

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche
Scientifique

Université SAAD Dahlab- Blida
Faculté Des Sciences Agro- Vétérinaire
Département Des Sciences Agronomiques
Filière: Sciences Alimentaires

Option: Nutrition Et Contrôle Des Aliments

Mémoire De Fin D'études En Vue De L'obtention Du Diplôme De
Master Académique En Sciences De La Nature Et De La Vie

Thème

EFFET DU LYCOPENE SUR LE STRESS
OXYDATIF INDUIT CHEZ DES RATS
HYPERHOMOCYSTEINEMIQUES

Présenté par : HAMRARAS Meriem

Devant le jury composé de :

M ^r RAMDANE	MCA	USDB	President.
M ^{me} IDRES Aicha	MAA	USDB	Promotrice.
M ^r BENZEKRI	MAA	USDB	Examineur.
M ^r AMALOU	MAA	USDB	Examineur.

Année Universitaire: 2012-2013

Remerciements

Au terme de ce travail, nous remercions le bon dieu tout puissant qui nous a donné la force et la volonté d'achever cette réalisation.

*Je tiens à remercier sincèrement, **Madame IDRES Aicha** pour avoir accepté d'être ma promotrice. Elle s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce travail, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer et sans que ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

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

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

*Je tiens à remercier également, **Pr. M. ABDELALI** professeur chef de service d'Anatomie pathologie du CHU de H-DEY -Parnet- Qu'il trouve ici le témoignage de ma haute considération et de mon profond respect. Et à tout le personnel du service d'Anatomie pathologie du CHU de H-DEY -Parnet- surtout **Hakim et Tarak**.*

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements, **Pr. Z.GUECHI** chef de service de la Laboratoire Central du CHU H-DEY -Parnet- .*

*J'adresse ma vive reconnaissance à **Dr. Mekhalfia** et à **Dr. Cherifi** et à **Dr. ARAB** du laboratoire biochimie de l'hôpital Parnet (CHU) qui a bien voulu m'accueillir avec sa bienveillante compréhension permettant ainsi la réalisation d'une partie de mon travail.*

Un grand merci à chef de service et à toute l'équipe de laboratoire des analyses biochimiques de la polyclinique de BIR KHADAM.

*Je ne saurais oublier de remercier **Dr. SACI Hynd** et **Dr. KHENNICHE Hinene**, maitres assistantes d'histo-embryologie au niveau de faculté de médecine de l'université de BLIDA.*

Merci pour tous ceux qui nous ont soutenues de près ou de loin avec leurs conseils, leurs encouragements ou leurs sympathies et pour que ce modeste travail puisse être achevé.

*Nos remerciements vont aussi à **Mr RAMDANE** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adresse également à **Mr BENZEKRI** et **Mr AMALOU** pour l'honneur qu'elles nous font en acceptant d'examiner ce mémoire.*

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs Années d'étude à :

Mon père et ma mère :

« Qui ont sacrifié de tout cher pour que je puisse poursuivre mes études ».

Mes frères et ma sœur :

« Pour leur soutien et leur aide permanent ».

Mes professeurs :

« Pour leur encouragement et qui n'ont épargné aucun cher ou précieux pour mon bien ».

Mes amis (es) :

« Pour leur soutien moral ».

Toute ma promotion N.C.A. (2012-2013).

A tous les membres de la famille HAMRARAS et BOUBEKER chacun en son nom et sur tous ma grande mère.

A toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment.

Meriem.

TABLE DE MATIERE

Dédicaces

Remerciements

Résumé / Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

INTRODUCTION GENERAL

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le lycopène:	2
1. Description:.....	2
2. Structure chimique:.....	2
3. Les propriétés physicochimiques:.....	3
4. Sources du lycopène et sa biodisponibilité:.....	4
5. La biodisponibilité et l'absorption du lycopène:.....	5
6. Le transport et la distribution tissulaire du lycopène:.....	6
7. Le métabolisme du lycopène :.....	7
8. Les bienfaits du lycopène:.....	9
A. Les maladies cardiovasculaires:.....	9
B. L'inflammation:.....	9
9. Effet du lycopène sur la santé humaine :.....	10
10.Mécanisme d'action du lycopène:.....	11
1) Mécanisme non oxydatif:.....	11
2) Mécanisme oxydatif :.....	11
a) Les radicaux libres:.....	11
b) Les types de radicaux libres :.....	11

c) Sources des espèces réactives de l'oxygène :	12
II. Le stress oxydatif:	12
1. Origines et conséquences:	12
III. Homocystéine:	14
1. Définition:	14
2. Métabolisme de L'homocystéine:	15
a) La déméthylation de la méthionine:	15
b) La reméthylation:	15
c) La transsulfuration de l'hcy :	16
3. Les formes circulantes de l'homocystéine plasmatique:	17
IV. Hyperhomocystéinémie:	17
1) Principaux facteurs favorisant l'Hyperhomocystéinémie:	18
a) Les facteurs nutritionnels:	18
b) Les facteurs génétiques (mutations):	18
• Anomalies de la voie de transméthylation:	18
• Anomalies de la voie de transsulfuration:	19
c) Facteurs non spécifiques:	19
➤ Conditions médicales:	19
➤ Sexe:	19
➤ Age:	19
➤ Toxiques:	19
➤ Médicaments:	19
V. Hyperhomocystéinémie et stress oxydatif:	19
VI. Hyperhomocystéinémie et maladie cardiovasculaire:	20

MATERIEL ET METHODE

I. Lieu et durée de l'expérimentation:	22
II. Matériel:	22
1) Matériel biologique:	22
➤ Choix des animaux:	22
2) Matériel non biologique :	22
➤ La DL-méthionine.	22

➤ Le lycopène.....	23
III. Méthodologie:.....	23
1) Expérimentation animale:.....	23
a. Protocole expérimental:.....	23
b. Répartition des animaux en lots :.....	24
2) Les analyses biochimiques plasmatiques:.....	24
1) Prélèvements sanguins:.....	24
2) Méthodes analytiques:.....	24
1. Dosage de l'homocystéine.....	25
✓ La réduction :.....	25
✓ La conversion enzymatique :.....	25
2. Dosage des lipides plasmatiques:.....	26
a. Dosage du cholestérol total:.....	26
1- Principe:.....	26
2- Protocole:.....	26
b. Dosage des triglycérides:.....	27
1- Principe:.....	27
2- Protocole du dosage:.....	27
c. Dosage du HDL.....	28
1- Principe:.....	28
2- Protocole du dosage:.....	29
a. Précipitation:.....	29
b. Colorimétrie:.....	29
d. Dosage du LDL:.....	29
3. Dosage du CRPus:.....	30
1- Principe:.....	30
2- Protocole:.....	30
3) La technique histologique :.....	30
a. Fixation des organes:.....	30
b. Lavage et déshydratation et l'imprégnation:.....	31
c. L'inclusion et confection des blocs :.....	32
d. Confection des coupes et l'étalement :.....	34
e. Coloration des coupes:.....	35
f. Montage:.....	36
g. La lecture et le prise des photos:	36
4) Méthodes statistiques:.....	37

