardio-vasculaires

EURAMIC (europeanmulticenter case-control study on Antioxidants, Myocardial /infarction, and Cancer of the breast), l'une des études les plus importantes en terme de nombre de personnes recrutées, a permis de mettre en évidence les effets bénéfiques du lycopène sur les maladies cardiovasculaires.

- Cette étude réalisée entre 1991 et 1992 pour but d'évaluer les liens existants entre les concentrations de certains caroténoïdes (lycopène, alpha et bêta-carotène et rétinol) dans le tissu adipeux et le risque de maladies cardiovasculaires. Les résultats démontrent que le lycopène est le seul caroténoïde dont l'effet protecteur persiste de manière indépendante, après prise en compte des autres facteurs de risque cardiovasculaire (**Virtanen *et al.*, 1996**).

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

- In vitro, le lycopène et d'autres substances caroténoïdes ont la capacité d'inhiber l'oxydation des LDL. Le lycopène pourrait également agir comme hypocholestérolémiant en inhibant la synthèse du HMGCoA (hydroxy-3-méthyl glutaryl coenzyme A) réductase (**Fuhrman et al., 1997**).

- La relation entre le taux d'antioxydant et les infarctus du myocarde a été évaluée dans une étude multicentrique cas/témoins. Après ajustement pour l'étendue des variables alimentaires, seul la concentration en lycopène s'est avérée être protectrice. Un taux de lycopène sanguin faible a également été associé à une augmentation du risque de mortalité par maladie cardiovasculaire (**Kristenson et al., 1997**).

- Une étude menée auprès de sujets ayant une alimentation dépourvue de lycopène sur une période de deux semaines. Une diminution de 50 % du taux de lycopène sérique et une augmentation de 25 % de l'oxydation des lipides a été observée (**Rao et al., 2000**).

- Une autre étude a démontré que la consommation d'au moins 40 mg de lycopène chez 19 sujets diminuait significativement l'oxydation des LDL sans toutefois changer les taux de cholestérol total, de LDL, de lipoprotéine de haute densité et des triglycérides. Dans une étude menée auprès de 6 hommes, la prise de 60 mg de lycopène pendant 3 mois a réduit de 14 % le taux de LDL (**Fuhrman et al., 1997**).

2- La prévention du cancer

Il existe un lien entre une forte consommation de tomates (ou en produit dérivés de la tomate) et une réduction significative de la mortalité due aux cancers, notamment ceux de la prostate, du poumon, de l'estomac, du colon, du rectum (**Giovannucci et al., 1995, 1999, 2002**).

Dans des études in vitro démontrent que le lycopène était puissant pour inhiber le développement de cellules cancéreuses par l'effet d'augmenter les communications intercellulaires des cellules fibroblastiques. Ces communications intercellulaires sont importantes dans la prévention ou la réversion de transformations de cellules malignes (**Agarwal et al., 2000**).

Ces résultats ont été confirmés in vivo : un régime à base de sauce tomate, apportant 30mg par jour pendant 3 semaines, chez des hommes présentant un adénocarcinome de la prostate

localisé a conduit à une diminution des dommages à l'ADN au niveau des biopsies (**Bowen et al., 2002**).

D'autres mécanismes ont été démontrés dans d'autres modèles cellulaires. Ils ont permis la mise en évidence d'une voie d'action ne reposant pas sur son pouvoir anti-oxydant, mais sur sa capacité à réguler l'expression génique. Ces effets ont été étudiés sur différents modèles, principalement de cancer. Ainsi, il a été mis en évidence un renforcement des jonctions cellulaires via une augmentation de l'expression de la connexine 43 par le lycopène (**Stahl et al., 2000**).

Ce caroténoïde est également capable de diminuer l'expression des métalloprotéinase 2 et 9 (MMP-2, MMP-9), des protéines jouant un rôle dans la dissémination métastatique dans un modèle de carcinome hépatique ou encore d'augmenter l'expression du gène suppresseur de tumeur Nm23-H1 (**Huang et al., 2005 ; 2006**). Enfin, une autre étude a montré également sa capacité à réguler des gènes dans des cellules cancéreuses de sein (**Chalabi et al., 2007**).

3- Lutter contre le stress oxydative

La capacité du lycopène à neutraliser les radicaux libres provenant de l'oxygène moléculaire se fait physiquement et chimiquement. Le transfert de l'énergie d'excitation de l'ion d'oxygène vers la molécule de lycopène produit une molécule d'oxygène plus stable et une molécule de lycopène en état d'excitation qui dissipera son excédent d'énergie sous forme de chaleur.

Une grande consommation de tomates a régulièrement été associée à une diminution du risque de souffrir d'un cancer du système digestif, Il a été suggéré que la diète méditerranéenne, riche en fruits et légumes, notamment en tomates, soit responsable de la faible incidence de cancer dans cette région (**Véronique et Daniel, 2001**).

4- Effets sur d'autres pathologies

Une autre étude sur des cellules endothéliales stimulées par du TNF-alpha a montré un effet similaire sur la voie NF κ B (**Hung et al., 2008**). Cette capacité anti inflammatoire a permis d'ouvrir d'autres pistes explicatives en rapport avec les effets connus du lycopène. Le lycopène est donc maintenant reconnu pour ses effets bénéfiques sur différents types cellulaires ou organes, et les mécanismes expliquant des effets commencent à être décryptés. La consommation de lycopène, chez des sujets légèrement hypertensifs a résulté en une réduction significative de la tension artérielle systolique et diastolique.

Le sperme humain, qui contient des taux élevés d'acides gras insaturés dans la membrane cellulaire, présente un risque élevé de dommages oxydatifs, lesquels mènent à une fonction anormale. Des hommes infertiles ayant reçu 8 mg de lycopène par jour sous forme de gélule, ont connu une amélioration significative de la qualité du sperme, incluant un accroissement de la densité, de la concentration fonctionnelle et de la mobilité. Après avoir traité ces hommes par le lycopène pendant 12 mois, on a rapporté un taux de grossesse de 36% chez leurs partenaires **(Benakmoum, 2009)**.

L'emphysème est un trouble de santé humaine important qui est associé, entre autres facteurs, avec l'habitude de fumer. Le lycopène provenant de jus de tomates a conféré, à des souris, un effet protecteur significatif contre les troubles alvéolaires causés par la fumée. Ce qui laisse présager, d'un effet protecteur contre l'asthme et l'emphysème **(Benakmoum, 2009)**.

Il est raisonnable de conclure que le lycopène est un phyto-nutriment bénéfique aux propriétés antioxydantes puissantes, qui joue un rôle important dans la prévention de bon nombre de maladies chroniques **(Benakmoum, 2009)**.

Matériel & Méthodes

- L'expérimentation entretenue dans cette présente étude, sont réalisées in vivo. Cette dernière a pour objectifs d'induire un état d'Hyperhomocystéinémie chez les rats et d'évaluer par la suite l'impact du lycopène sur le profil biochimique plasmatique (Cholestérol totale, LDLc, HDLc et les Triglycérides), CRPus et sur l'histologique de l'aorte.
- Le stage a été effectué au niveau du laboratoire biochimique à l'hôpital de la willaya de Tipaza (durent 3 semaines).
- Nous tenons à préciser que nous avons reçu des échantillons de la part de notre encadreur.

I. Matériel biologique

1- Choix et entretien du modèle animal

Le matériel biologique de base dans notre étude est le rat blanc adultes de la souche Wistar (*Rattus norvegicus*) provenant de l'institut pasteur d'Alger. Afin d'éviter la variabilité inter sexe, nous avons utilisé que des mâles. L'expérimentation est réalisée au niveau de l'animalerie de l'USTHB.

➤ Caractéristique de rat Wistar

-Nom scientifique : *Rattus norvegicus*

-Apparence : pelage blanc et soyeux, une large tête, de petites oreilles, des yeux rouges globuleux et une longue queue.

- Reproduction : durant toute l'année.

- Gestation : 21 jours en moyenne.

- Poids du raton à la naissance : près 5 grammes.

- La puberté : survient entre 50 et 60 jours après la naissance chez les deux sexes.

-Poids adulte : 300-900g.

- Durée de vie : 2 à 3 ans.

-Température corporelle (°C) : 37,5-38.5.

-Rythme cardiaque (batts /min.) : 305(270-350).

-Pression artérielle (mm Hg) : 110-120.

-Volume urinaire (ml/24h//100g) : 5,52.

➤ **Caractéristique de l'animalerie**

Les animaux sont adaptés individuellement, en cage de polystyrène thermoformée, munies d'un couvercle en acier inoxydable. En accord avec les standards accrédités par le Ministère de l'Agriculture et de l'Environnement, dans une pièce maintenue en surpression et éclairée 12/24 heures. La température est contrôlée à $24 \pm 2^\circ\text{C}$ avec une humidité relative de 55 %.

2- Régime alimentaire

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

3- Protocole expérimental

L'expérimentation est constituée de 40 rats de sexe mâle, provenant de l'Institut Pasteur d'Alger, ayant un poids corporel moyen de $191,99 \pm 11,20\text{g}$ au début de l'expérimentation. Après une période d'adaptation de deux semaines, ils sont répartis en 4 lots identiques (10 rats dans chaque lot répartis aléatoirement).

Dans le cadre de notre travail, un état d'Hyperhomocystéinémie est induit expérimentalement
Par :

➤ **La DL- méthionine :**

Une administration quotidienne per os d'un excès de méthionine (DL-Méthionine, Sigma) dissoute dans une solution de Na Cl à 0.9%. Nous avons étudié l'effet d'une seule dose de méthionine : 500 mg/Kg de poids corporel par jour.

Et une supplémentation en lycopène, afin d'évaluer l'impact de ce dernier sur une Hyperhomocystéinémie.

➤ **Lycopène :**

Le lycopène, administré aux rats des lots 3 et 4, est un antioxydant naturel extrait de la tomate. Il se présente sous forme de pastilles de 10mg (lyc-o-mato). Ce dernier est un extrait naturel de tomate, riche en lycopène et autres molécules bio actives naturelles, contenant une

mixture de lycopène oléorésine, de l'huile d'olive, de la gélatine, de la glycérine, de la lécithine de soja et du caramel comme colorant. Les solutions à administrer (lycopène dans 1ml d'huile d'olive) sont préparées quotidiennement, à l'abri de la lumière, pour éviter toute oxydation (Lee et Chen, 2002). Les pastilles de lycopène utilisées sont protégées par une enveloppe plastique opaque.

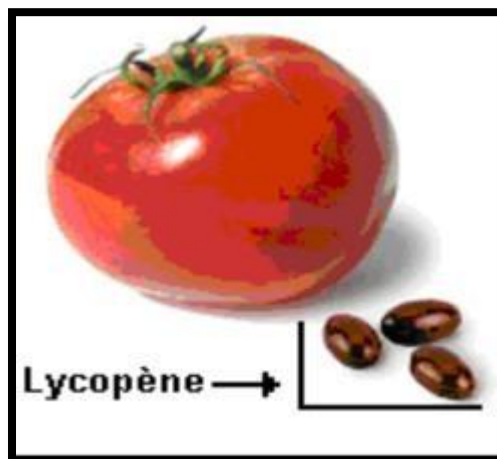


Figure 06: Pastilles de lycopène (lyc-o-mato, 10mg).

Répartition des rats

Lot	Lot 1 : TEM	Lot 2 : MET	Lot 3 : LYC	Lot4 : LYC+MET
Régime alimentaire	Rats témoins ont reçu : l'alimentation standard + eau physiologie (NaCl) dans les biberons pendant 3 mois.	Rats méthionine ont reçu : Alimentation standard + 500mg de Met /kg de pc/jour pendant 3 mois.	Rats lycopène ont reçu : (5mg/kg de pc/j dans une solution d'huile d'olive) pendant 3 mois	Rats lycopène + Méthionine ont reçu : 5mg/kg/pc/j de Lycopène et 500mg de méthionine dans des biberons) pendant 3 mois.

Avant les prélèvements sanguins, les rats sont restés à jeun pendant 24h pour éviter tous types d'interactions.

II. Méthodes

1- Techniques opératoires :

1-1- Technique d'Administration par gavage

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

1-2- Evaluation pondérale

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

1-3- Prélèvement sanguin

Pour le suivi des paramètres plasmatiques, des ponctions sont effectuées au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil à l'aide d'une pipette pasteur préalablement héparinée. Le sang aussi tôt prélevé sur tubes (héparines, EDTA, citratés et secs) est centrifugé à 3000 tr/mn pendant 10 minutes. Le plasma récupéré est conservé à -80°C pour le dosage des paramètres biochimiques plasmatiques (homocystéine, cholestérol total, triglycérides, HDLc et LDLc, et la CRP *us*).

1-4- Prélèvement des organes

Au terme de l'expérimentation (3 mois), les animaux sont sacrifiés, après anesthésie par injection intra péritonéale d'uréthane à 25%, à raison de 0,4 ml/100 g de poids corporel. L'aorte, objet de cette étude est prélevé, fixés pour l'étude histologique.

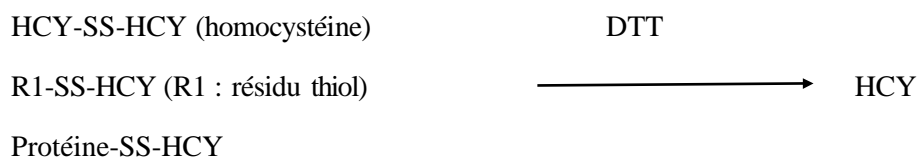
2- Techniques analytiques

2-1- Dosage de l'homocystéine plasmatique

L'homocystéine totale est dosée par la méthode de fluorescence polarisation immunoassay (FPIA), méthode quantitative automatisée sur analyseur AXSYM Abottdont le principe est le suivant :

- **La réduction :**

L'homocystéine, les disulfides mixtes et l'homocystéine liée aux protéines dans le plasma sont réduits en homocystéine libre par le dithiotréitol (DTT).



- **La conversion enzymatique :**

L'homocystéine totale libre est convertie en S-adenosyl-L-homocystéine(SAH) par la S-adenosyl-L-homocystéine hydrolase (SAHase) en présence de d'adénosine.

La SAH et le traceur marqué de fluorescéine concurrencent pour les sites sur la molécule monoclonale d'anticorps. L'intensité de la lumière fluorescente polarisée est mesurée par la FPIA optique.

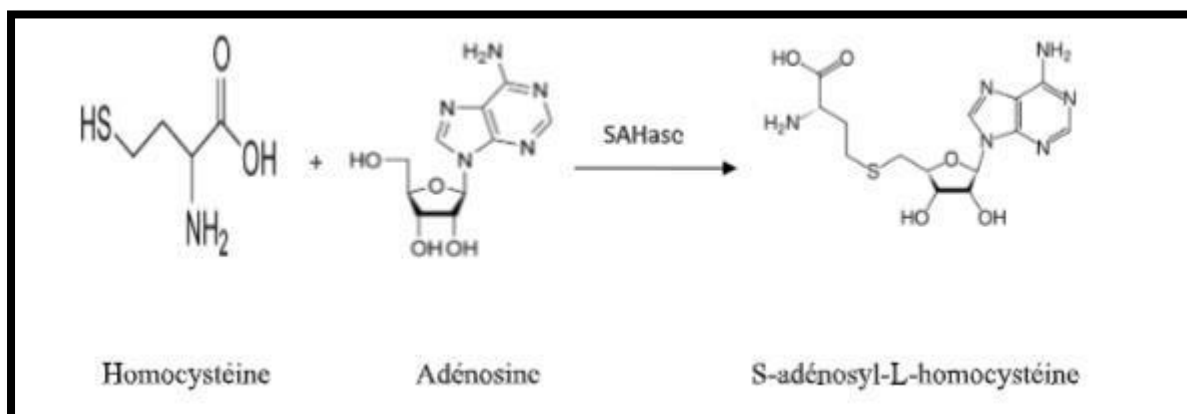


Figure 07: Conversion enzymatique de l'homocystéine libre.