RESULTAS

I. Evolution des paramètres biochimiques plasmatiques.....	39
1. l'homocystéinémie.....	39
2. les lipides plasmatiques	40
A. cholestérol total	40
B. la triglycéridémie	41
C. le cholestérol HDL	43
D. le cholestérol LDL	44
3. La CRPus.....	45
II. STRUCTURE HISTOLOGIQUE DU FOIE:.....	46
1. Histologie du foie du rat témoin:.....	46
2. Histologie du foie des rats soumis à la méthionine (hyperhomocystéinémiques) pendant 3mois:.....	51
3. Histologie du foie des rats préventifs (Lot 5) ayant reçu de la méthionine et du lycopène	54
III. STRUCTURE HISTOLOGIQUE DU COEUR:.....	55
1. Histologie de la paroi cardiaque des Rats hyperhomocystéinémiques.....	55
DISCUSSION	64
CONCLUSION	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXE	

Abréviations

AAP:	Aminoantipyrine.
ADN :	Acide désoxyribonucléique.
BHMT :	Bétaïne-homocystéine méthyltransferase.
CBS:	Cystathionine-bêta-synthase.
CE:	Cholestérol-estérase.
CHOD:	Cholestérol oxydase.
CHU:	Centre hospitalier universitaire.
CMO :	Carotène 9,10-oxygénase enzymatique.
C.O.:	Cholestérol oxydase.
CRD :	Centre de recherche et de développement.
CRPus:	Protéine-C-réactive ultra sensible.
CRPLX:	C-Reactive Protein (Latex).
Cu² :	Ion cuivrique.
DTT :	Dithiotréitol.
EDTA :	Acide éthylènediamine-tétraacétique.
ERO :	Espèce réactive de l'oxygène.
ERN:	Espèce réactive d'azote.
Fe³:	Ion fer 3.
FPIA :	Immuno-assay par polarisation fluorescente.
Hcy :	Homocystéine.
HDL :	High density lipoprotein.
HHcy:	Hyperhomocystéinémie.

HMG - CoA :	Hydroxy-méthyl-glutaryl-CoA.
H₂O₂:	Peroxyde d'hydrogène.
IL-8:	Interleukine 8.
IL-10 :	Interleukine 10.
INRA :	Institut National de la Recherche Agronomique.
LDL :	Low density lipoprotein.
LOX-1 :	Lectin-like oxidized LDL receptor-1.
lyc-tomate :	Lycopéne-tomate.
MAT :	Methionine-adenosyl-transférase.
MEC :	Matrice extra cellulaire.
MMP :	Métalloprotéinase matricielle.
MTHFR :	Methylene tetrahydrofolate réductase.
MTR:	Méthionine synthase.
MTRR :	Méthionine synthase réductase.
NADPH :	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogene.
NO:	Monoxyde d'azote.
O₂- :	Superoxyde.
O₂ :	Oxygène singulet.
OH:	Radical hydroxyle.
ONOOH:	Nitroperoxydes.
POD:	Peroxydase.
ROS :	Espèce réactive de l'oxygène.
SAH :	<i>S</i> -adénosyl- homocystéine.
SAM :	<i>S</i> –adénosyl-méthionine.
SR-BI :	Receptor Class B Type I.

TCN: Transcobalamine.

THF : Tétrahydrofolate.

TNFa: Tumor necrosis factor.

Vitamine B₆: Pyridoxine.

Vit. B9 : Vitamine Acide Folique.

Vit. B12: Vitamine Cobalamine.

Vitamine E : Vitamine α -Tocopherol.

VLDL : Very low density lipoprotein.

Liste des figures

Figures	Titres	pages
1	Structure moléculaire du lycopène (Rao et <i>al.</i> , 2006).	3
2	Schéma représentatif du métabolisme du lycopène (Sudipta, 2008).	8
3	Schéma de la voie métabolique du lycopène (Jonathan et <i>al.</i> , 2012).	8
4	la balance radicaux libres-antioxydants (Pincemail et <i>al.</i> , 2000).	14
5	La structure chimique de l'homocystéine (Luciene de Souza et <i>al.</i> , 2010).	15
6	Métabolisme de l'homocystéine.	17
7	Pastilles de lycopène (lyc-o-mato, 10mg).	23
8	Photos de certain matériels utilisés dans l'expérimentales.	annexe
9	Conversion enzymatique de l'homocystéine libre.	25
10	Fixation du foie et cœur dans le formol et le Bouin.	31
11	Préparation des microcassettes.	31
12	Prolongement des pièces dans l'automate.	32
13	Couler la paraffine dans le moule.	33
14	Prendre la pièce a partir de la microcassette.	33
15	Introduction de la pièce dans le moule.	33
16	Confection des blocs.	33
17	Refroidissement des moules.	33
18	Microtomisation des blocs.	34
19	Formation du rubans.	34
20	Rubans dans le bain marie.	34
21	Coupes sur lame gélatinée.	34
22	Etallement des coupes.	35
23	Les lames étalés dans l'étuve.	35
24	Les différents bain de coloration.	36
25	Evolution de l'homocystéinémie ($\mu\text{mol/L}$) des rats des différents lots.	39
26	Evolution de la cholestérolémie (g/L) chez les rats des différents lots.	41
27	Evolution de la triglycéridémie (g/L) chez les rats des différents lots.	42
28	Evolution du HDL (g/L) chez les rats des différents lots.	43
29	Evolution du LDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.	44
30	Evolution du CRPus plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.	45

Liste des planches

Planches	Titres	Pages
1	Coupes histologiques du foie des rats Wistar témoins.	47
2	Coupes histologiques du foie des rats Wistar ayant reçu de l'huile d'olive pendant 3 mois.	49
3	Coupes histologiques du foie des rats ayant reçu du lycopène pendant 3 mois.	50
4	Coupes histologiques du foie des rats soumis à la méthionine (500mg/Kg) pendant 3 mois.	51
5	Coupes histologiques du foie des Rats soumis à la méthionine et au lycopène pendant 3 mois.	54
6	Coupes histologiques du cœur des rats Wistar témoins.	56
7	Coupes histologiques du cœur des rats Wistar ayant reçu de l'huile d'olive pendant 3 mois.	57
8	Coupes histologiques du cœur des rats ayant reçu du lycopène pendant 3 mois.	58
9	Coupes histologiques du cœur des rats soumis à la méthionine (500mg/Kg) pendant 3 mois.	59
10	Coupes histologiques du cœur des Rats préventifs .	61

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	La perte de lycopène lors de la cuisson de jus de tomate (Rao <i>et al.</i> , 2006).	3
2	Teneur des fruits et des légumes en lycopène (Krinsky <i>et al.</i> , 2005).	4
3	Teneur en lycopène de produits de la transformation des tomates (Krinsky <i>et al.</i> , 2005).	4
4	Apport, en lycopène, de la tomate et des produits à base de tomate (Agarwal <i>et Rao</i> , 2000).	5
5	Distribution du lycopène (Agarwal <i>et Rao</i> , 2000).	6
6	Comparaison de l'activité antioxydante des caroténoïdes (Di Mascio <i>et al.</i> , 1989; Conn <i>et al.</i> , 1991).	10
7	Classification des Hyperhomocystéinémie (Mouchabac, 2008).	18
8	La liste du matériel et des produits utilisés.	annexe
9	Evolution de l'homocystéinémie ($\mu\text{mol/L}$) des rats des différents lots.	39
10	Evolution de la cholestérolémie (g/L) chez les rats des différents lots.	40
11	Evolution de la triglycéridémie (g/L) chez les rats des différents lots.	41
12	Evolution du HDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.	43
13	Evolution du LDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.	44
14	Evolution du CRPus (mg/L) chez les rats des différents lots.	45

Résumé

L'hyperhomocystéinémie, reconnue comme facteur de risque cardio-vasculaire ainsi de stress oxydatif, est une pathologie le plus souvent liée à un déficit en vitamines et/ou à une mauvaise hygiène de vie. C'est pourquoi développer une démarche thérapeutique visant à normaliser ou réduire l'homocystéine est un enjeu de santé publique.

Pour ce faire, des rats Wistar males sont répartis en un Lot Témoin, lot soumis à 500 mg de méthionine /Kg de poids corporel/jour) et un lot recevant simultanément 5 mg de lycopène et 500 mg de méthionine /Kg de poids corporel/jour) pendant trois mois.

La pesée corporelle ainsi que le dosage de certains paramètres biochimiques telles que l'homocystéine, les lipides plasmatiques, la CRPus sont réalisés. Au terme de l'expérimentation, nous avons procédé à une analyse histologique du tissu hépatique et cardiaque avec une attention particulière à la matrice extracellulaire (MEC).

L'administration d'un régime standard supplémenté en méthionine a révélé au niveau plasmatique, une augmentation de l'homocystéinémie ($P < 0.01$) des lipides ($p < 0.01$) et une diminution des HDLc. Au niveau tissulaire, nous avons noté la présence de diverses altérations touchant aussi bien les cellules que la matrice extracellulaire.

Le traitement préventif par le lycopène a réduit significativement les valeurs des paramètres biochimiques plasmatiques analysés et rehaussé la fraction cardioprotectrice (HDLc) ainsi qu'une amélioration des altérations tissulaires.

Nos résultats montrent que par une approche nutritionnelle, il est possible de diminuer le taux de l'homocystéine plasmatique et de prévenir certaines maladies liées à l'Hyperhomocystéinémie.

Mots clés :

Hyperhomocystéinémie, stress oxydant, Lycopène, Rats.

Abstract

Hyperhomocysteinemia in blood is danger factor for cardiovascular risk and stress oxydatif, in most often caused by a deficiency in vitamins and lack of hygiene . for that public health organization decided to developing a therapeutic to normalize or reduce homocysteine.

for what we brought male mice and divided them to three groups :

- group one : witnes.
- group two : we give it every day 500 mg methionine / Kg body weight .
- group three : we give it 5 mg of lycopene + 500 mg methionine/kg body weight .

for three month .

at the end of the experiment , we analyzes petrochemical blood mice to some standars of:

HDL , LDL, CHOLESTEROL , Triglycéride , CRPus , homocysteine .

and histologic analysis of the liver and the heart with attention of the external cell.

we found in the seconde group increased homocysteine , fat , and lower the HDL .

but at the level of tissues we noticed the presence of different changes on all cells.

but in the third set and found a decrease in the petrochemical measurements except the HDL which improved the rate and also at the level of tissues.

these results show that the prevention of diseases related to the increase of homocysteine in the blood by lycopene.

Keywords:

Hyperhomocysteinemia, Oxidative stress, Lycopène, Rats.

الملخص

يعرف ارتفاع الاوموسيستيين في الدم بأنه عامل خطير لأمراض القلب و الأوعية الدموية و في غالب الأحيان يكون ناجم عن نقص في الفيتامينات و عدم النظافة، لذلك قرر مسؤولوا الصحة العامة بوضع علاج يقوم بتقليل من نسبة الاوموسيستيين في الدم.

للقيام بذلك قمنا بإحضار ذكور فئران (ويستر) و تقسيمهم على ثلاث مجموعات:

المجموعة الأولى: شاهدة.

المجموعة الثانية: قدمنا لها في كل يوم 500 مغ من الميثونين/كغ من وزن الجسم .

المجموعة الثالثة : قدمنا لها 5 مغ من الليكوبين + 500 مغ من الميثونين/كغ من وزن الجسم كل يوم.

لمدة 03 أشهر.

وفي نهاية التجربة قمنا بتحليل بيوكيميائية لدم الفئران لبعض المقاييس المتمثلة في :

HDL, LDL, Cholestérol, Triglycéride, CRPus, Homocysteine.

وتحليل نسيجية للكبد والقلب مع الاهتمام الخاص للمصفوفة الخارجية للخلية .

فوجدنا عند المجموعة الثانية زيادة أوموسيستيين ، الدهون و انخفاض ال HDL

أما على مستوى الأنسجة لاحظنا وجود تغيرات مختلفة على كل الخلايا .

لكن في المجموعة الثالثة وجدنا انخفاض في القياسات البيوكيميائية ما عدا ال HDL الذي حسنت نسبته وأيضا

على مستوى الأنسجة .

هذه النتائج تظهر أن الوقاية من الأمراض المتعلقة بارتفاع الاوموسيستيين في الدم تكون بواسطة الليكوبين .