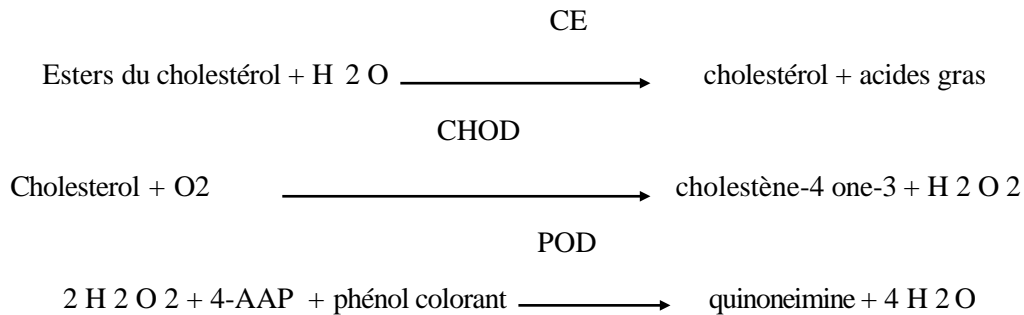
2-2- Dosage du Cholestérol total :

Le cholestérol plasmatique est déterminé automatiquement par La cassette COBAS INTEGRA Cholestérol (CHOLL) contient des réactifs de diagnostic in vitro destinés à la détermination quantitative du cholestérol total dans le sérum et le plasma sur les analyseurs COBAS INTEGRA. Donc c'est une Méthode enzymatique, colorimétrique (CHOD/PAP) utilisant la cholestérol-estérase, la cholestérol-oxydase et la 4-aminoantipyrine.

La cholestérol-estérase (CE) hydrolyse les esters du cholestérol pour former du cholestérol libre et des acides gras. Le cholestérol oxydase (CHOD) catalyse ensuite l'oxydation du

cholestérol en cholestène-4 one-3 et en H₂O₂. En présence de peroxydase (POD), le peroxyde d'hydrogène formé entraîne le couplage oxydatif du phénol et de la 4-aminoantipyrine (4-AAP) pour former un colorant quinoneimine rouge.

- **Principe :**



L'intensité de la couleur du colorant quinoneimine rouge est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol. On la mesure avec l'augmentation de l'absorbance à 520 nm.

- **Protocole**

-Avant de procéder au dosage, les sérums doivent être placés dans de la glace pour décongélation.

-Puis on pipette 50 µl de sérum et 200 µl de l'eau distillée, dans les tubes des échantillons codés et placés déjà dans un portoir.

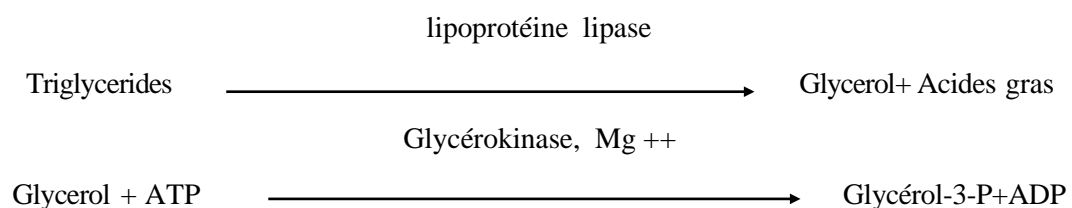
- Par la suite, il faut bien agiter les tubes au moyen de l'agitateur.

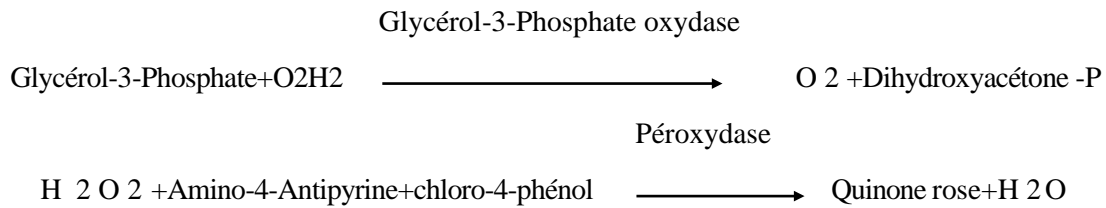
-Après l'agitation, on met le portoir dans l'automate pour donner la concentration du cholestérol.

2-3- Dosage des triglycérides

L'évaluation des triglycérides plasmatiques se fait à l'aide de kit Biomaghreb par la technique colorimétrique enzymatique selon les réactions suivantes :

- **Principe :**





La quinone ainsi produite est révélée à 505 nm.

- **Protocole du dosage**

-Avant de procéder au dosage, les sérums doivent être placés dans de la glace.

-Puis on pipette 10 µl de sérums, dans les tubes des échantillons codés et placés déjà dans un portoir. Mettre dans chaque tube d'essai 1000 µl de réactif. Ajouter 10 µl de la solution d'étalon dans le tube placé à cet effet (tube pour étalon).

-Par la suite, il faut bien agiter les tubes au moyen de l'agitateur.

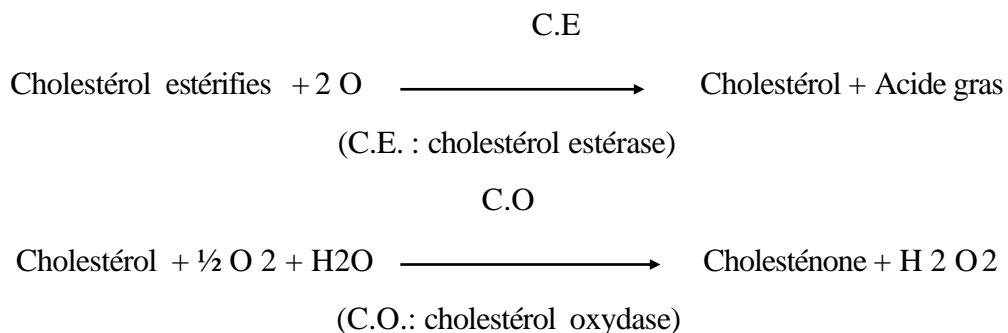
-Après l'agitation, laisser les tubes incubés pendant 10 minutes à la température ambiante (20-25°C) pour que les réactions arrivent au point maximal.

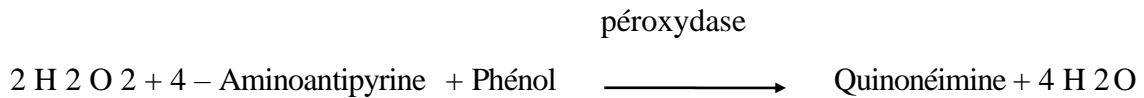
-L'étape finale consiste à déterminer la concentration des triglycérides en mesurant l'absorbance des solutions réactionnelles au moyen du spectrophotomètre à 505 nm de longueur d'onde.

2-4- Dosage des lipoprotéines hautes densité (HDLc) :

Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de faible densité (LDL) présentes dans l'échantillon, précipitent en présence de phosphotungstate et d'ions magnésium. Le liquide surnageant de la centrifugation contient les lipoprotéines de densité élevée (HDL), dont le cholestérol est quantifié spectrophotométriquement grâce aux réactions couplées décrites ci-dessous.

- **Principe**





L'intensité de la coloration de la quinonimine, mesuré à 505 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présent dans l'échantillon. Le dosage se déroule en deux étapes :

- Les chylomicrons et les fractions VLDL et LDL sont éliminées et détruites par réaction enzymatique.
- Le cholestérol restant dans la fraction HDL est dosé par l'intermédiaire de réactions enzymatiques en présence de surfactants spécifiques du HDL.

- **Protocole de dosage :**

a. Précipitation :

- Pour le dosage du cholestérol-HDL, la première étape consiste à pipeter dans des tubes à centrifuger 100 µl de sérum (90 µl d'eau distillée et 10 µl de sérum).
- Ajouter 250 µl de réactif (A).
- bien mélanger les tubes par l'agitateur.
- laisser les tubes pendant 10 minutes à la température ambiante.
- Centrifuger les tubes pendant 10 minutes à 4000 tours, pour avoir le surnageant.

b. Colorimétrie :

- Pipeter dans des tubes à essai vide à échantillons 20 µl de surnageant et 400 µl de réactif (B).
- Ajouter dans le tube du blanc 20 µl d'eau distillée et 400 µl de réactif B.
- Lancer une autre agitation.
- Laisser incubé les tubes pendant 30 minutes à température ambiante.
- Placer le blanc à l'appareil pour régler le zéro du spectrophotomètre puis en place les autres tubes.

2-5- Dosage des lipoprotéines basses densité (LDLc) :

La concentration du LDL cholestérol est calculée à base de la concentration du cholestérol total, de la concentration de HDL cholestérol et de la concentration de triglycéride selon **Freidewald *et al*, 1972.**

La formule de Friedewald : $LDL = CT - [(TG/5) + HDL]$

2-6- Dosage de la protéine C réactive ultrasensible (CRP_{us})

La CRP ultrasensible est déterminé automatiquement par la cassette COBASINTEGRA C-Reactive Protein (Latex) (CRPLX) contient des réactifs de diagnostic in vitro destinés à la détermination immunologique quantitative de la protéine C-réactive dans le sérum et le plasma sur les analyseurs COBAS INTEGRA par la méthode turbidimétrique à 552 nm.

- **Principe**

La CRP réagit dans une réaction d'agglutination avec les particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-CRP. Le précipité est mesuré par méthode turbidimétrique à 552 nm.

- **Protocole**

-Avant de procéder au dosage, les sérums doivent être placés à l'air ambiant.

-Puis on procède au transvasement des sérums, 50 µl de volume et 200 µl d'eau distillée, dans les tubes des échantillons codés et placés déjà dans un portoir.

-Par la suite, il faut bien agiter les tubes au moyen de l'agitateur.

-Après l'agitation, on met le portoir dans l'automate pour donner la concentration du CRP us.

3- Techniques histologiques

a. La fixation

A pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle se fait immédiatement après le prélèvement, par immersion du l'aorte dans un grand volume de liquide fixateur. Les liquides fixateurs les plus utilisés sont le formol.

b. La déshydratation

Les microcassettes sont placées dans l'automate pour la déshydratation. Elle s'effectue par un passage d'échantillon dans des bains d'alcool de degré croissant (50°, 70°, 90°, 96°, 100°) de 1h30 chacun, afin d'enlever le fixateur et éliminer l'eau contenue dans les cellules pour une bonne pénétration de la paraffine qui est non-miscible à l'eau.

c. L'éclaircissement

Appelée aussi clarification, elle permet l'élimination complètement des traces d'alcool par l'immersion de l'aorte dans un bain de butanol.

d. L'imprégnation

L'échantillon est ensuite imprégné dans un bain constitué de moitié butanol, moitié paraffine. Pendant 2 heures, suivies de deux bains de paraffine pure fondue à 60°C dans l'étuve pendant 2 heures chacun pour assurer l'entrée progressive de la paraffine dans l'aorte.

e. Inclusion

Consiste à faire des blocs ou cubes de paraffine avec le matériel biologique enrobé. L'aorte est prélevée du milieu d'inclusion à l'aide d'une pince chauffée puis émerge dans la paraffine liquide contenue dans des moules spéciaux (barres de Leuckart). Ensuite la microcassette de la pièce est installée dans le moule en versant la paraffine sur le dessus et on la laisse refroidir 15 à 20 mn sur la plaque et se solidifier. Après solidification, les blocs sont retirés en écartant les barres et on obtient un bloc homogène et facile à couper.

f. L'étalement des coupes

Des coupes de 5 µm d'épaisseur ont été obtenues à l'aide d'un microtome, après avoir taillé, fixé et coupé les blocs. Les coupes sont ensuite étalées dans un bain-marie réglé à 40°C afin de les étaler et les déposer ensuite sur des lames. Ensuite nous les avons déposés sur une platine chauffante à 37°C pour le fixé, enfin, les lames étalées sont placées dans l'étuve pendant 24h avant procéder à la coloration.

g. La coloration topographique

Nous avons utilisé 2 colorations : Une coloration histologique topographique l'hématoxyline-éosine et coloration de rouge Sirius.

Nous avons procédé à la coloration de l'aorte par le rouge Sirius, afin de mettre en évidence la coloration des collagènes.

-L'hématoxyline-éosine : Permet de visualiser la morphologie des cellules (noyau et cytoplasme), c'est la plus simple des colorations « combinées » qui s'effectue avec 2 colorants :

- Un colorant nucléaire « basique » hématoxyline (bleu)
- Un colorant cytoplasmique « acide » type éosine, orange G... (rose orangé)

-Le Rouge Sirius : se fixe de façon empirique sur les fibres de collagène et de réticuline.

Cette coloration passe par les étapes suivantes :

- Déparaffinage : plonger la lame dans trois bains de xylène en agitant 3x5 min.
- Hydratation : plonger la lame dans trois bains d'alcool absolu (100%, 90%, 70%) et en agitant la lame 3x3 min, et rincer à l'eau distillé pendant 1mn.
- Coloration :

-Hématoxyline pendant 5min.

-Rinçage à l'eau courant.

-Plonger la lame dans le bain d'alcool acide.

-Rinçage à l'eau courant.

-Plonger la lame dans l'eau ammoniacale.

-Rinçage à l'eau courant.

-Plonger la lame dans le bain d'éosine (0,2%).

-Rinçage à l'eau courant.

-Plonger la lame dans le rouge Sirius pendant 15mn.

- Déshydratation : par l'alcool 100% pendant 5mn.
- Éclaircissement : plonger la lame dans trois bains de xylène en agitant la lame.

h. Montage et observation des lames

Le montage est la dernière étape de la préparation des lames histologique, il se réalise entre lame et lamelle en mettant une ou deux gouttes de l'Eukit sur la lamelle et la lame dans l'xylène ensuite on la dépose la lamelle sur la lame et on laisse sécher.

4- Méthode Statistique

Les résultats biochimiques (Homocystéine, cholestérol, triglycérides, lipoprotéines (LDLc et HDLc) et CRP_{us}, sont exprimés par la moyenne affectée de son écart type.

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

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

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

Résultats

I. Le poids des rats

Les pesées hebdomadaires effectuées pendant 3 mois ont permis le suivi du poids des rats Témoin (TEM) et soumis à une administration per os de méthionine à raison de 500mg/Kg de poids corporel/jour (MET et MET+LYC), ainsi que ceux prétraités au lycopène 5mg/ Kg de poids corporel/jour (LYC et MET+LYC). Les résultats sont consignés dans le tableau 06 et les figures 08 et 09.