INTRODUCTION

INTRODUCTION

De nombreuses études épidémiologiques ont démontré que l'hyperhomocystéinémie (HHcy), un taux élevé d'homocystéine dans le sang, constitue un facteur de risque indépendant d'athérosclérose et d'athéromatose (Boger *et al.*, 2009; Casas *et al.*, 2005; De Bree *et al.*, 2002; Zylberstein *et al.*, 2004). Elle est également observée chez des patients atteints des maladies hépatiques. Cependant, l'effet direct de l'homocystéine sur les lésions du foie n'est pas bien connu.

Une autre étude a montré que l'hyperhomocystéinémie pourrait induire la production excessive d'anion superoxyde qui peut rapidement interagir avec l'oxyde nitrique (NO) pour former le peroxynitrite fortement réactif, c'est un oxydant puissant qui peut endommager les tissus (James *et al.*, 2003; Estévez *et al.*, 2002). L'augmentation de production d'anion superoxyde peut contribuer à une atteinte hépatique (Kono *et al.*, 2000; Kono *et al.*, 2001).

Ainsi Le stress oxydatif est maintenant reconnu comme un important facteur étiologique dans l'étiologie de plusieurs maladies chroniques, dont le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'ostéoporose et le diabète (Rao *et al.*, 2006).

Mais Suwannalert *et al.* en 2007 ont montré que la supplémentation en antioxydants alimentaires (fruits et légumes) pourrait jouer un rôle bénéfique dans la prévention des maladies chroniques, et parmi ces antioxydants le lycopène qui appartient à la famille des caroténoïdes, composés mono insaturés renfermés dans l'huile d'olive ainsi les composés phénoliques sont vérifiés pour être des composés très efficace pour contrer l'oxygène singulet (Stahl *et al.*, 2006), qui interagit avec les espèces réactives de l'oxygène et atténuer leurs effets néfastes. Le lycopène est reconnu comme un composé phytochimique pour atténuer les complications du stress oxydatifs et des maladies cardiovasculaires (Waliszewski *et Blasco*, 2010).

Dans ce présent travail, une hyperhomocystéinémie est induite chez des Rats Wistar provenant de l'animalerie de SAIDAL, par administration d'une dose chronique de méthionine *per os* pendant 3 mois. Pour évaluer les effets bénéfiques du lycopène dans la prévention du stress oxydatif causées par hyperhomocystéinémie, nous avons supplémentation des rats avec du lycopène pendant 3 mois.

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

- La détermination de l'homocystéinémie.
- La détermination du profil lipidique (cholestérolémie, HDLc, LDLc et la triglycéridémie).
- Un marqueur d'inflammation: la CRP_{us}.
- Une analyse histologique de la paroi cardiaque et du tissu hépatique.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le lycopène:

1. Description:

Le lycopène est un antioxydant appartenant à la famille des caroténoïdes (**Barmley, 2000**), c'est un pigment rouge, naturel, comme celui de la tomate; de la pastèque; du pamplemousse rose et de la papaye. C'est un composé phytochimique synthétisé par les micro-organismes et certaines algues même les plantes mais pas par les animaux. Il est le caroténoïde et le micronutriment le plus important dans le plasma humain (**Rao et al., 2006**).

Le lycopène est un composé lipophile donc insoluble dans l'eau, et utilisable par les industries agroalimentaires comme un colorant. Il a une grande activité antioxydante par rapport aux autres caroténoïdes et qu'il n'est pas une activité provitamine, contrairement au B-carotène (**Thierry, 2000**).

2. Structure chimique:

Le lycopène est une substance acyclique contrairement à la majorité des substances caroténoïdes qui ont une forme cyclique, donc c'est un hydrocarbure aliphatique linéaire qui se compose d'une longue chaîne de double liaison conjuguée, il est hautement insaturé, contient 13 double liaisons carbone-carbone dont 11 doubles liaisons conjugués et les 2 autres non conjuguée.

Ces doubles liaisons conjuguées sont responsables de la couleur rouge vif de lycopène; sa structure de base formé de huit unités isopréniques (fig.1), un squelette carboné constitué de 5 carbones. (**Shi et Le Muguer, 2000**).

Ce composé, existe sous deux formes majoritaires, le *all-trans* et le *5-cis* lycopène. La forme *all-trans* se trouve en majorité dans les végétaux, la *5-cis* est la forme majoritaire et la plus abondante dans le plasma et dans certains tissus cible: le foie et la prostate (**Rao et al., 2006**).

A l'état naturel, le lycopène se trouve sous la forme "**all-trans**". Sept des doubles liaisons du lycopène peuvent subir une isomérisation de la forme "**all-trans**" vers la forme "**mono**" ou "**poly-cis**", cette isomérisation est due aux hautes températures, à la lumière mais aussi au processus de stockage. Selon **Zumbrunn et**

al. en 1985, affirment que les isomères **5cis**, **9cis** et **15cis** sont les plus fréquemment retrouvés dans les produits à base de tomate et dans le sérum humain.

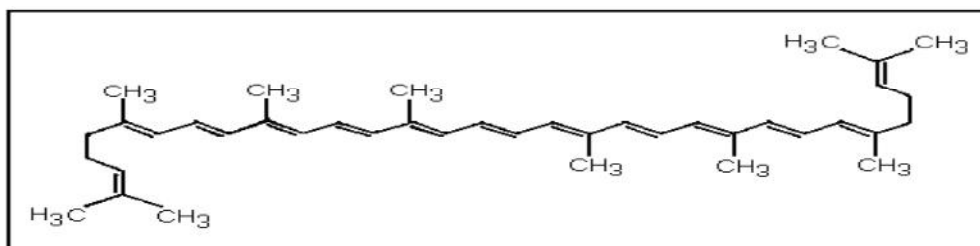


Figure1: Structure moléculaire du lycopène (Rao *et al.*, 2006)

3. Les propriétés physicochimiques:

Le lycopène, une des « stars » de la nutrition préventive selon **Nicolas Guggenbühl (2007)**. C'est le pigment rouge naturel, il est insoluble dans l'eau et l'alcool mais soluble dans les solvants organiques tel que le chloroforme, acétone, éther de pétrole et les lipides donc c'est un composé lipophile (Rao *et al.*, 2006; Shi *et Le Maguer*, 2000). Il a une formule de C₄₀H₅₆ et de poids moléculaire 536,85Da et son point de fusion est de 172-175°C.

Le lycopène est sensible à la lumière, à l'oxygène, aux températures élevées (**tableau 1**), aux acides et aux ions métalliques comme le **Cu²** et le **Fe³** qui catalysent son oxydation. Son absorbances dans l'hexane est à 472nm (Shi *et Le Maguer*, 2000).

Tableau 1: La perte de lycopène lors de la cuisson de jus de tomate

Température (c)	Perte de lycopène(%)		
	1 minute de cuisson	3 minutes de cuisson	7 minutes 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

(Shi *et Le Maguer*, 2000)

4. Sources du lycopène et sa biodisponibilité:

Notre corps ne synthétise pas le lycopène. Par contre, il est possible de s'en procurer par l'alimentation. Dans la nature les tomates représentent la source la plus importante de ce nutriment et la biodisponibilité du lycopène était plus faible dans les tomates crues que dans les produits transformés à base de tomates. La biodisponibilité du lycopène augmente lorsqu'il est consommé avec de petite quantité de matière grasse. Le lycopène est présent dans certains fruits et légumes (**Krinsky et al., 2005**) et les tableaux suivants synthétisent les principaux aliments contenant du lycopène.

Tableau 2 : Teneur des fruits et des légumes en lycopène

Fruits et légumes	Lycopène (µg/g de matière fraîche)
Tomate crue	8,7-42,0
Pastèque	23,0-72,0
papaye	20,0-53,0
abricot	<0,1
goyave	54,0
pamplemousse	33,6

(Krinsky et al., 2005)

Le tableau 3, représente les produits issus de la transformation de la tomate

Tableau 3: Teneur en lycopène de produits de la transformation des tomates

Aliments	Teneur en lycopène (mg/100g de matière fraîche)
Purée de tomate	16,7
Sauce tomate	15,9
Soupe de tomate	10,9
Jus de tomate	9,3
Tomate cuite	4,4

(Krinsky et al., 2005)

Plus de 80% du lycopène consommé provient de la tomate et des aliments contenant de la tomate (**Agarwal et Rao, 2000**).

Tableau 4: Apport, en lycopène, de la tomate et des produits à base de tomate

L'estimation de l'apport quotidien en lycopène de la tomate et des produits à base de tomates			
Produits	Portion	Apport en lycopène (mg/jour/sujet)	% de l'apport quotidien recommandé en lycopène
Tomates	200 g	12,70	50,5
Sauce à spaghetti	125 ml	2,44	9,7
Pâté de tomate	30 ml	2,29	9,1
Jus de tomate	250 ml	2,20	8,7
Sauce aux tomates	227ml	1,52	6
Purée de tomates	60 ml	1,02	4,1
Soupe aux tomates	227 ml	0,79	3,1
Sauce à pizza	60 ml	0,66	2,6
Ketchup aux tomates	15 ml	0,53	2,1
Cocktail de palourdes	250 ml	0,50	2
Mélange à Biody Mary	156 ml	0,15	0,6
Sauce barbecue	30 ml	0,06	0,2
Total:		25,16	

(Agarwal et Rao, 2000)

5. La biodisponibilité et absorption du lycopène:

La biodisponibilité est défini par la fraction d'un nutriment ingéré disponible dans le corps après son absorption dans le but d'être utilisé par les fonctions biologiques et le processus métabolique (Macrae et al., 1993; Jackson et al., 1997).

Plusieurs facteurs peuvent diminuer l'absorption et la biodisponibilité de lycopène tels que la concentration des aliments en lycopène; la nature de l'aliment; la richesse de l'aliment en fibres et en graisses; l'interaction entre le lycopène et les autres caroténoïdes (**Shi et Le Maguer, 2000**).

Le lycopène est liposoluble il s'assimile de la même façon que les corps gras c'est pour cela qu'il est mieux assimilé quand il est pris avec du gras par exemple dans notre étude expérimentale, nous avons utilisé l'huile d'olive comme vecteur, permettant de solubiliser efficacement le lycopène ainsi, il sera mieux disponible (**Gerster, 1997; Stahl et al.,1998**).

Le lycopène sous sa forme trans est faiblement assimilé cas des tomates crues par contre le lycopène sous sa forme cis est mieux absorbé, par exemple: les produits de transformation de la tomate induit l'isomérisation du lycopène de la configuration trans à la configuration cis et cette dernière augmente sa biodisponibilité sous l'effet de la chaleur (**Micozzi et al., 1992**) car ils sont plus solubles dans les sels biliaires et mieux incorporées dans les chylomicrons (**Shi et Le Maguer, 2000**).

6. Le transport et la distribution tissulaire du lycopène:

Le transport de lycopène se fait grâce aux chylomicrons de la muqueuse intestinale vers la circulation générale, puis il est capté par le foie puis sécrété dans les lipoprotéines.

Au niveau des organes, la fixation de lycopène a lieu sur ceux présentant des récepteurs LDL et le tableau. 5 résume sa distribution.

Tableau 5: Distribution du lycopène

Organe	Nmol/g de poids humide
Foie	1.28 à 5.72
Rein	0,15 à 0,62
Surrénal	1,9 à 21,6
Testicules	4,34 à 21,4
Adipeux	0,2 à 1,3
Poumon	0,22 à 0,57
Colon	0,31
Sein	0,78

Peau	0,42
Ovaire	0,25 à 0,28
Rate	NA
Prostate	0,8
Pancréas	0,7
Cœur	NA
Estomac	0,2
Cerveau	ND

NA : non disponible

ND : non détectable.

(Agarwal et Rao, 2000)

7. Le métabolisme du lycopène :

Après l'ingestion, le lycopène est mis en dissolution dans les gouttelettes lipidiques au niveau de l'estomac et du duodénum sous l'action combinée des lipases et des sels pancréatiques (Clinton, 1998), ensuite il est inclus dans d'autres composés lipidiques (des acides biliaires et des matières grasses alimentaires) formant des micelles mixtes (Parker et R.S., 1996; Van Villet, 1996), pour faciliter la solubilisation de la forme hydrophobe de lycopène et la pénétration dans les cellules de la muqueuse intestinale par un mécanisme de diffusion passive grâce à un gradient de concentration entre les micelles et la membrane apicale des entérocytes.

Selon Moussa et al., (2008) le récepteur SR-B1 (scavenger receptor B1) est impliqué aussi dans l'absorption du lycopène par les cellules intestinales humaines mais aussi chez les souris. Il est ensuite transporté par les chylomicrons puis il est libéré dans le système lymphatique pour être transporté vers le foie. Dans le plasma sanguin, le lycopène est transporté par les lipoprotéines VLDL pour être redistribué vers les organes utilisateurs et de stockages par exemples les testicules et le tissu adipeux qui accumulent une grande quantité de lycopène (Chung et al., 2009).