Tableau 06 : Evolution pondérale (g) des rats

Durée (mois) \ Lots	T0	T1	T2	T3	% de gain
TEM	245,83 ± 4,50	243,18 ± 6,38	271,08 ± 6,55	310,50 ± 5,73	26,30
MET	249,85 ± 8,92	250,63 ± 4,67	275,18 ± 16,02	307,23 ± 6,60	22,96
LYC	218,57 ± 11,69	245,30 ± 2,28	252,96 ± 5,24	285,85 ± 9,39	12,84
MET+LYC	245,5 ± 2,36	237,71 ± 2,19	256,74 ± 5,38	288,60 ± 5,48	17,56

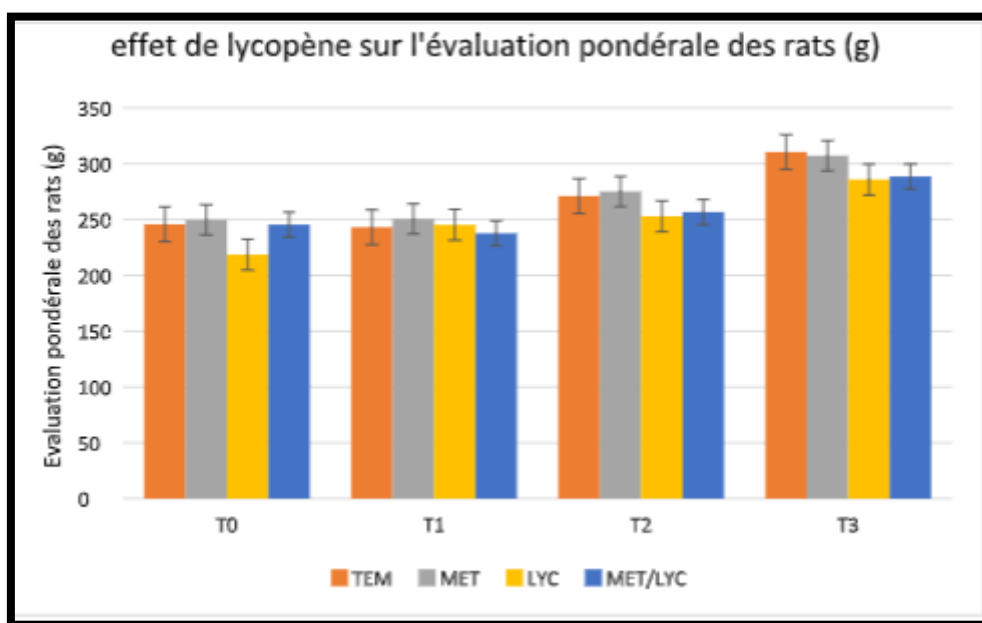


Figure 08 : Histogramme représentant l'évolution pondérale (g) des rats des différents lots.

T0 = réception des rats ; T3 = trois (03) mois de traitement (fin d'expérimentation)

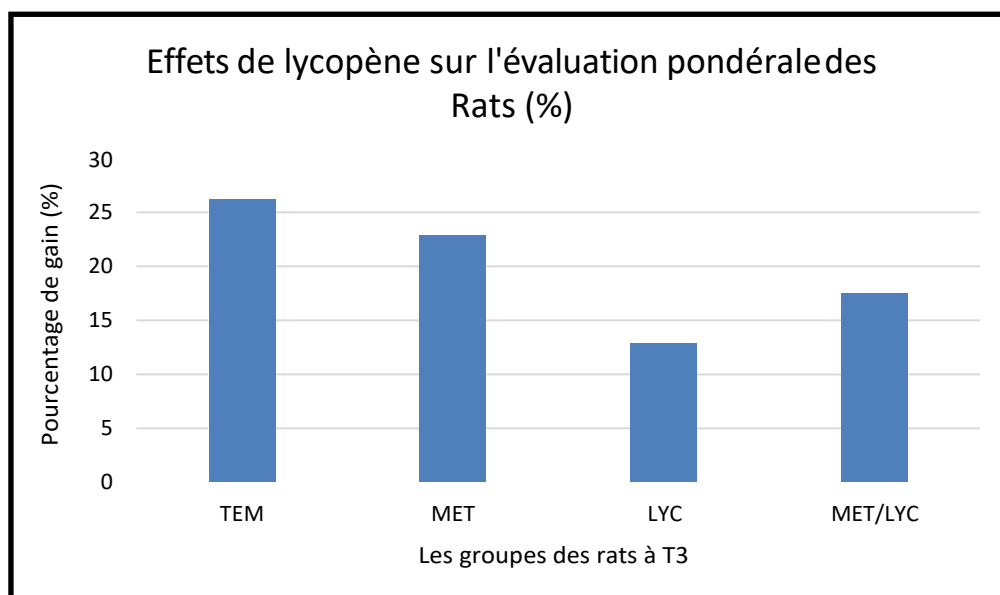


Figure 09 : Histogramme représentant pourcentages de gain pondéral.

Une augmentation du poids corporel chez les rats de tous les lots. Cette augmentation est de 22% chez les animaux soumis à la méthionine et une augmentation de 12% chez les rats soumis au lycopène. Par contre les témoins ont enregistré un pourcentage plus important de l'ordre de 26%. Pour les rats soumis à la méthionine et prétraités en lycopène ont enregistré une augmentation de 17%.

II. Biochimie plasmatique

1. Effet de l'administration du lycopène sur les rats hyperhomocystéinémiques

Les concentrations en Homocystéine plasmatique des rats témoins (TEM), des rats soumis à la méthionine (MET, MET+LYC) ainsi que ceux prétraités au lycopène (LYC, MET+LYC) sont données par le tableau 07 et la figure 10.

Tableau 07 : Concentration plasmatique en Hcy ($\mu\text{Mol/l}$).

Régimes \ Groupes	Hcy ($\mu\text{mol/l}$) à T0	Hcy ($\mu\text{mol/l}$) à T3
TEM	9.28 ± 0.25	9.41 ± 0.94
MET	9.02 ± 0.28	$20.08 \pm 0.81^*$
LYC	9.28 ± 0.23	$8.96 \pm 0.86^*$
MET+LYC	9.064 ± 0.17	$15.02 \pm 1.87^*$

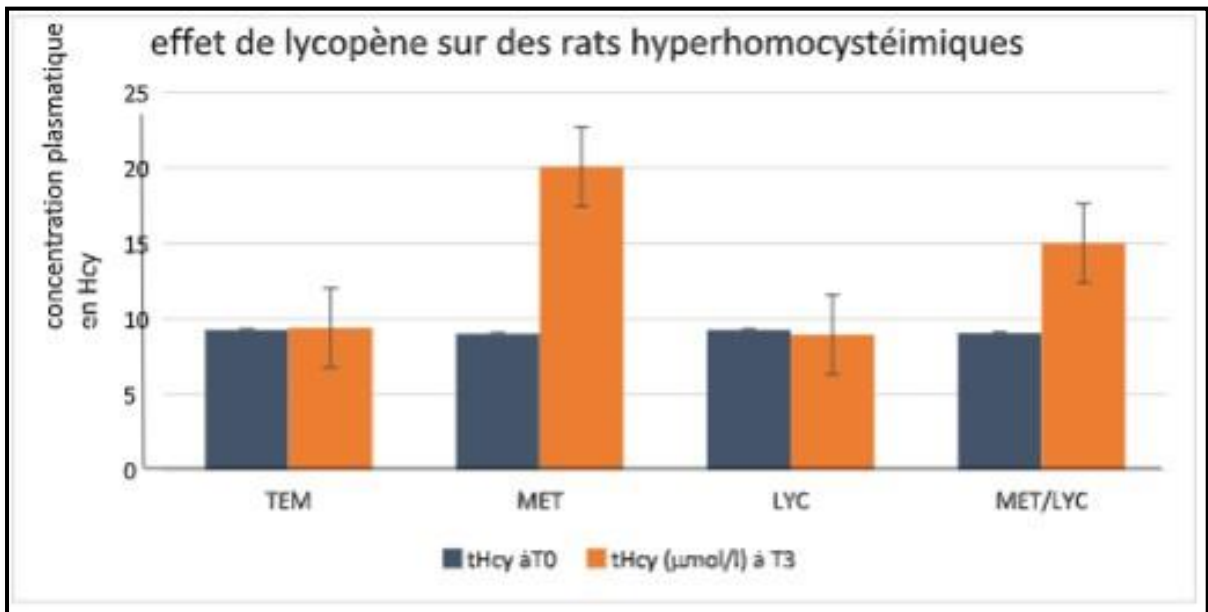


Figure 10 : Evolution de l'homocystéinémie (µmol/L) des rats des différents lots.

A la réception des rats (T0), aucune différence significative n'est observée.

En fin d'expérimentation, à savoir 3mois les résultats obtenus ont montré :

- aucune différence significative entre les rats soumis au lycopène (LYC) comparé aux rats témoins (TEM)
- Cependant, les taux de l'Hcy plasmatiques sont restés statistiquement élevés, deux fois plus chez les rats HHcy ($p < .0001$) comparés aux rats témoins (TEM).
- Au contraire, les rats sous régime enrichi en méthionine supplémentés avec le lycopène (MET+LYC) ont montré une diminution significative ($P < 0.0001$) du taux de l'Hcy plasmatique comparé aux rats sous régime enrichi en méthionine (MET).
- De plus, la supplémentation en lycopène à des rats sous régime enrichi en méthionine (MET+LYC) a diminué de manière significative les taux de l'Hcy de 0,75 fois comparé aux rats sous régime enrichi en méthionine (MET).

La réduction des taux d'Hcy plasmatique chez les rats HHcy est probablement dû à l'augmentation du taux de catabolisme de Hcy, le lycopène a ainsi montré un effet hypohomocystéinémique.

2. Effet du lycopène sur le profil lipidique des rats hyperhomocystéinémiques

2.1. Cholestérol total

Tableau 08 : concentration plasmatique en cholestérol total.

Profil lipidique		Cholestérol (g/l)	
groupes	Durée(mois)	T0	T3
		TEM	0,834 ± 0,06
MET		0,951 ± 0,06	1,25 ± 0,03 ***
LYC		0,901 ± 0,04	0,87 ± 0,05
MET+LYC		0,968 ± 0,05	0,95 ± 0,06 **

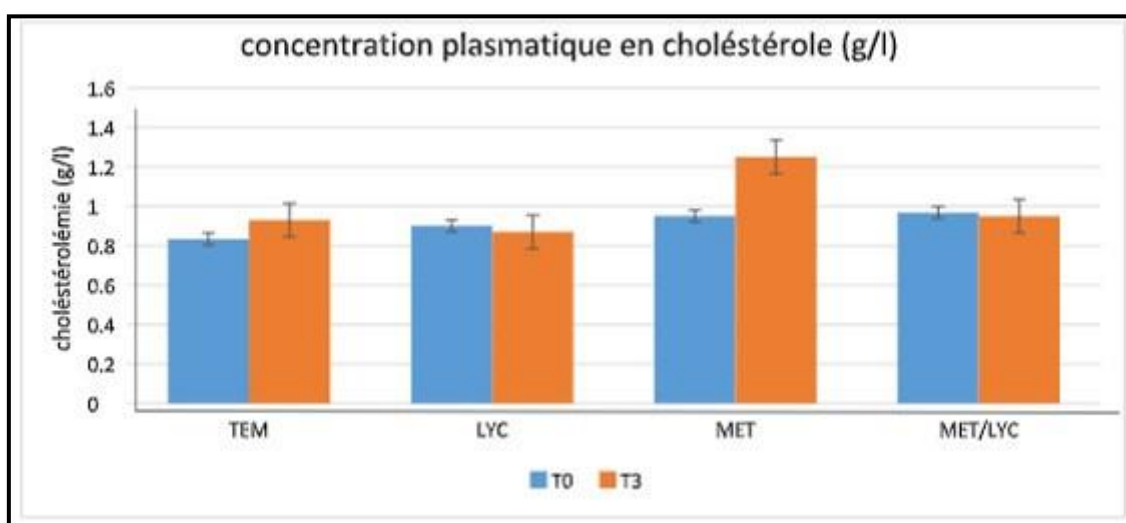


Figure 11 :Evolution de la cholestérolémie (g/L) chez les rats des différents lots.

A la réception des rats (T0), leurs cholestérols varient entre [0.83 et 0.96] g/l et aucune différence significative n'est observée.

Après 3 mois de supplémentation au lycopène, la concentration en cholestérol des rats (LYC), est passé de 0.90 à T0 à 0.87g/l à T3.Même si la différence n'est pas significative comparé au groupes témoin (TEM), la concentration en cholestérol de ce groupe a diminuée.

Le taux de cholestérol des rats sous régime enrichi en méthionine est de 1.26 g/l, plus important comparé aux témoins (p<0.0001). Néanmoins, la supplémentation au lycopène (MET+LYC) à réduit la concentration en cholestérol de 76%, P<0.0002, comparé aux groupes sous régime enrichi en méthionine.

2.2. La triglycéridémie

Tableau 09 : la concentration plasmatique en triglycéride (g/l).

Profil lipidique		Triglycéride	
Durée (mois)		T0	T3
Groupes			
TEM		0,76±0,07	0,88±0,04
MET		0,71±0,03	1,11±0,05
LYC		0,70± 0,07	0,73±0,04
MET+LYC		0,69±0,02	0,92±0 ,03

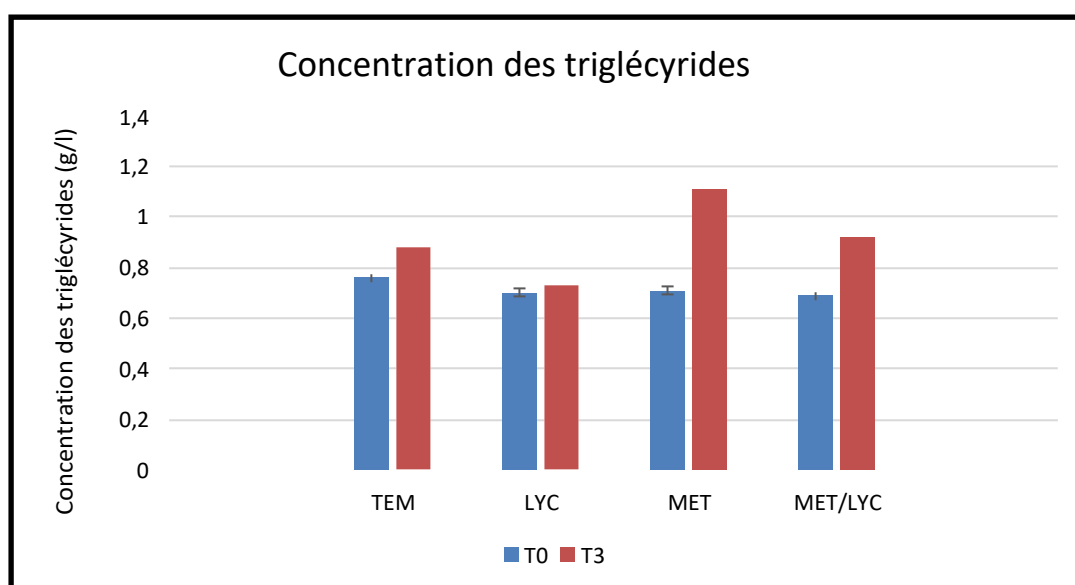


Figure 12 : Evolution de la triglycéridémie chez les rats des différents lots.

La concentration des TG à T0, est environ la même pour tous les groupes de rats. Elle varie entre (0.69 ± 0.02 et 0.76 ± 0.07 g/l). Aucune différence significative entre les groupes.

Cependant à T3, les rats supplémentés aux lycopène présentent une réduction significative des TG ($p < 0.0339$) comparé aux rats témoins (TEM). Par contre les TG ont augmenté significativement chez les rats sous régime enrichi en méthionine (MET) ($p < 0.0025$), comparé aux rats témoins. Par contre la supplémentation au lycopène des rats sous régime enrichi en méthionine (MET+LYC), a réduit significativement les TG ($p < 0.0098$), pour se rapprocher des rats témoins, soit une diminution de 83%, comparé au rats sous régime enrichi en méthionine(MET).