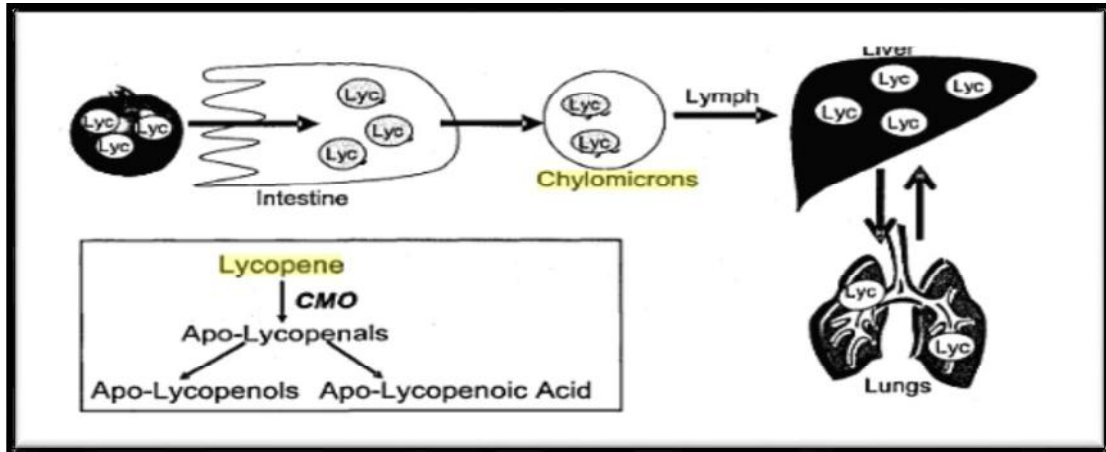


Figure 2 : Schéma représentatif du métabolisme du lycopène (Sudipta, 2008)

CMO : carotène 9,10-oxygénase enzymatique (OCM).

Le métabolisme est principalement catalysée par la carotène 9,10-oxygénase enzymatique (OCM) à partir des apo- lycopenols et apo-lycopenoic acides

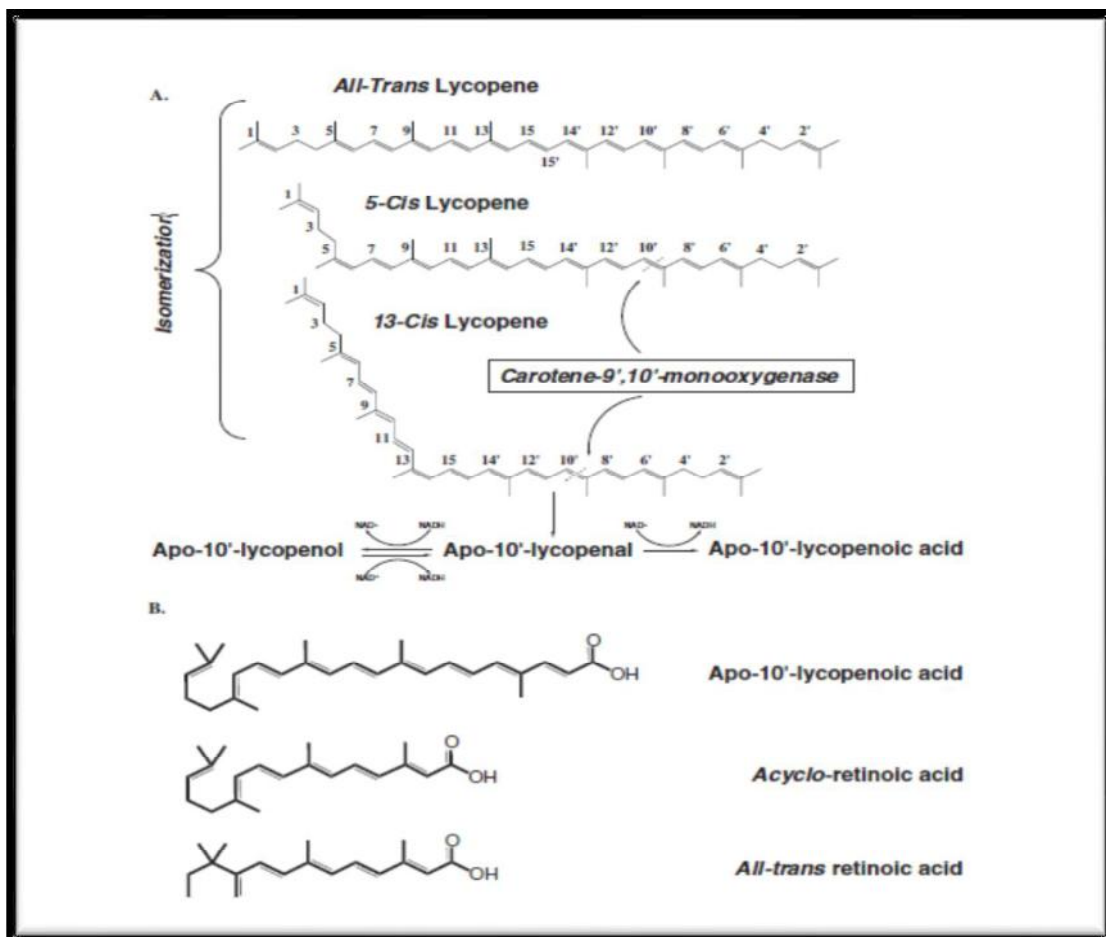


Figure 3: Schémas de la voie métabolique du lycopène (Jonathan et al., 2012)

(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 NADPH.

(B) Les structures chimiques de l'apo-10'-lycopenoic, l'acide acycloretinoic, et acide tout trans rétinolique.

8. Les bienfaits de lycopène:

A. Les maladies cardiovasculaires:

Le Lycopène est également impliqué dans la prévention des troubles cardiovasculaires. Comme d'autres antioxydants, il empêche les LDL (mauvais cholestérol) de s'oxyder. On sait que les LDL oxydés favorisent l'athérosclérose ou encrassement des artères et peut conduire à l'infarctus du myocarde et à l'accident vasculaire cérébral.

B. L'inflammation:

Le lycopène est stocké essentiellement dans le tissu adipeux. Compte tenu de ces effets anti-inflammatoires, les chercheurs ont donc émis l'hypothèse que le lycopène pourrait réduire la production de cytokines et de chimiokines par le tissu adipeux, ce qui pourrait limiter la survenue des pathologies associées à l'obésité. Pour tester cette hypothèse, des chercheurs de l'INRA de Marseille ont cultivé des explants (petits morceaux) de tissu adipeux de souris nourries avec un régime riche en graisse en présence de lycopène. Cette incubation a permis de montrer que le lycopène est capable de réduire la production de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires produites par le tissu adipeux. La réaction à la présence de lycopène des adipocytes et des préadipocytes, les deux populations cellulaires majoritaires du tissu adipeux, a été évaluée. Il ressort que les deux types cellulaires répondent à un traitement par le lycopène par une diminution de l'expression des cytokines et des chimiokines. Les mêmes résultats ont été reproduits avec des cellules de tissu adipeux humain en culture.

Pour la première fois, les chercheurs ont démontré l'effet anti-inflammatoire du lycopène sur le tissu adipeux et sur les adipocytes et préadipocytes, en particulier. Ces résultats permettent d'expliquer, du moins en partie, les effets bénéfiques pour la santé du lycopène, notamment pour limiter la prévalence des pathologies liées à l'obésité, telles que l'insulino-résistance qui constitue un facteur de risque des maladies cardio-vasculaires (Gouranton *et al.*, 2011).

9. Effet du lycopène sur la santé humaine :

La structure acyclique du lycopène, le nombre élevé de double liaisons, son extrême hydrophobicité, lui confèrent plusieurs propriétés biologiques bien distinctes incluant son activité anti radicalaire (antioxydant).

Le lycopène est le piègeur le plus efficace de l'oxygène singulet en comparaison avec les autres caroténoïdes (Di Mascio *et al.*, 1989; Conn *et al.*, 1991). Son efficacité est le double de celle du bêta-carotène (Tab.6) et dix fois supérieure à celle de la vitamine E.

Tableau 6: Comparaison de l'activité antioxydante des caroténoïdes

Caroténoïdes	Capture de l'oxygène singulet $\times 10^9$ ($m^{-1}s^{-1}$)
Lycopène	31
γ - carotène	25
α -carotène	19
β -carotène	14
Lutéine	8
Astaxanthine	24
Bixine	14
Canthaxanthine	21
Zeaxanthine	10

(Di Mascio *et al.*, 1989; Conn *et al.* 1991)

10. Mécanisme d'action de lycopène:

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

1) Mécanisme non oxydatif:

le lycopène intervient sur la jonction et la communication intercellulaire, on sait que les cellules communiquent entre elles grâce aux hormones, aux facteurs de croissances, et aux cytokines qui se lient à des récepteurs spécifiques, ce qui déclenche une cascade de transductions des signaux (**Goodenough et al., 1996**).

Il est considéré comme étant un agent hypocholestérolémiant par inhibition de l'enzyme HMGCoA réductase (**Fuhrman et al., 1997**).

2) Mécanisme oxydatif :

Le lycopène joue un rôle de protection important contre les dommages oxydatifs, d'où diminution des risques de cancers et des maladies cardiovasculaires. Cette protection est due aux piègeages des radicaux libres par le lycopène.

a) Les radicaux libres:

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (**Halliwell et al., 1999**). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (ERN). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**).

b) Les types des radicaux libres :

Il faut distinguer entre les types des radicaux qui existent dans notre organisme, il ya des radicaux primaires qui jouent des rôles particuliers dans la physiologie humaines et les radicaux secondaires qui dérivent des premières par réaction avec des composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électrons tels l'anion superoxyde O_2^- et

le radical hydroxyle OH ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO (**Yoshikawa et al., 2000**).

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène comme l'oxygène singulet O_2 . Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 interagissent rapidement avec les macromolécules avoisinantes et produisent des dommages sur plusieurs sites comme les lipides, les protéines et l'ADN. Les nitroperoxydes ONOOH ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (**Favier, 2003**).

c) Sources des espèces réactives de l'oxygène :

Les ERO peuvent être produites par des agents physiques comme les rayonnements, des réactions chimiques et surtout enzymatiques. En effet, toute réaction impliquant de l' O_2 et un système réducteur de transfert d'électrons est susceptible de libérer des ERO. C'est ainsi que la chaîne respiratoire provoque une libération importante d'ERO.

D'autres activités enzymatiques fournissent aussi des ERO, notamment les NADPH oxydases au cours de l'inflammation et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques.

La mitochondrie, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération des ERO (**Barouki et Morel, 2001**) donc grâce à la longue chaîne polyinsaturée, le lycopène est un bon capteur des espèces réactives, et son pouvoir réducteur (antioxydant) est très important malgré que ne porte pas de groupements réducteurs. Mais le déséquilibre entre les ERO et les antioxydants provoque le stress oxydatif.

II. Le stress oxydatif:

1. Origines et conséquences:

La notion de stress oxydant a été utilisée pour la première fois par Sies (**Xiao et al., 2000**). Il est défini comme une altération cellulaire et tissulaire par des molécules oxydantes. Il est la résultante d'un déséquilibre profond dans la balance entre les pro oxydants, producteurs d'espèces radicalaires, et les antioxydants, au profit des premiers.

Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale des phénomènes d'ischémie réperfusion (xanthine oxydase), d'une activation des systèmes enzymatiques (NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine, transferrine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamine).

L'origine de ce déséquilibre peut également être de nature exogène: une alimentation pauvre en antioxydants, une exposition aux rayons ultraviolets, à l'action de substances oxydantes (solvants, pesticides, anesthésiques, tabac) ou lors d'un accroissement brutal de l'apport en oxygène (**Premkumar et Koo, 2005**).

Les ERO très électrophiles tentent de ré-apparier leur électron célibataire en agressant toutes les molécules susceptibles de céder un électron ; leur durée de vie est donc très courte. L'espèce agressée devient à son tour radicalaire, initiant de cette façon un processus de réactions en chaîne (**Yogeswaran et al., 2009**).

L'acide désoxyribonucléique (ADN), les lipides membranaires polyinsaturés ou encore les protéines sont les cibles privilégiées de ces oxydations. Le déséquilibre pro oxydant entraîne la Formation de lipoprotéines de basse densité (LDL) oxydées et de multiples dysfonctionnements cellulaires: processus pro-inflammatoires, d'apoptose et/ou de nécrose (**Nassef et al., 2007**).