2.3. HDL-cholestérol

Tableau 10 : la concentration plasmatique en HDL-Cholestérol (g/l).

Profil lipidique		HDL-cholestérol	
Durée (mois)		T0	T3
Groupes			
TEM		0,35±0,15	0,43±0,19
MET		0,35±0,15	0,34±0,15
LYC		0,36±0,16	0,52±0,16
MET+LYC		0,38±0,16	0,43±0,16

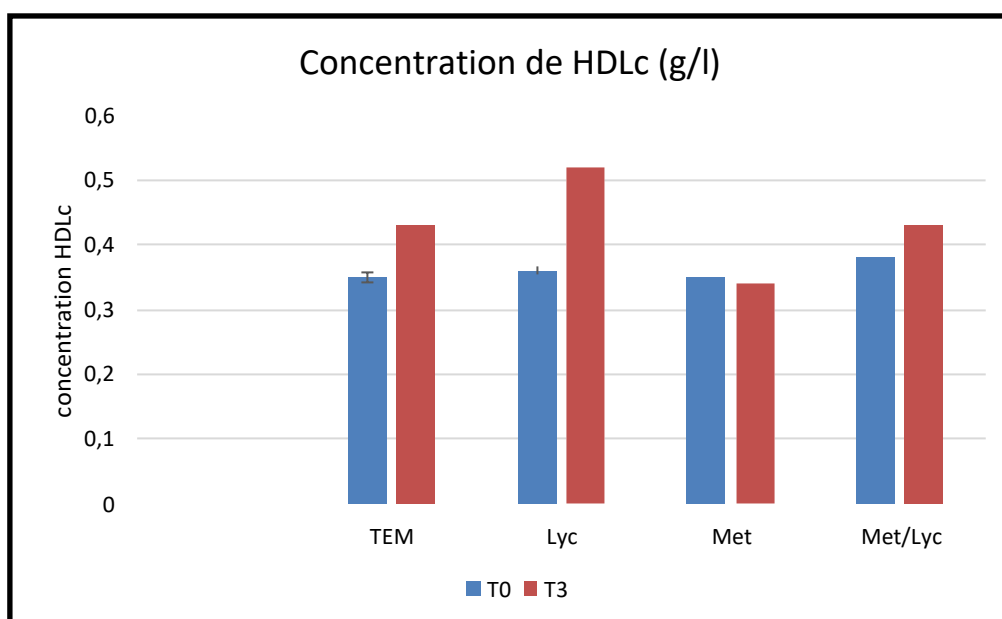


Figure 13 : Evolution du HDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.

Au début de l'expérimentation (T0), les rats présentent tous une concentration en HDLc homogène, aucune différence significative n'est apparue entre les différents groupes. En effet, le taux des HDLc varie entre 0.35 et 0.38 g/l.

A T3, la concentration en HDLc du groupe lycopène (LYC) est significativement élevée comparé au groupe témoin (TEM) $p < 0.0407$.

Par contre les rats sous régime enrichi en méthionine présentent des concentrations significativement basses, $p < 0.0333$ comparé au groupe témoin. Au contraire, la supplémentation au lycopène, a restauré les taux de concentration des HDLc des rats sous régime enrichi en méthionine (MET+LYC) $p < 0.0333$.

2.4. LDL-cholestérol

Tableau 11 : la concentration plasmatique en LDL-cholestérol (g/l).

Profil lipidique		LDL-cholestérol	
Durée (mois)		T0	T3
Groupes			
TEM		0,439±0,04	0,49±0,06
MET		0,442±0,03	0,69 ± 0,04**
LYC		0,452±0,04	0,42±0,04
MET+LYC		0,437±0,03	0,46±0,06

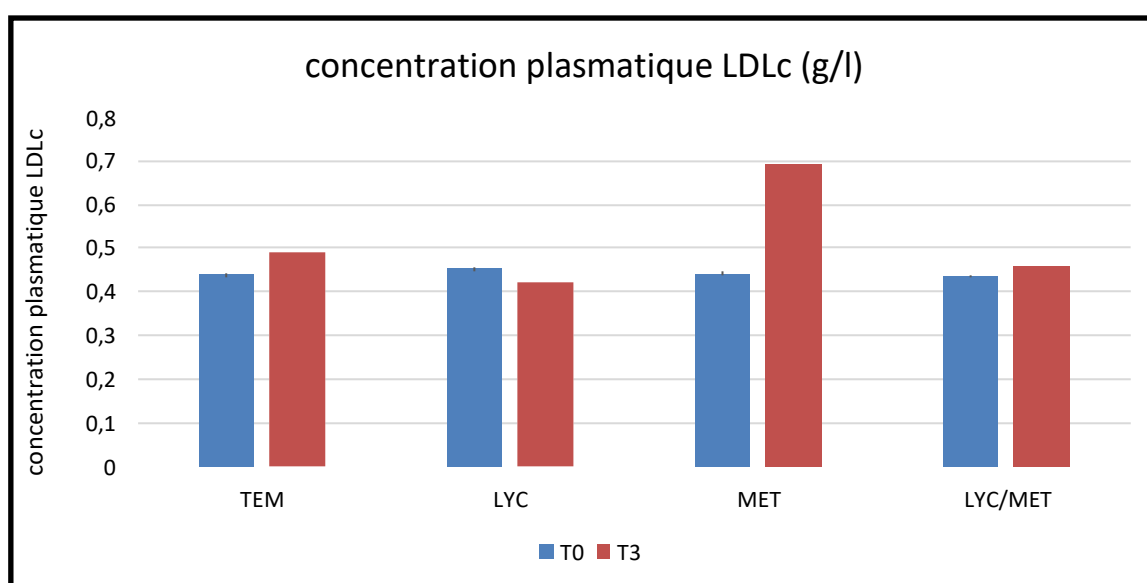


Figure 14 :Evolution du LDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.

Nos résultats montrent qu'à T0, les rats de tous les groupes présentent une concentration en LDLc homogène et aucune différence significative n'est observée. Les valeurs varient entre (0.43 ± 0.03) et (0.45 ± 0.04) g/l.

Cependant à T3, les concentrations en LDLc des rats supplémentés au lycopène, présentent une concentration inférieure, comparée aux concentrations du groupe témoin (TEM) (0.42 ± 0.04 vs 0.49 ± 0.06)

Les rats sous régime enrichi en méthionine, présentent des concentrations en LDLc de 0.69 g/l soit une augmentation de 1.40 fois supérieure comparé au groupe témoin (p<0.010). Néanmoins la supplémentation au lycopène des rats sous régime enrichi en méthionine (MET+LYC), ont diminué cette concentration et elle est passée de 0.69 à 0.46 g/l soit une réduction de 66% avec une significativité de p< 0.050.

Au vu de ce qui précède nous pouvons conclure que la supplémentation en lycopène à des rats sous régime enrichi en méthionine, diminue la concentration plasmatique du cholestérol, des LDLc, des triglycérides et augmente le taux des HDLc.

3. Effet du lycopène sur la concentration de la protéine C réactive ultra-sensible (CRP_{us}) plasmatique

Tableau 12 : Détermination de la protéine C réactive ultra-sensible (CRP_{us}) plasmatique (mg/l)

Durée (mois)	CRP	
	T0	T3
Groupes		
TEM	1,06±0,09	1,18±0,10
MET	1,10±0,17	1,77±0,11
LYC	1,01±0,07	1,05±0,09**
MET+LYC	1,04±0,08	1,31±0,14*

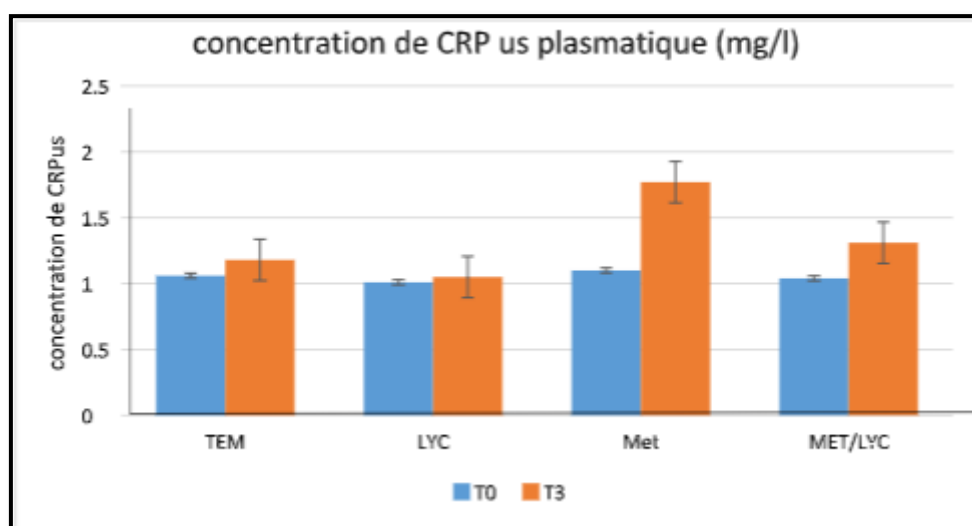


Figure 15 : concentration de CRP_{us} plasmatique (mg/l) des différents lots.

La concentration en CRP_{us} plasmatique à T0, est la même pour tous les groupes de rats. Elle varie entre (1,01±0,07 et 1,10±0,17 mg/l). Aucune différence significative entre les groupes.

Cependant à T3 (fin du traitement), les rats supplémentés aux lycopène présentent une réduction significative des en CRP comparé aux rats témoins (TEM). Par contre la CRP plasmatique a augmenté significativement chez les rats sous régime enrichi en méthionine (MET), comparé aux rats témoins. Par contre la supplémentation au lycopène des rats sous régime enrichi en méthionine (MET+LYC), restaure la concentration en CRP plasmatique,

pour se rapprocher des rats témoins, comparé au rats sous régime enrichi en méthionine(MET).

4. Concentration en lycopène hépatique des rats

Tableau 13 : Concentration en lycopène hépatique des rats des différents lots en (ug/g).

Groupes	LYC	MET+LYC
Concentration lycopène hépatique en (ug/g)	6,82 ± 0,05	6,40 ± 0,37

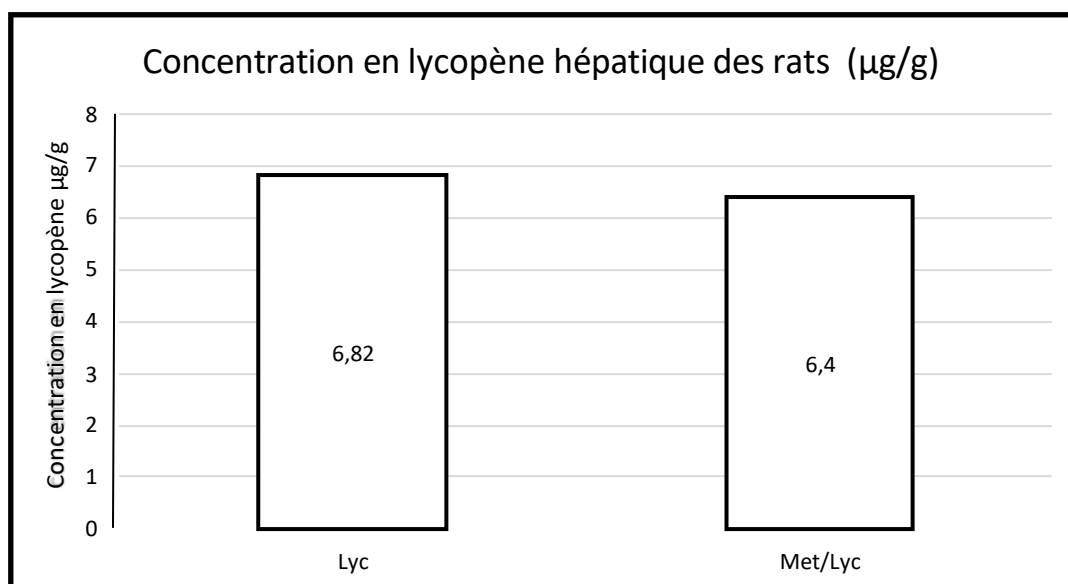


Figure 16 : concentration en lycopène hépatique des rats de différents lots en (µg/g)

Aucune différence significative entre les deux groupes de rats. Cependant ils, présentent une concentration de 6.82 ± 0.05 vs 6.40 ± 0.37 µg/g ce qui correspond à 12.70 et 11.94 nmol/g respectivement. Le faite de trouver du lycopène hépatique dans le foie des rats HHcy, conforte l'effet hépato protecteur du lycopène grâce à ces composés bioactifs, contre le stress oxydatif (accumulation des ROS) ainsi que rôle chimio préventif et détoxifiant.

III. Résultat histologique de la paroi de l'aorte

Au vu de la situation actuelle et en raison des conditions de la pandémie dû au corona virus,

Nous n'avons pas pu trouver de laboratoire d'anatomie et pathologie pour nous accueil ir.

Cette étude est basée juste sur des observations des travaux déjà dans la littérature.

1- Aorte normal

➤ **L'intima** : est formée de deux composants :

- l'endothélium dont les noyaux imprégnés d'hématoxyline et faisant saillie au niveau de la lumière vasculaire, semblent reposer directement sur la limitante élastique interne (**Zerrouk., 2007**).

- un espace sous endothélial très réduit.

-La limitante élastique interne, limitant l'intima, continue et très ondulée.

➤ **La média** : est organisée en espaces interlamellaires délimités par des lames élastiques concentriques très ondulées. Ces espaces contiennent des cellules musculaires lisses dont les noyaux de forme ovale sont denses en chromatine (**Zerrouk., 2007**).

➤ **L'adventice** : portion la plus externe de la paroi artérielle de nature conjonctive est constituée de faisceaux de fibres de collagène enserrant des fibroblastes.

2- Effet de la méthionine sur la structure histologique de la paroi artérielle

-la présence, sur la face luminale de l'endothélium, d'agréments sanguins ou microthrombus.

-L'intima présente des altérations focalisées touchant l'endothélium et le sous endothélium.

-le sous-endothélium, apparaît nettement sur certaines préparations avec un aspect finement granuleux ou amorphe ou épaissi par un dépôt de matériel conjonctif.

-La média est le siège de nombreuses altérations de tous ses constituants, des amincissements et des ruptures des lames élastiques. Ces dernières paraissent également beaucoup moins ondulées que celles observées dans une aorte normale. Également une accumulation de collagènes non seulement au niveau des espaces interlamellaires mais aussi à la périphérie des lames élastiques, prélude probable à l'installation d'une fibrose (**Zerrouk., 2007**).

-prolifération des CMLs de la média et surtout leur changement d'orientation, cette orientation des CMLs est l'une des caractéristiques de l'athérosclérose.

-au niveau de la média, une petite zone qui apparaît vide. A un plus fort grossissement, cet espace pourrait correspondre à un dépôt calcique, car il semble comblé par des structures hyalines de forme polygonale ressemblant fortement à des cristaux (**Zerrouk., 2007**).

-L'intima limitant intérieurement cette zone semble être détruite.

-Un second aspect particulier a été observé La paroi aortique présente au même endroit, une altération de ses 3 couches marquée par une destruction de l'intima, une fibrose au niveau de la média et un épaissement de l'adventice sous forme de protubérance. A ce niveau, une présence de nombreux fibroblastes, de nombreux faisceaux collagéniques et de macrophages. Une importante rupture de la paroi aortique (de longueur équivalent à la moitié de son épaisseur)(Zerrouk., 2007).

3- Effet du lycopène sur les changements histopathologique

-un collagène moins abondant et les espaces intercellulaires réduits. Le lycopène semble réduire les altérations cellulaires et matricielles (Pas d'infiltrations, pas d'inflammations et pas de fibrose) (Belkermi., 2012).

Discussion

Dans le cadre de ce travail, nous avons testé l'impact de lycopène sur la matrice aortique et la biochimie plasmatique des rats wistar hyperhomocystéimique. Notre protocole expérimental repose sur l'induction d'un état d'hyperhomocystéinémie par administration per os de 500 mg de méthionine /kg de poids corporel /jour dans l'eau de boisson, pendant 3 mois, chez *Rattus norvegicus*, pour analyser l'effet de lycopène, une dose de 5mg/kg/poids corporel/jour a été administré dans notre expérimentation.

Une hyperhomocystéinémie en effet, peut être sévère ou modérée, par ailleurs une hyperhomocystéinémie modérée peut se produire par un déficit en vitamines B6 ou B12 (**Lentz et al., 1997 ; Martinez et al., 2000**) ou en acide folique (**Huang et al., 2001**), par administration d'homocystéine (**Miller et al., 2000**) ou de méthionine (**Rolland et al., 1995 ; Mori et al., 2001**). Pour notre part, nous avons opté pour une administration de méthionine *per os*.

Plusieurs voies d'administration de la méthionine sont citées dans la littérature :

- 1- l'injection intra péritonéale : (**Zerrouk, 2007**) et (**Raaf, 2003**).
- 2- Dans l'aliment : (**Sharma et al., 2007**).
- 3- Par Gavage : (**Narine et al., 2002**).
- 4- voie orale per os : mélangé avec une boisson (**Smolders et al., 2004**) , par les membres de l'équipe de laboratoire Biochimie et remodelage de la Matrice extracellulaire USTHB (**Othmani, 2007 ; Taghli, 2010 ; Goul, 2009 ; Hamdis, 2011**).

Au terme de l'expérimentation, nous avons noté pour les témoins un pourcentage de gain important de l'ordre de 26% Pour les rats soumis à la méthionine et prétraitaient en lycopène on a enregistré une augmentation de 17%. Des expérimentations réalisées sur le rat Wistar ne rapportent aucun changement du poids corporel (**Joseph et al., 2003 ; Ghoul, 2009**). Le plus faible pourcentage de gain de poids a été enregistré chez les rats de groupe lycopène 12%. Le même résultat a été trouvé par **Jonker et al., (2003)** où ils ont enregistré une évolution non significative du poids corporel des rats a des différentes dose de lycopène . Pour les rats soumis à la méthionine un gain de poids est 22%. **Zhou et al., (2001), Toren et al., (2003)** ont noté une diminution du poids corporel respectivement chez la souris et le rat des sables *Psammomys obesus*.

L'administration de méthionine a engendré un état d'hyperhomocystéinémie modéré après 3 mois chez les rats. Nos résultats confirment les travaux de **Hamdis, (2011) ; Goul,(2009) ; Taghlit, (2010) , Yefsah-Idres 2016**, qui travaillaient sur les différents modèles utilisés et les différentes doses de méthionine administrées. Un résultat similaire est observé par **Zhou et al. (2001) ; Sharma et al., (2007)**. La supplémentation en lycopène à des rats sous régime enrichi en méthionine (MET+LYC) a diminué de manière significative les taux de l'Hcy de 0,75 fois comparé aux rats sous régime enrichi en méthionine (MET) cela correspond aux résultats de **Paran et Engelhard, (2001)** qui ont rapporté que la supplémentation en lycopène provoque la réduction des marqueurs du stress oxydatifs tels que l'homocystéine chez les patients hypertendus. Le lycopène représente l'un des principaux caroténoïdes de notre alimentation et il est stocké physiologiquement au niveau des tissus. Des études ont suggéré qu'il était spécifiquement et individuellement liés à une diminution des pathologies cardiovasculaires et de ses complications.

Afin d'analyser la biodisponibilité hépatique du lycopène site major de l'accumulation donc de sa concentration (**Mathews-rath, 1990**). Nous avons déterminé chez les deux groupes lycopène (LYC) et méthionine prétraité au lycopène (MET/LYC) la différence est pas significative, nos résultats sont en accord avec (**Boileau, 2003**).

L'ensemble des paramètres biochimiques que nous avons enregistré au cours des 3 mois de traitement ont subi des changements plus au moins importante, la cholestérolémie des rats soumis à la méthionine 1.26 g/l est supérieure de groupe témoin 0,93 g/l cependant la supplémentation au lycopène (MET+LYC) a réduit la concentration en cholestérol de $P < 0.0002$, comparé aux groupes sous régime enrichi en méthionine. la concentration plasmatique de cholestérol total est réduit à cause d'une supplémentation en lycopène (**Oshima et al., 1997**). le lycopène a été également montré qu'il agit comme un agent hypocholestérolémiant en inhibant la HMG-CoA (3 -hydroxy-méthylglutaryl-coenzyme A-réductase) (**Fuhrmann, (1997) ; Rao et Shen (2002) ; Jonker, (2003) ; Muhammad et al., 2020**). Sont en accord avec ce résultat. d'autant que plusieurs études épidémiologiques ont mises en évidence une corrélation entre consommation en caroténoïdes (notamment lycopène) et la diminution du risque de maladies cardiovasculaires selon **Willcox et al., (2008)**.

Selon plusieurs auteurs (**Lopez et al., 2007**), l'hyperhomocystéinémie augmenterait la cholestérolémie en agissant sur l'expression hépatique des récepteurs LDL et des ARNm codant pour la HMG CoA réductase, sur la lipoprotéine lipase et la lipase hépatique.

La triglycéridémie (**Muhammad et al., 2020**) est réduite chez les rats supplémentés au lycopène et aux méthionines $p < 0.0098$. La concentration en HDLc du groupe lycopène est significativement élevée, par contre les rats sous régime enrichi en méthionine présentent des concentrations significativement basses, $p < 0.0333$ comparé au groupe témoin. Au contraire, la supplémentation au lycopène, a restauré les taux de concentration des HDLc des rats sous régime enrichi en méthionine. Même résultat obtenu par **Eid et al., (2003)** où ils ont enregistré une augmentation de la concentration de HDL avec la supplémentation en lycopène alimentaire. La diminution des LDLc des rats supplémentés en lycopène enrichi en méthionine avec une significativité de $p < 0.050$ après 3 mois, ce qui ne permet pas de dire que le lycopène influence sur les paramètres lipidiques. Selon **Kucuk et al., (2001)** l'oxydation des LDL cholestérol diminuait avec l'augmentation des niveaux sériques de lycopène. L'oxydation des LDL jouant un rôle dans la formation des cellules spumeuses et le développement de l'athérosclérose, ces résultats laissent penser qu'une augmentation de la consommation de lycopène peut avoir une action protectrice dans la prévention des maladies cardiovasculaires et contribuer à la santé cardiovasculaire.

Les travaux de (**Voutilainen, 1990**) ont rapporté que l'administration de la L-méthionine chez les gerbilles, a augmenté non seulement l'homocystéinémie, mais aussi la cholestérolémie et les LDL cholestérol plasmatiques. **Devlin et Lentz, (2006)** ont confirmé l'existence d'une corrélation positive entre l'hyperhomocystéinémie et le métabolisme lipidique. D'après l'étude de **Obeid et Herrmann (2009)**, l'augmentation de l'Hcy dans le plasma est associée d'une part, à la diminution du métabolisme des HDL et d'autre part, à la distribution des lipides plasmatiques et tissulaires. Ainsi, l'étude de **Tselmin et al., (2013)** suggère que la diminution des HDL résulte d'une inhibition par l'Hcy de la synthèse de L'apo A-I, qui est la principale apolipoprotéine des HDL. La fraction HDL connue pour ses propriétés protectrices anti oxydantes, **Jakubowski et al., (2000)** a montré que les HDL en culture éliminent 80% de l'homocystéine-thiolactone (forme toxique), prévenant ainsi leur accumulation, cette propriété est assurée par la paroxonase qui lie les HDL et qui transforme l'Hcy- thiolactone en Hcy + thiolactone. **Ferretti et al., (2006)** ont montré que l'Hcy induit des modifications des HDL par le biais de l'homocystéine-thiolactone, ces modifications induisent la perte de leurs propriétés anti inflammatoires et cytoprotectrices, ce qui pourrait jouer un rôle dans la pathogenèse de l'athérosclérose. (**Taghilt, 2010**) a trouvé que Les HDL-c des rats rendus hyperhomocysteinémiques, présente une diminution peu significative par contre il a enregistré une forte augmentation du LDL-c. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par **Borsheim et al., (2009)** ; **Obeid et Herrmann (2009)**.

L'augmentation des LDL semble lier à leur peroxydation par les radicaux libres générés par l'HHcy car cette peroxydation inhibe la reconnaissance des LDL oxydés par leurs récepteurs natifs (**Laporte, 2000**) et par conséquent, leur augmentation dans le plasma.

les résultats de **Bahcecioglu et al.,(2010)** qui ont enregistré une diminution non significative de (189, 5 ± 93, 7(mg/dl) vs 157, 3 ± 56, 8(mg/dl) chez les rats qui ont reçu une dose de lycopène de 2mg /Kg poids corporel et une diminution peu significative (157, 3 ± 56, 8 (mg/dL) vs 130, 9 ± 33, 3(mg/dL) chez les rats ayant reçu une dose de 4mg/Kg de poids corporel.

D'après **Clay, (2006)** une augmentation du cholestérol total et des LDL-C est associée à une augmentation du risque coronarien. La consommation du lycopène améliore le statut antioxydant et inhibe la peroxydation lipidique, prévient les dommages oxydatifs des biomolécules comme les lipides, le cholestérol, les protéines et l'ADN (**Markovits et al., 2009 ; Southon, 2001**).

Des études épidémiologiques ont montré l'importance de la détermination de C-protéine réactive comme un facteur de risque des maladies cardio-vasculaires (**libby et al., 2002**).

Pour cela on a effectué le dosage de la CRPus plasmatique ; les rats supplémentés aux lycopène enrichi à la méthionine enregistrent une diminution de la CRP comparé aux rats sous régime enrichi en méthionine, nous résultats sont ont accord avec plusieurs études chez les rats montrant la relation entre la consommation de lycopène et la diminution de CRPus plasmatique (relation inverse entre l'inflammation et l'apport alimentaire en caroténoïde) (**Gao, 2004**).

Selon **jacob et al., (2008)** la consommation de deux verres de jus tomate pendant 2 semaines réduits la CRP. **Lui et al., (2007)** ont observé que L'Il8 (interleukine 8) est diminué chez les rats rendue d'une HHcy par un régime enrichi en méthionine et prétraité en lycopène pendant 12 semaines. Nous pouvons dire que le lycopène peut réduire l'inflammation induite par HHcy. Selon **Ip et al., (2013) ; Taheri et al.,(2015) ; Yucel et al., (2017)** le lycopène constitué une substance anti-inflammatoire

Compte-tenu de ses propriétés antioxydantes, on a pensé que le lycopène pouvait protéger les vaisseaux sanguins en empêchant l'oxydation des LDL « mauvais cholestérol », un phénomène qui joue un rôle clé dans l'athérosclérose (**Rao, 2002**). Puisqu'il existe un lien entre l'oxydation des LDL et le développement de l'athérosclérose, il a été postulé que le rôle préventif des caroténoïdes vis-à-vis des MCV était lié à leur capacité anti-oxydante. En effet, une fois oxydées, les LDL sont préférentiellement captées par des récepteurs macrophagiques avides de ces lipoprotéines transformées il a été montré qu'une particule de LDL ne contient

en moyenne que 0,9 molécules de lycopène (**Milde et al., 2007 ;Romanchik et al., 1995**). Un environnement pro-inflammatoire et pro-coagulant va être généré autour des macrophages chargés de LDL oxydées favorisant ainsi le développement de la plaque d'athérosclérose. D'autres études d'intervention nutritionnelles (**Agarwal et al., 1998**) utilisant le lycopène suggèrent une amélioration à court terme de l'oxydation des LDL.

Les coupes histopathologiques réalisées sur l'aorte des rats sous régime enrichi en méthionine révèlent une grande diversité structurale de l'aorte :

- un décollement et un bourgeonnement dans l'endothélium.
- une dégénérescence hydropique des cellules de l'intima plus la présence envahissante des hématies et un épaissement du média
- des lésions endothéliales accompagnées d'un détachement des cellules endothéliales (CEs)
- un épaissement du média.

Ces altérations sont dû probablement au dépôt granuleux des protéoglycanes issues de :

- la dégradation de la matrice sous endothéliale
- la dissociation des fibres élastiques,
- l'accumulation du collagène et à la présence probablement de cellules spumeuses (CML et Macrophages bourrés de lipides), essentiellement dans l'espace sous-endothélial. (**Bechroul et Sahraoui, 2018**)

De plus les travaux d'**Osborne-Pellegrin (1992)**, de **Matthias (1996)** et de **Kirac (2013)** réalisés sur des rats surchargés en méthionine, décrivent des altérations artérielles dues probablement au dépôt granuleux des protéoglycanes.

Selon (**Belkermi, 2012**) le prétraitement au lycopène qui est un antioxydant naturel, retrouvé abondamment dans la tomate et présente une capacité antioxydante inégalée. Il préserve les cellules et les tissus des radicaux libres. Le prétraitement au lycopène a conduit à la réduction des altérations matricielles et les micrographies le montrent clairement.

Conclusion

Et perspectives

En conclusion, l'administration per os de méthionine pendant 3 mois engendre chez le Rat Wistar une augmentation de l'homocystéinémie. Cette hyperhomocystéinémie est responsable :

- D'une augmentation du poids corporel.
- Des perturbations des lipides plasmatiques, à savoir le cholestérol total, les LDLc et les HDLc.

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

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

La consommation du lycopène améliore le statut antioxydant et inhibe la peroxydation lipidique, prévient les dommages oxydatifs des biomolécules comme les lipides, le cholestérol, les protéines et l'ADN (**Markovits *et al.*, 2009 ; Southon, 2001**). Nos résultats sont conformes à la littérature.

Il serait intéressant d'aborder certaines perspectives qui nous semblent nécessaires à la compréhension des mécanismes moléculaires qui sous-tendent les altérations observées tant sur le plan biochimique que sur le plan histologique.

Parmi ces perspectives, nous pouvons cibler:

- Les altérations touchant la structure histologique de la paroi aortique qui méritent d'être étudiées et précisées sur le plan ultra structural.
- La mise en évidence de certaines macromolécules de la matrice extracellulaire (les glycoprotéines par exemple) par une étude immuno-histochimique.
- La relation hyperhomocystéinémie-inflammation par une évaluation de certaines cytokines pro-inflammatoires et inflammatoires impliquées dans le processus d'athérosclérose.
- Une étude de l'effet d'une supplémentation en vitamines, tels que les vitamines B6, B12 ou l'acide folique, sur la réduction des effets causés par l'hyperhomocystéinémie.

Références bibliographiques

-A-

- **Abecassis L., Padin S., Soni T et Le Bihan F.** (2004). Homocystéine et bilan de thrombose. *Imm. Ana. Biol. Spéc.*, 19 : 83–88.
- **Agarwal, S. and A. V. Rao** (1998). "Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study." *Lipids*; 33(10):981-4.
- **Agarwal S et Rao, A.**, (2000). Tomato lycopène and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ*, 163:739.
- **Al-Shaer M.H., Raghuvver G., Browning R., Sinkey C.A., Chenard C., Stumbo P et Haynes W.G.** (2005). Effect of hyperhomocysteinemia induced by methionine administration on flow mediated dilatation of the brachial artery in healthy subjects. *Am. J. Cardiol.*, 95 (3) : 428-30.
- **Aubard Y., Darodes N., Cantaloube M., Aubard V., Diallo D. et Teissier M. P.**, (2000). Hyperhomocystéinémie et grossesse: une association dangereuse. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 29 : 363-372.
- **Atta HM., El-Rehani MA., Raheim S.A and Galal A.M.**, (2008). Lowering homocysteine decreases levels and expression of VEGF(165) and endothelin. *J Surg Res*, 146(2):202-210.

-B-

- **Bahcecioglu I.H., Nalan Kuzu., Kerem Metin., Ibrahim Hanifi Ozercan., Bilal Ust'undag., Kazim Sahin. and Omer Kucuk.**(2010). Lycopene Prevents Development of Steatohepatitis in Experimental Nonalcoholic Steatohepatitis Model Induced by High-Fat Diet; Article ID 262179:8.
- **Bao XM., Wu CF et Lu GP.**, (2009). Atorvastatin attenuates homocysteine-induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells via inhibiting NADPH oxidase-related oxidative stress-triggered p38MAPK signaling. *Acta Pharmacol Sin.* 30(10):1392-1398.
- **Basu HN., J. Del Vecchio A., Flider F., T. Orthoefer F.** (2001). Nutritional and Potential Disease Prevention Properties of Carotenoids. *JAOCS*, Vol 78 (7) : 665 - 675.
- **Becheroul, H et Sahraoui M.**, (2019). Mémoire de fin étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en Spécialité : Nutrition et Pathologie Filière : Sciences Agro-alimentaire Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie. Mémoire de fin étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en Spécialité : Nutrition et Pathologie Filière :

Sciences Agro-alimentaire Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie. Université – Blida 1 Faculté des Sciences de la Nature de la Vie Département d'Agro-alimentaire. Année universitaire 2018/2019. 90p

- **BELKERMI Dalila**, (2012), effet du lycopène sur la structure cardiaque des rats hyperhomocystéïnémiques. Mémoire à fin d'obtention du diplôme master en Nutrition et contrôle des aliments. Université-Blida1, Faculté des Sciences Agro vétérinaire, Département d'Agronomie, Année universitaire 2011-2012. P43- 89.
- **Bellamy M.F et McDowell I.F.W.** (1997). Putative mechanisms for vascular damage by homocysteine. *J. Inher. Metab. Dis.*, 20 : 307–15.
- **Benakmoum A.**, (2009). Effets du lycopène sur certains paramètres structuraux et fonctionnels chez le rat en croissance thèse du doctorat : Sciences Alimentaires. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach Alger, 114 p.
- **Boger, R. H., Sullivan, L. M., Schwedhelm, E., Wang, T. J., Maas, R., Benjamin, E. J., Schulze, F., Xanthakis, V., Benndorf, R. A et Vasan, R. S.**(2009). Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community, *Circulation*; 119: 1592-1600.
- **Boileau TW., Liao Z., Kim S., Lemeshow S., Erdman JW Jr and Clinton SK.**, 2003. Prostate carcinogenesis in N-methyl-N-nitrosourea (NMU)-testosterone-treated rats fed tomato powder, lycopene, or energy-restricted diets. *J. Natl. Cancer Inst.* 95(21):1578-1586.
- **Boumendjel M., Mouhamedi M., Samar M.F. Sabeg H., Boutteba A et Soltane M.**(2012).Effet des traitement thermique d'appertisation sur la qualité biochimique, nutritionnelles et Technologiques du simple, double et triple concentré de tomate, Vol. 36, p. 51-59.
- **Børsheim Elisabet, Quynh-Uyen T. Bui, Sandrine Tissier, Melanie G. Cree, Ola Rønsen, Beatrice Morio, Arny A. Ferrando, Hisamine Kobayashi, Bradley R.Newcomer, and Robert R. Wolfe.** (2009). Amino acid supplementation decreases plasma and liver triacylglycerols in elderly ; (25):281–288.
- **Bowen P et L. Chen.** (2002). "Tomato sauce supplementation and prostate cancer : lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis." *ExpBiol Med* (Maywood) 227(10) : 886-93.
- **Briani C., Cagnin A., Gallo L., Toffanin E., Varagnolo M., Zaninotto M., Plebani M., Ricchieri G., Battistin L et Pizzolato G.** (2005). Anti-heparan sulphate

antibodies and homocysteine in dementia: markers of vascular pathology?. *Journal of the Neurol. Sci.*, 229–230 : 215– 218.

- **Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H.** (1995). Carotenoids today and challenges for the future. In.: Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. (Ed) *Carotenoids: Isolation and Analysis*. Basel: Birkhäuser, Vol. 1A. Chap. 2 : 13-26.
- **Buysschaert M et Hermans M.P.** (2003). L'Hyperhomocystéinémie : Mise au point et traitement. *Louvain, Med.* 122 : 361-367.

-C-

- **Cai Y., Zhang C., Nawa T et Aso T.** (2014). Nutri-epigenetics ameliorates blood–brain barrier damage and neurodegeneration in hyperhomocysteinemia: role of folic acid, *J. Mol. Neurosci.* 52 (2): 202–15.
- **Campbell JK.** (2007). "Phytoene, phytofluene, and lycopene from tomato powder differentially accumulate in tissues of male Fisher 344 rats". *Nutrition Research*, vol 27, 12 : 794 – 801.
- **Casas, J. P., Bautista, L. E., Smeeth, L., Sharma, P et Hingorani, A.D.**(2005). Homocysteine and stroke: evidence on a causal link from mendelian randomisation, *The Lancet*; 365: 224-232.
- **Caussé E.**, (2008). Intérêt du dosage de l'homocystéine en médecine générale. 20ème Forum Médical de Ranguel 16 octobre, France : 2-3.
- **Chalabi N., S Satih.**(2007). "Expression profiling by whole-genomemicroarray hybridization reveals differential gene expression in breast cancer cell lines after lycopene exposure." *Biochim Biophys Acta* 1769(2) : 124-30.
- **Chambers J., McGregor A., Jean-Marie J., Obeid O et Kooner J.** (1999). Demonstration of a rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia, an effect reversible with vitamin C therapy. *Circulation.*, 99 : 1156–60.
- **Chavarria T., Sanchez-Jimenez F.** (2003) Quesada AR and Medina MA. Homocysteine inhibits the proliferation and invasive potential of HT-1080 human fibrosarcoma cells. *BBRC.* 301:540–4.
- **Chavarria T., Rodriguez-Nieto S., Sanchez-Jimenez F et Quesada AR.**(2003) Homocysteine is a potent inhibitor of human tumor cell gelatinases. *BBRC.* 303: 572–5.

- **Chaussalet M., Lamy E., Foucault-Bertaud A., Genovesio C., Sabatier F., Dignat-George F et Charpiot Ph.** (2004). Homocysteine modulates the proteolytic potential of human vascular endothelial cells. *Bioch. Biophys. Res. Comm.*, 316 : 170–176.
- **Chen D., Wang Ch.Y., Lambert J.D., Ai N., Welsh W.J et Yang Ch.S.** (2005). Inhibition of human liver catechol-O-methyltransferase by tea catechins and their metabolites: Structure–activity relationship and molecular-modeling studies. *Bioch. Pharm.*, 69 : 1523–1531.
- **Chen YT., Meyer CF and Tan TH.** (1996). Persistent activation of c-Jun N-terminal kinase 1 (JNK1) in gamma radiation- induced apoptosis. *J BiolChem.* 271: 631-4.
- **Chung H Y., A et L. Ferreira.** (2009). "Site-specific concentrations of carotenoids in adipose tissue: relations with dietary and serum carotenoid concentrations in healthy adults." *Am J Clin Nutr* 90(3): 533-9.
- **Clay .FS.**(2006). Insuline resistance and atherosclerosis. *J. Clinical. Investigation* ; 116 : 1813- 1822 .
- **Cohen JH., Kristal AR., Stanford JL.** (2000). Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk . *J Natl Cancer Inst .* 5 92 (1) : 61 - 68.

-D-

- **Daniel Milhomme et Dominique Beaulieu.**(2005) . Janvier /février / vol. 12 / n° 1.
- **De Bree A., Verschuren WM., Kromhout D., Kluijtmans LA et Blom HJ.**(2002). Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev*;54:599-618.
- **Demuth K., Drunat S., Paul J.L. et Moatti N.** (2000). Hyperhomocystéinémie et athérosclérose. *Médecine/Science* 16 : 1081-1090.
- **Descheemaeker K. et Provoost C.** (1999). L’impact de la nutrition sur la santé, *Développements récents -1.* Ed. Garant, Belgique : 99-102.
- **Descheemaeker K.** (2004). L’impact de la nutrition sur la santé. Ed. Garant, Anvers: 3132.
- **Devlin A.M et Lentz S.R.,** (2006). ApoA-I, A Missing Link Between Homocysteine and Lipid Metabolism, *Circ. Res.*, Vol. 98, p.431-433.
- **Djoudi Zahra.** (2016). Contribution à l’étude de lycopène de tomate Extraction et évaluation de son effet antioxydant sur une huile alimentaire. Mémoire master 2 : Contrôle de qualité et Nutrition en agroalimentaire. Université M’hamed Bouguerra Boumerdès, 94p.

- **Doshi S., McDowell I., Goodfellow J., Stabler S., Boger R., Allen R., Newcombe R., Lewis M., Moat S.** (2005). Relationship between S-adenosylmethionine, S-adenosylhomocysteine, asymmetric dimethylarginine, and endothelial function in healthy human subjects during experimental hyper- and hypohomocysteinemia. *Met. Clin. Exp.*, 54 : 351– 360.
- **Dugas, T. R., D. et W. Morel.**(1998). "Impact of LDL carotenoid and alpha-tocopherol content on LDL oxidation by endothelial cells in culture." *J Lipid Res* 39(5) : 999-1007.
- **Durand, P., Prost, M., Loreau, N., Lussier-Cacan, S. et Blache, D.** (2001). Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease, *Lab Invest*;81: 645-672.

-E-

- **Edith M., Girard C.L., Guay FetMatte J.** (2010). Les taux d'homocystéine chez le porcelet nouveau-né: les façons et l'importance de les diminuer. *Porc Québec* : 48-49.
- **Eid, Y.Z., Ohtsuka, A., Hayashi, K.** (2003). Tea polyphenols reduce glucocorticoid-induced growth inhibition and oxidative stress in broiler chickens. *Br. Poult. Sci*; 44:127–132.
- **Elizabeth JJ.** (2000). The role of lycopene in health and disease, *Nutrition in Clinical Care*, vol 3, N° 1 : 35 -43.
- **Emsley A., Jeremy J., Gomes G., Angelini G et Planer F.** (1999). Investigation of the inhibitory effects of homocysteine and copper on nitric oxide-mediated relaxation of rat isolated aorta. *Br. J. Pharmacol.*, 126 : 1034–40.
- **Erwan Gouranton.** (2010) . Effets du lycopène et du bêta-carotène sur la physiologie du tissu adipeux : Un impact globalement positif sur les désordres physiopathologiques associés à l'obésité. Thèse de doctorat : Pathologie Humaine (nutrition). UNIVERSITÉ DE LA MÉDITERRANÉE AIX MARSEILLE II FACULTE DE MÉDECINE DE MARSEILLE Ecole Doctorale des sciences de la vie et de la santé, 257p.

-F-

- **Faure H., Fayol V., Galabert C., Grolier P., Le Moël G., Steghens JP., Van Kappel A., Nabet F., Carotenoids :** 1. Metabolism and physiology (1999) *Annale de Biologie Clinique*, vol 57, N° 2 : 163 – 183.

- **Fekhar M.** (2011). Coeur & vaisseaux = appareil circulatoire : Anatomie & Physiologie. Cardiologie, Centre Hospitalier de Hyères: 3-8.
- **Ferretti G, bacchetti T., Nègre-Salvayre A., Salvayre R., Dousset N., Curatola G.** (2006). Structural modifications of HDL and functional consequences. *Atheroscl*; 184: 1-7.
- **Fiedewiad W., levy R., ferdrickson D.S., 1972.** Cholestérol liquides , pour la détermination in vitro du cholesterol dans le serum ou le plasma .*Clin. Chem*, **18**:499 - 502.
- **Fuhrman, B et A. Elis.** (1997). "Hypocholesterolemiceffect of lycopene and betacaroteneisrelated to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages." *Biochem Biophys Res Commun* 233(3) : 658-62.
- **Fu Y.F., Xiong Y et Guo Z.** (2005). A reduction of endogenous asymmetric dimethylarginine contributes to the effect of captopril on endothelial dysfunction induced by homocysteine in rats. *Eur. J. Pharm.*, 508 : 167–175.

-I-

- **Ip BC., Hu KQ., Liu C., Smith DE and Obin MS.,** 2013. Lycopene metabolite, apo-10'-lycopenoic acid, inhibits diethylnitrosamine-initiated, high fat diet-promoted hepatic inflammation and tumorigenesis in mice. *Cancer Prev. Res. Canprevres.*, 6 (12): 1304 -1316.

-G-

- **Gajic, M et S. Zaripheh.**(2006). "Apo-8'-lycopenal and apo-12'-lycopenal are metabolic products of lycopene in rat liver." *J Nutr* 136(6) :1552-7.
- **Gao X., Bermudez OI and Tucker KL.,** (2004). Plasma C-reactive protein and homocysteine concentrations are related to frequent fruit and vegetable intake in Hispanic and non-Hispanic white elders. *J Nutr.*, 134:913–918.
- **García-Tevijano E.R., Berasain C., Rodríguez J.A., Corrales F.J., Arias R., Martín-Duce A., Caballería J., Mato J.M et Avila M.A.** (2001). Hyperhomocysteinemia in Liver Cirrhosis. Mechanisms and Role in Vascular and Hepatic Fibrosis. *Hypertension.*, 38 :1217.
- **Gaté L., Paul J., Nguyen Ba G., Tew K.D., Tapiero H.** (1999). Oxydative Stress induced in pathologies : the role of antioxydants ; *Biomed & Pharmaother* ; 53 : 169-180.

- **Ghoul A .,** (2009). Hyperhomocysteinémie et remodelage de la matrice extra cellulaire testiculaire, épидидymaire et vésiculaire chez le rat Wistar, *Rattus norvegicus*. Thèse de magister. USTHB. Alger.
- **Gibault T.,** 2006. Lycopène ?Peut être. Tomate ? Sans aucun doute ! . *Equation Nutrition*, vol.55, n.5, p.2.
- **Giovannucci, E., A. Ascherio.** (1995). "Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer." *J Natl Cancer Inst* 87(23): 1767-76.
- **Giovannucci, E. (1999).** "Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer:review of the epidemiologic literature." *J Natl Cancer Inst* 91(4):317-31.
- **Giovannucci, E., E. B. Rimm.**(2002). "A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk." *J Natl Cancer Inst* 94(5): 391-8.
- **Guilland J.C. ; Favier A. ; Potier de Courcy G. ; Galan P. ; Hercberg S.** (2003).L'hyperhomocystéinémie : Facteur de risque cardiovasculaire ou simple marqueur ? –1.Données fondamentales . *Path. Biol.*, 51 : 101 - 110.

-H-

- **Hamdis N. (2011).** Remodelage de la matrice extracellulaire cardiaque induit par différentes doses de méthionine chez le Rat Wistar, *Rattus norvegicus*. Thèse de magister. USTHB. Alger. P 56.
- **Haynes W.G.** (2002). Hyperhomocysteinemia, Vascular function and atherosclerosis: Effects of vitamins. *Cardiovascular Drugs and Therapy* 16: 391-399.
- **Heinecke W., Rosen H., Suzuki L.A et Chait A.** (1987). The role of sulfur-containing amino acids in superoxide production and modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *Biol. Chem.*, 262 : 10098-103.
- **Heinecke W.** (1988). Superoxide-mediated oxidation of low density lipoprotein by thiols. In: Cerutti PA, Fridovich I, McCord M, eds. *Oxy-radicals in molecular biology and pathology*. New York: Alan R. Liss, 443-57.
- **Hofmann M.A., Lalla E., Lu Y., Gleason M.R., Wolf B.M., Tanji N., Ferran L.J., Kohl B., Rao V., Kisiel W., Stern D.M et Schmidt A.M.** (2001).Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J. Clin. Invest.*, 107 : 675 – 683

- **Hu, K. Q et C. Liu.** (2006). "The biochemical characterization of ferret carotene-9',10'- monoxygenase catalyzing cleavage of carotenoids in vitro and in vivo." *J Biol Chem* 281(28) : 19327-38.
- **Huang RF., Hsu YC., Lin HL et Yang FL.**(2001). Folate depletion and elevated plasma homocysteine promote oxidative stress in rat livers. *J Nutr.*; 131: 33-8.
- **Hung, C. F et T. F. Huang.** (2008). "Lycopene inhibits TNF-alpha-induced endothelial ICAM-1 expression and monocyte-endothelial adhesion." *Eur J Pharmacol* 586(1-3): 275-82.

-J-

- **Jacob K., Periago MJ., Böhm V and Berruezo GR.,** 2008. Influence of lycopene and vitamin C from tomato juice on biomarkers of oxidative stress and inflammation. *Br J Nutr.*, 99(1):137- 146.
- **Jakubowski H.,** (2000). Homocysteine thiolactone: metabolic origin and protein homocysteinylolation in humans. *J Nutr*, 130 : 377S–381S
- **Jonathan R Mein., Fuzhi Lian et Xiang-Dong Wang.**(2012). Biological activity of lycopène metabolites: implications for cancer. *Nutrition prevention Reviews* ;66(12):667–683.
- **Jonker. D.,a C.F. Kuper,a N. Fraile,b A. Estrella,b .and C. Rodriguez Oteroc.**(2003). Regulatory Toxicology and Pharmacology Ninety-day oral toxicity study of lycopene from *Blakeslea trispora* in rats; 37:396–406
- **Joseph J., Joseph L., Shekhawat NS., Devi SS., Wong J., Melchert RB., Hauer-Jensen M., Kennedy RH.**(2003). Hyperhomocysteinemia leads to pathological ventricular hypertrophy in normotensive rats. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, 285 : H686-H688

-K-

- **Kahle W., Leonhardt H., Platzer W.,** 1990. Anatomie tome2, viscères. 2^{ème} Edition Flammarion (Médecine-Science). Key intermediate. *FEBS Letters* **583**: 1215-1225.
- **Kalani A., Kamat PK., Givvimani S et Brown K.** (2014). Nutri-epigenetics Ameliorates Blood–Brain Barrier Damage and Neurodegeneration in Hyperhomocysteinemia: Role of Folic Acid ; 52(2):202-15.
- **Khan M., Yamauchi M., Srisawasdi S., Stiner D., Doty Set Paschalis E.P.** (2001). Homocysteine decreases chondrocyte-mediated matrix mineralisation in

differentiating chick limb-bud mesenchymal cell micro-mass cultures. *Bone.*, 28 : 387–98.

- **Kim DJ., Koh JM., Lee O et Lee YS.(2006).** Homocysteine enhances apoptosis in human bone marrow stromal cells. *Bone*; 39: 582-90.
- **Kim, L et A. V. Rao.** (2002). "Effect of lycopene on prostate LNCaP cancer cells in culture." *J Med Food* 5(4): 181-7.
- **Kiwon L., Hyong JL., Chang YL.** (2004). Vitamins, Phytochemicals, Diets, and Their Implementation in Cancer Chemoprevention *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 : 437–452.
- **Kristenson, M, Zieden, B et Kucinskiene, Z.**(1997). Antioxidant state and mortality from coronary heart disease in Lithuanian and Swedish men: Concomitant cross sectional study of men aged 50. *BMJ* 314:629.
- **Kucuk O.**(2001). Randomised clinical trial of lycopene supplementation before radical prostatectomy, *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*; 10:861-868.

-L-

- **Laporte F.**, (2000). Les récepteurs membranaires des LDL oxydées : leur rôle dans l'athérogenèse. *Néphrologie*, 21(7) : 327-328.
- **Latacha KS et Rosenquist TH.** (2005). Homocysteine inhibits extra-embryonic vascular development in the avian embryo. *DevDyn*; 234(2):323-31.
- **Lavabre-Bertrand T.** (2005). Histologie de l'appareil cardio-vasculaire. Module intégré 2: Cardiologie et pneumologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes : 2-11. In site: www.med.univmontp1.fr/...integres/...cardio.../Histologie/histo_cardio_juin_2005
- **Lawrence de Koning A.B., Werstuck G.H., Zhou J. et Austin R.C.** (2003). Hyperhomocysteinemia and its role in the development of Atherosclerosis. *Clinical Biochemistry* 36: 431-441.
- **Lebreton A., Bonneau C., Bouvier D., Albert A., Ughetto S., Mulliez A., Cadau M., Chamson A., Sapin V. et Fogli A.** (2009). Dosage de l'homocystéine plasmatique, comparaison de deux méthodes : CLHP versus immunonéphélométrie. *Immuno-analyse et biologies spécialisées* 24: 155-159.
- **Lentz S. R., Malinox M. R., Piegors D. J., Bhopatkar M., Faraci F. M et Heistad D. D.**, 1997. Consequences of hyperhomocysteinemia on vascular function in 55 atherosclerotic monkeys. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 17: 2930 – 2934

- **Lentz, S. R et Haynes, W. G.**(2004).Homocysteine: is it a clinically important.
- **Lopez D.,Abisambra Socarrás Jose F., Bedi M., Ness Gene C.** (2007). Activation of the hepatic LDL receptor promoter by thyroid hormone. *Biochim. Biophys. Acta*; 1771: 1216-25.
- **Loscalzo J.** (1996).The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest.* 98 : 5-7.
- **Libby P.**, 2002. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.*,420:868-874.
- **Liu XJ., Qu D., He F, Lu QH, Wang J and Cai DL.**, (2007). Effect of lycopene on the vascular endothelial function and expression of inflammatory agents in. *Asia Pac J Clin Nutr.*, 16 (1): 244-248

-M-

- **Mairesse S., Drevillon T., Swebel T. A., Horellou M. H., Conard J., Le Jeune C. et Blacher J.** (2010). Homocystéine et maladie veineuse thromboembolique : la fin d'une belle histoire ?.*Sang Thrombose Vaisseaux* 22 (3) : 144-149.
- **Mannisto P.T., Ulmanen I., Lundstrom K., Taskinen J., Tenhunen J et Tilgman C.** (1992). Characteristics of catechol O-methyl-transferase (COMT) and properties of selective COMT inhibitors. *Prog. Drug. Res.*, 39 : 291 - 350.
- **Markovits.N, A. B., Amotz, et Levy Y.** (2009). —The effect of tomatoderived lycopene on low carotenoids and enhanced systemic inflammation and oxidation in severe obesity, *Israel Medical Association Journal*;11(10):598–601.
- **Martinez M., Cuskelly G J., Williamson J, Toth J P et Gregory J. F.,**(2000). Vitamin B-6 Deficiency in Rats Reduces Hepatic Serine Hydroxymethyltransferase and Cystathionine-Synthase Activities and Rates of In Vivo Protein Turnover, Homocysteine Remethylation and Transsulfuration. *J. Nutr.*, 130: 111 - 123.
- **Mathews-Roth MM., Welankiwar S., Seghal PK., N. CG., Lausen NCG., Russett M., and Krinsky NI.**, 1990. "Distribution of [¹⁴C]canthaxanthin and [¹⁴C]lycopene in rats and monkeys." *J Nutr.*, 120 (10): 1205–1213.
- **Milde, J., E. F. Elstner.**,(2007). "Synergistic effects of phenolics and carotenoids on human lowdensity lipoprotein oxidation." *Mol Nutr Food Res* ; 51(8): 956-61.
- **Miller JW., Ramos MI., Garrod MG., Flynn MA., Green R.**, (2002). Transcobalamin II 775 G>C polymorphism and indices of vitamin B12 status in healthy older adults. *Blood*; 100: 718-720.

- **McCully K.S. ; Olszewski A.J. ; Vezeridis M.P.** (1990). Homocysteine and lipid metabolism in atherogenesis: effect of the homocysteine thiolactonyl derivatives, thioretinaco and thioretinamide. *Atherosclerosis.*, 83 : 197–206.
- **McCully K.S.** (1994). Chemical pathology of homocysteine. II. Carcinogenesis and homocysteine. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 24 : 27–59.
- **Miller KW., Lorr NA and Yang CS.,** 1984. Simultaneous determination of plasma retinol, α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem.*, 138:340-345.
- **Min H. (2009).** Effects of dietary supplementation of high-dose folic acid on biomarkers of methylating reaction in vitamin B(12)-deficient rats, *Nutr. Res. Pract* ; 3 (2) : 122–7.
- **Mouchabac S.** (2008). Homocystéine, hyperhomocystéinémie et dépression. *Neuropsychiatrie : Tendances et Débats* 32 : 9-18.
- **Moussa, M et J. F. Landrier.** (2008). "Lycopene absorption in human intestinal cells and in mice involvesscavengerreceptor class B type I but not Niemann-Pick C1-like 1." *J Nutr* 138(8): 1432-6.
- **Mori N et Hirayama K.,** (2001). Long-term consumption of a methionine-supplemented diet increases iron and lipid peroxide levels in rat liver. *J. Nutr.*, 130 : 2349-2355
- **Muhammad Imran Fereshteh Ghorat , Iahtisham Ul-Haq , Habib Ur-Rehman , Farhan Aslam , Mojtaba Heydari, Mohammad Ali Shariati , Eleonora Okuskhanova , Zhanibek Yessimbekov , Muthu Thiruvengadam , Mohammad Hashem Hashempur et Maksim Rebezov,** (2020).Lycopene as a Natural Antioxidant Used to Prevent Human Health Disorders. *Revue antioxydants.*9, 706, 3-27.
- **Murthy S.N., Obregon D.F., Chattergoon N.N., Fonseca N.A., Mondal D., Dunne J.B., Diez J.G., Jeter J.R., Kadowitz Ph.J., Agrawal K.C., McNamara D.B et Fonseca V.A.** (2005). Rosiglitazone reduces serum homocysteine levels, smooth muscleproliferation, and intimal hyperplasia in Sprague-Dawley rats fed a high methionine diet.*Met. Clin. Expe.*, 54 : 645– 652.

-N-

- **Nagai Y., Tasaki H., Takatsu H et Nihei S.**(2001).Homocysteine inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *BiochemBiophys Res Commun* : 281(3):726-31.
- **Nahum, A et K. Hirsch. (2001).** "Lycopene inhibition of cell cycle progression in breast and endometrial cancer cells associated with reduction in cyclin D levels and retention of p27(Kip1) in the cyclin E-cdk2 complexes." *Oncogene* 20(26): 3428-36.
- **Namour F., Helfer A.C., Quadros E.V., Alberto J.M., Bibi H.M., Orning L., Rosenblatt D.S. et Jean-Louis G. (2003).** Transcobalamin deficiency due to activation of an intra exonic cryptic splice site. *British Journal of Haematology* 123 : 915-920.
- **Narine F, Narin N, Akcakus M, Ustdai M, Karaküçük I, and Halici C. (2002).** The effect of folic acid, vitamin B6 and vitamin B12 on the homocysteine levels in rabbits fed by methionine : enriched diets. *Tohoku J. Exp. Med*;198:99-105.
- **Nunes IL., Adriana Z. Mercadante AZ.**(2004).Obtenção de cristais de licopeno a partir de descarte de tomate. *Ciênc. Technol. Aliment., Campinas*, 24 (3) : 440 - 447.

-O-

- **Obeid R, Herrmann W. (2009).** Homocysteine and lipids: S-adenosyl methionine as a key intermediate. *FEBS Lett.*; 583(8):1215-1725
- **O'Kennedy N., Crosbie L. (2006).** Effects of tomato extract on platelet function: a double-blinded crossover study in healthy humans . *Am J Clin Nutr* 84 (3) : 561-569.
- **Oshima, S., Sakamoto, H., Ishiguro, Y., Terao, J.**(1997). Accumulation and clearance of capsanthin in blood plasma after the ingestion of paprika juice in men. *J. Nutr*;127:1475–1479.
- **Othmani K., (2007).** Remodelage de matrices extracellulaires induit par une hyperhomocystéinémie et par la gestation chez le lapin. Caractérisation et suivi de marqueur de la gravidité. Thèse de doctorat. USTHB, Alger.
- **Outinen PA., Sood SK., Pfeifer SI et Pamidi S. (1999).** Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and growth arrest leads to specific changes in gene expression in human vascular endothelial cells. *Blood*. 94 (3):959-67.

-P-

- **Paran, E., Engelhard, Y.**(2001). Effect of tomato's lycopene on blood pressure, serum lipoproteins, plasma homocysteine and oxidative stress markers in grade I hypertensive patients. *AJH*; 14(4): 333.
- **Paul D. Fraser, Peter M. Bramley.** (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* .43 : 228–265. **Kiwon L., Hyong JL., Chang YL.** (2004). Vitamins, Phytochemicals, Diets, and Their Implementation in Cancer Chemoprevention *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 :437–452.
- **Porrini M., Riso P.** (2005). What are typical lycopene intakes? *J Nutr* , 135(8) : 42S-50S.
- **Pritchard KA Jr., Groszek L., Smalley DM et Sessa WC.** (1996). Native low density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion. *Circ Res*; 77 (3): 510-8.

-R-

- **Raaf L.,** 2003. Effet de l'hyperhomocystéinémie sur la matrice extracellulaire de la paroi d'aorte du rat de laboratoire *Rattus norvegicus*. Thèse de magister. USTHB. Alger. 113p
- **Rao, A.V., Shen, H.** (2002). Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. *Nutr. Res*;22: 1125–1131.
- **Rao. A. V. et L. G. Rao.**(2007). "Carotenoids and human health." *Pharmacol Res* 55(3): 207-16.
- **Refsum H., Ueland P.M., Nygard O et Vollset S.E.** (1998). Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu. Rev. Med.* 49 :31-62.
- **Renfroe MH., Brevard PB., Montgomery JR.** (2004). Antioxidant content varies in fresh and processed tomato products. *Journal of the American Dietetic Association*; 104 (suppl.2) :A-49.
- **Roberfroid MB** (1999). "What is beneficial for health? The concept of functional food." *Food Chem Toxicol*;37(9-10): 1039-41.
- **Roberfroid MB.**(2000). "Concepts and strategy of functional food science: the European perspective." *Am J Clin Nutr* ;71(6 Suppl): 1660S-4S; discussion 1674S-5S.
- **Roblin X., Pofelski J et Zarski J.P.** (2007). Rôle de l'homocystéine au cours de la stéatose hépatique et de l'hépatite chronique C. *Gastroenterol Clin Biol* 31 :415-420.

- **Rolland P.H., Friggi A., Barlatier.A ., Piquet P ., Latrille V ., Faye M M ., Guillou . J., Charpiot P., Bodard H., Ghiringhelli O., Calaf. R; Luccioni. R et Garçon D.**, 1995. Hyperhomocysteinemia-Induced Vascular Damage in the Minipig. Captopril-Hydrochlorothiazide Combination Prevents Elastic Alterations, *Circulation*, Vol. 91, p. 1161-1174.
- **Romanchik, J. E., D. W. Morel, et al.** (1995). "Distributions of carotenoids and alphanatocopherol among lipoproteins do not change when human plasma is incubated in vitro." *J Nutr* ; 125(10): 2610-7.

-S-

- **Samarjit D., Hajime O., Nilanjana M., Dipak KD.** (2005).Lycopene, tomatoes, and coronary heart disease. *Free Radical Research*, 39 (4) : 449– 455.
- **Selhub J.** (1999). Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr*; 19:217-46.
- **Sharma M., Rai S.K., Tiwari M., Chandra R.,** (2007). Effect of homocysteinemia on cardiovascular risk factors and initiation of atherosclerosis in Wistar rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 574 : 49-60.
- **Shi J et Le Maguer M.** (2000). Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr* ; 40(1): 1-8.
- **SieKK., Li J., Ly A et SohnKJ.**(2013). Effect of maternal and postweaning folic acid supplementation on global and gene-specific DNA methylation in the liver of the rat offspring, *Mol. Nutr. Food Res*; 57 (4) : 677–85.
- **Southon,S.**(2001). Increased fruit and vegetable consumption: Potential health benefits. *Nut.Met.cardio Dis*;11:78-81.
- **Stahl W., Schwarz W., Sundquist A.R et Sies H.,** 1992. Cis-trans isomers of lycopene and b-carotene in human serum and tissues. *Arch. Biochem. Biophys*, vol.294, p.173-177.
- **Stahl, W et vonLaar J.** (2000). "Stimulation of gap junctional communication : comparison of acyclo-retinoic acid and lycopene." *ArchBiochemBiophys* 373(1) : 2714
- **Stevens A., Lowe J., 1997.** *Histologie humaine.* Deboeik université Paris..
- **Stipanuk MH.**(2004). Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. *AnnuRevNutr*; 24:539-77.

-T-

- **Taghlit A.** (2010). Les altérations plasmatiques et hépatiques induites par l'hyperhomocystéinémie chez le lapin domestique mâle. Thèse de magistère USTHB. Alger. P84.
- **Taheri Z., Ghafari M and Amiri M.,** (2015). Lycopene and kidney; future potential application. *J Nephropharmacol.*, 4(2): 49–51.
- **Tammy MB.** (2000). Dietary Antioxidants and Assessment of Oxidative Stress. *Nutrition* vol 16, 7/8 : 578 – 581.
- **Tan H., Jiang X., Yang F et Li Z.** (2006). Hyperhomocysteinemia inhibits post-injury reendothelialization in mice. *Cardiovasc Res*; 69(1):253-62.
- **Torres L., Garcia-Trevijano E.R., Rodriquez J.A., Carretero M.V., Bustos M., Fernandez E., Equinoa E., Mato J.M et Avila M.A.** (1999). Induction of TIMP-1 expression in rat hepatic stellate cells and hepatocytes: a new role for homocysteine in liver fibrosis. *Biocim. Biophys. Acta.*, 1455 (1) : 12-22.
- **Troen AM. ; Lutgens E. ; Smith DE. ; Rosenberg IH. ; Selhub J.** (2003). The atherogenic effect of excess methionine intake. *PNAS.*, 100 : 15089–94
- **Tselmin S., Rodionov R.N., Müller G., Bornstein Set Julius U.,** (2013). Homocysteine in lipoprotein apheresis patients – Retrospective data analysis in apheresis center of a university hospital. *Atherosclerosis Supplements* 14: 123-128.
- **Tyagi N., Ovechkin AV., Lominadze D et Tyagi SC.** (2006). Mitochondrial mechanism of microvascular endothelial cells apoptosis in hyperhomocysteinemia. *J Cell Biochem*; 98:1150-62.

-U-

- **Ueland P.M.** (1982). Pharmacological and biochemical aspects of S-adenosylhomocysteine and S-adenosylhomocysteine hydrolase. *Pharmacol. Rev.*, 34 : 223–53.
- **Upchurch GR, Jr., Welch GN., Fabian AJ et Freedman JE.** (1997). Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem*; 272:17012-7.
- **Urano F., Wang X., Bertolotti A et Zhang Y.** (2000). Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science*; 287: 664-6.

-V-

- **Van Guldener C et Stehouwer C.D.** (2000). Hyperhomocysteinemia, vascular pathology, and endothelial dysfunction. *Semin. Thromb. Hemost.*, 26 : 281–9.
- **Veeranki S., Givvimani S., Pushpakumar S et Tyagi SC.** (2014). Hyperhomocysteinemia attenuates angiogenesis through reduction of HIF-1 α and PGC-1 α levels in muscle fibers during hindlimb ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 306(8):1116-27.
- **Véronique B et Daniel L.**(2001). Consultations en nutrition. *Le lycopène : un antioxydant très puissant*, 60 : p55-5.
- **Voutilainen S., Morrow J. D., Roberts L. J., Alfthan G., Alho.H., Nyyssonen K et Salonen J.T.,** 1990. Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, Vol.19, p. 1263-1266.
- **Virtanen, K. A et M. E. Lidell.**(2009). "Functional brown adipose tissue in healthy adults." *N Engl J Med* 360(15) : 1518-25.

-W-

- **Wang G., Dai J., Mao J., Zeng X., Yang X. et Wang X.** (2005). Folic acid reverses hyper-responsiveness of LPS-induced chemokine secretion from monocytes in patients with hyperhomocysteinemia. *Atherosclerosis.*, 179 : 395–402.
- **Wang H., Yoshizumi M., Lai K., Tsai J.C., et al.**Inhibition of growth and p21ras methylation in vascular endothelial cells by homocysteine but not cysteine, *J. Biol. Chem.* 1997;272: 25380–5.
- **Wertz K., Siler U., Goralezyk R.** (2004). Lycopene: Methods of action to promote prostate health. *Arch. Biochem. Biophys.* 430: 127-134.
- **White PJ.** (2002). Recent advances in fruit development and ripening: an overview. *Journal of Experimental Botany* : 53 : 1995 – 2000.
- **Willcox B. J., J. D. Curb, et al.,** (2008). "Antioxidants in cardiovascular health and disease: key lessons from epidemiologic studies." *Am J Cardiol* 101(10A): 75D-86D.
- **Wilson R.E., Waugh A., et Grant A.** (2007). *Anatomie et physiologie normale et pathologique.* Ed. Elsevier Masson : 79-134.

-Y-

- **Yucel Y., Oguz E., Kocarlan S., Tatli F., Gozeneli O., Seker A., Sezen H., Buyukaslan H., Aktumen A., Ozgonul .A, Uzunkoy A and Aksoy N.,** (2017). The

effects of lycopene on methotrexate- induced liver injury in rats. Bratisl Lek Listy.,
118(4): 212-216.

-Z-

- **Zerrouk fouzia**, (2007), Modulation de la composition de la matrice extracellulaire vasculaire par une hyperhomocystéinémie chez *Psammomys oboeus*. Thèse de magister en biologie et physiologie animal. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, faculté des sciences biologique, P44 -86.
- **Zhang C., Cai Y., Adachi MT et Oshiro S.**(2001). Homocysteine induces programmed cell death in human vascular endothelial cells through activation of the unfolded protein response. *J BiolChem*; 276:35867-74.
- **Zhang X.,Li H., Jin H., Ebin Z., Brodsky Set Goligorsky M.S.** (2000). Effects of homocysteine on endothelial nitric oxide production. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 279 :671–8.
- **Zhao H., Kalivendi S., Zhang H et Joseph J.**(2003).Superoxide reacts with hydroethidine but forms a fluorescent product that is distinctly different from ethidium: potential implications in intracellular fluorescence detection of superoxide. *Free RadicBiol Med* ; 34:1359-68.
- **Zhou J., Moller J., Danielsen C.C., Bentzon J., Ravan H.B., Austin R.C., Falk E.** (2001). Dietary supplementation with methionine and homocysteine promotes early atherosclerosis but not plaque rupture in ApoE-deficient mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 21: 1470-1476.
- **Zylberstein, D. E., Bengtsson, C., Bjorkelund, C., Landaas, S., Sundh, V., Thelle, D et Lissner, L.**(2004).Serum homocysteine in relation to mortality and morbidity from coronary heart disease: a 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg,*Circulation*; 109: 601-606.
- **Zittoun J.** (1998).Homocystéine et pathologie vasculaire. *Hématologie* 4 (1) : 7-16.

Annexe

➤ Dosage du lycopène hépatique

De nombreuses études ont rapportées que l'Hcy est directement liée aux conditions hépatotoxiques d'où l'intérêt de quantifier la concentration en lycopène dans le foie des rats. Le dosage du lycopène est réalisé après une étape d'extraction à l'aide de solvants appropriés. Les extraits obtenus sont ensuite analysés par chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à un détecteur à barrette de diodes.

Le protocole d'analyse utilisé au laboratoire, permet de séparer et de quantifier en une seule analyse le lycopène présent dans l'échantillon. Le dosage du lycopène a été réalisé, sur des échantillons de foie prélevés sur les rats supplémentés au lycopène (Lyc) et les rats sous régime enrichi en méthionine et supplémenté au lycopène (Met/Lyc) selon les recommandations de **Miller et al. (1984)**.

Pour cela, il faut homogénéiser le foie dans des tubes en verre renfermant 8 ml d'acétone contenant 0.25% de BHT (2.6-di-terte-butyl-4- méthylphénol). Ensuite faire passer le mélange au vortex pendant 2 mn puis laissé dans de la glace pendant 25 mn.

L'échantillon a été ensuite repris et centrifugé à 13000g (4°C) pendant 10 mn pour enfin recueillir le surnageant. Une seconde extraction a été réalisée à partir du reste de l'échantillon et les deux phases ainsi obtenues ont été évaporées, à sec, sous azote (N₂) et à 30°C. L'échantillon évaporé a été repris dans 2 ml d'éthanol - eau (1:1 v/v) pour subir deux nouvelles extractions, en utilisant de l'hexane (4ml et 2ml, au lieu de l'acétone). Après évaporation sous azote, de la phase organique obtenue, re-dissous le résidu dans un volume final de 1ml d'hexane - dichlorométhane (1:1, v/v). La solution obtenue a été injectée dans le chromatographe liquide à haute pression (HPLC) pour analyse. La phase mobile est constituée d'un mélange méthanol-acétonitrile (70:30 v/v), le lycopène est détecté à une longueur d'onde de 471nm.

La concentration du lycopène standard est 1mg/l.

Expression des résultats = 1 x Surface de l'échantillon/ surface du témoin.

➤ Méthodes d'extraction du lycopène

Les méthodes conventionnelles d'extraction du lycopène emploient des solvants organiques purs tels que le dichlorométhane, l'éthanol, l'acétone, l'hexane, le benzène et le chloroforme (**Brittonet al., 1995**).

L'éther de pétrole était également employé pour l'extraction de lycopène (**Renfroet al., 2004**). Le plus souvent, les extractions sont effectuées par un mélange de solvants polaire-polaire ou polaire-apolaire dans différents rapports (**Basu et al., 2001**). Malgré leur usage fréquent, ces méthodes présentent des inconvénients intrinsèques, à savoir, le long temps d'analyse, l'occurrence des erreurs potentielles dues à l'oxydation ou à d'autres pertes rencontrées pendant l'extraction elle-même (**Stahl et Helmut, 2004**).

La mixture hexane-acétone-éthanol est souvent employée (**O'Kennedy et Crosbie, 2006**). Par ailleurs les extraits de lycopène obtenus avec la mixture l'hexane/acétone ou hexane/éthanol, présentent une plus grande stabilité, que ceux obtenus avec d'autres solvants, tels que le chloroforme ou le dichlorométhane (**Paul et al., 2004**). Les solvants tels que le diéthyl éther et le tétrahydrofurane peuvent contenir des peroxydes qui réagissent avec caroténoïdes (**Kiwon et al., 2004**). Bien que fiables, ces analyses conventionnelles du lycopène exigent l'utilisation d'importantes quantités de solvants organiques volatils pour chaque échantillon. Pour l'usage courant, ceci se transforme par multiplication en de grands volumes de déchets dangereux qui sont coûteux et qui doivent être éliminés sous les directives environnementales strictes.

Ces mêmes techniques, ont été modifiées et améliorées dans l'objectif de réduire (jusqu'à 80%) les volumes de solvants organiques utilisés. Celles-ci donnent statistiquement des résultats identiques avec des procédures conventionnelles d'extraction de ce type (**Faure et al., 1999**). L'instabilité du lycopène pendant les processus d'extraction, de manipulation, et de l'élimination des solvants organiques fait que l'extraction demeure une tâche extrêmement sensible (**Tammy, 2000**). Des techniques d'extraction qui tiennent compte de la fiabilité des résultats, sans impact néfaste sur l'environnement ont été développées. Il s'agit de l'extraction liquide supercritique (SFE) (**Nunes et al., 2004**). Dans ce cas, des huiles végétales sont employées comme stabilisateurs, ou co-solvants (**Elizabeth, 2000**). L'emploi de cette technique, évite la contamination des échantillons, les pertes, et réduit au minimum les réactions de dégradations (isomérisation et oxydation), en donnant des extraits de grande pureté. Des travaux ont décrit un processus d'extraction de lycopène basé sur l'utilisation du

gaz de CO₂ en phase supercritique, avec un rendement de plus de 60%, des résidus de tomate(**Kiwonet *al.*, 2004**)

L'avantage thermodynamique, d'utiliser le fluide supercritique, est sa facilité de séparation des corps dissous extraits, en modifiant simplement les conditions de pression et de température. Les fluides supercritiques se caractérisent par des masses de transfert supérieur, comparé aux solvants organiques(**White, 2002**).

Il existe tout de même, une convenance de l'extraction liquide supercritique comme alternative à l'extraction conventionnelle de solide-liquide (**Porrinet *al.*, 2005**). La SFE exige également des co-solvants polaires (éthanol à 5%), pour faciliter l'extraction du lycopène. Les rendements d'extraction de l'ordre de 54% sont obtenus. Les co-solvants, miscibles avec de l'eau (par exemple, acétone et méthanol) sont employés avec des rendements d'extraction plus élevés que l'éthanol; d'autres sont non-miscibles avec de l'eau (par exemple, hexane et dichlorométhane) donnent de faibles rendements d'extraction (**Cohenet *al.*, 200**) . Dans le cas du lycopène, lorsque les rendements d'extraction sont inférieurs à 50%, la technique ne trouve pas d'application industrielle, même si l'efficacité peut être améliorée en augmentant la température d'extraction, mais cela se fera au détriment de la stabilité de lycopène (**Samarjit *et al.*, 2005**). Malgré tous ses avantages, la technique du SFE reste tout de même coûteuse et non rentable (**Gatéet *al.*, 1999**). La plupart, des solvants utilisés dans les différents types d'extraction (solvants non polaires qui ont une efficacité élevée d'extraction) sont considérés comme toxiques. Cependant, l'usage de solvants organiques tels que l'acétate d'éthyle et l'hexane, est approuvé pour des applications alimentaires dans beaucoup de pays (**Campbell, 2007**).