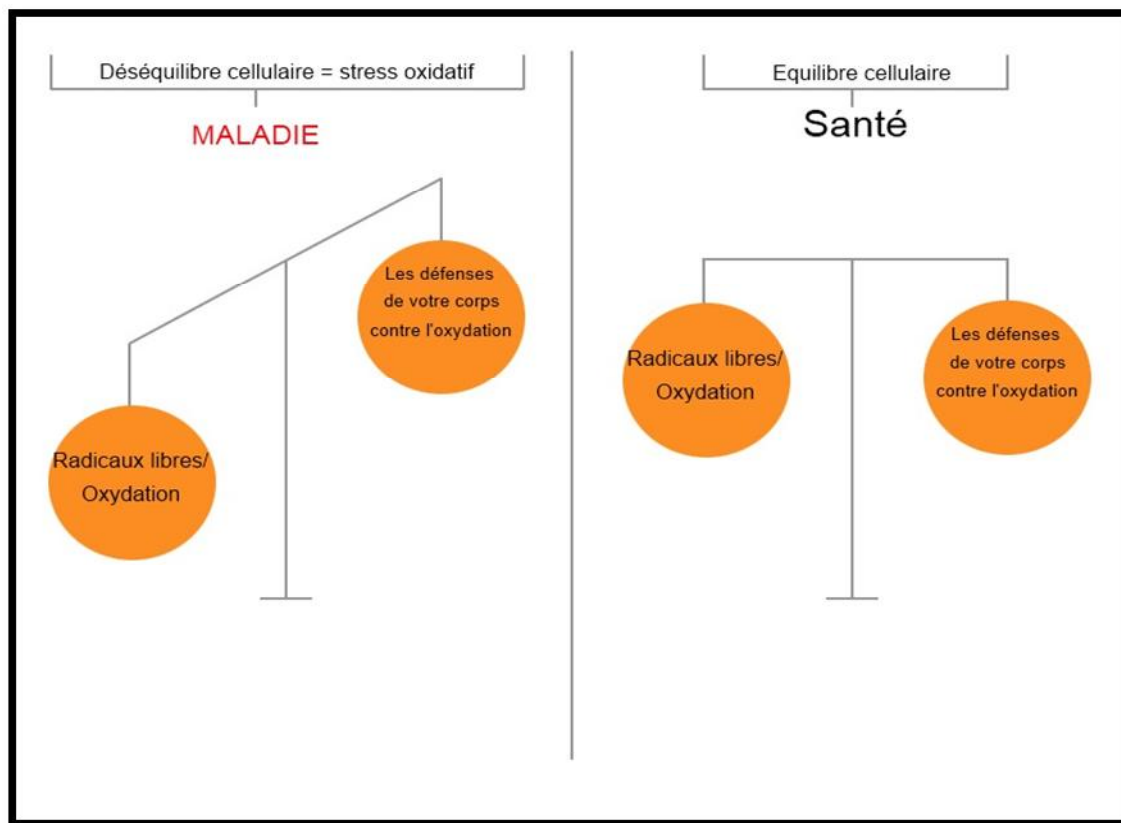


Figure 4: La balance radicale libres-antioxydants.

(Pincemail et *al.*, 2000)

III. HOMOCYSTEINE:

1. Définition:

L'Homocystéine est un acide aminé soufré (fonction thiol), formé exclusivement du catabolisme de la méthionine (acide aminé essentiel, retrouvée dans les aliments riches en protéines. Il joue un rôle particulier dans la biosynthèse des ces dernières), dont les vitamines B₆, B₁₂, B₉ interviennent comme des cofacteurs et des différents polymorphismes génétiques des enzymes impliquées aussi dans son métabolisme : la 5,10 méthylentétrahydrofolate réductase (MTHFR), la méthionine synthase (MTR), la méthionine synthase réductase (MTRR), la cystathionine-bêta-synthase (CBS) et la transcobalamine (TCN) (Stipanuk, 2004).

L'homocystéine (l'Hcy) existe sous deux formes dans l'organisme humain, plus exactement dans le plasma soit sous forme libre (moins de 2%) ou bien liée sous forme oxydée à l'albumine ou sous forme de disulfure.

Les taux plasmatiques normaux d'homocystéine (à jeun) se situent entre 5 et 15 $\mu\text{mol/L}$. L'Hcy est considérée comme modérée entre 15 et 30 $\mu\text{mol/L}$, intermédiaire entre 30 et 100 $\mu\text{mol/L}$ et sévère $> 100 \mu\text{mol/L}$ (Caussé, 2008).

Elle est synthétisée par toutes les cellules de l'organisme. Le catabolisme de l'Hcy se produit principalement dans le foie et dans les reins par deux voies: la voie de la reméthylation et la voie de la transsulfuration (Terruzi et al., 2007).

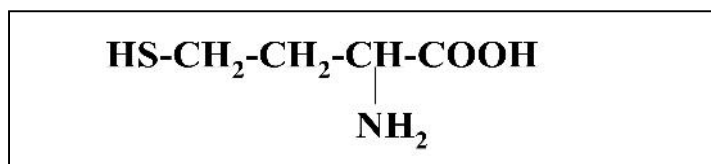


Figure 5: La structure chimique de l'homocystéine
(Luciene de Souza et al., 2010).

2. Métabolisme de L'homocystéine:

L'homocystéine est formé essentiellement par déméthylation de la méthionine et éliminée à travers l'une des deux voies vitamine-dépendantes, en plus d'une troisième non vitamine-dépendante, elle est hépatique.

a) La déméthylation de la méthionine:

La production d'Hcy résulte de la déméthylation de la méthionine par les étapes suivantes:

- La S-adénosyl-méthionine (SAM) « activée » est le principal donneur des groupes méthyles dans de nombreuses réactions biologiques (ADN, protéines, neurotransmetteur, hormone, phospholipides)
- La SAM est converti ensuite en S-adénosyl homocystéine (SAH) sous l'action de méthyltransférase .
- L'hcy est générée par le clivage de SAH grâce à l'enzyme SAH hydrolase.

b) La reméthylation:

Dans le cas de déficit en méthionine, l'homocystéine est reméthylée en méthionine par deux vois:

- Soit grâce à l'enzyme la méthionine synthase en présence d'un donneur de méthyle: le N-5-méthyltétrahydrofolate (5-méthyle-THF), et un cofacteur: la méthylcobalamine. Cette réaction a lieu dans tous les tissus.

La méthylène-tetrahydrofolate réductase (MTHFR) permet la formation du méthyl-tetrahydrofolate par la réduction du méthylène-tetrahydrofolate .

- Soit grâce à l'enzyme la bétaine-homocystéine-méthyl transférase(BHMT), à partir de la bétaine et ce dernier est convertie en diméthylglycine. Cette réaction a lieu dans le foie et le rein.

c) La transsulfuration de l'hcys :

Est privilégiée lorsqu'il y a un excès de méthionine ou lorsqu'il existe un besoin accru en cystéine, il passe par deux étapes:

- La cystathionine- β -synthase (CBS) permet la formation de la cystathionine à partir de la condensation de l'homocystéine et de la serine en présence d'un cofacteur : vitamine B₆ sous sa forme active : le pyridoxal 5' phosphate.
- La cystathionine gamma lyase (γ -cystathionine) permet l'hydrolyse de la cystathionine qui nécessite un cofacteur : la vitamine B₆ sous sa forme active le pyridoxal5' phosphate pour former l'alpha céto-butyrate et la cystéine. La figure suivante résume le métabolisme de l'homocystéine.

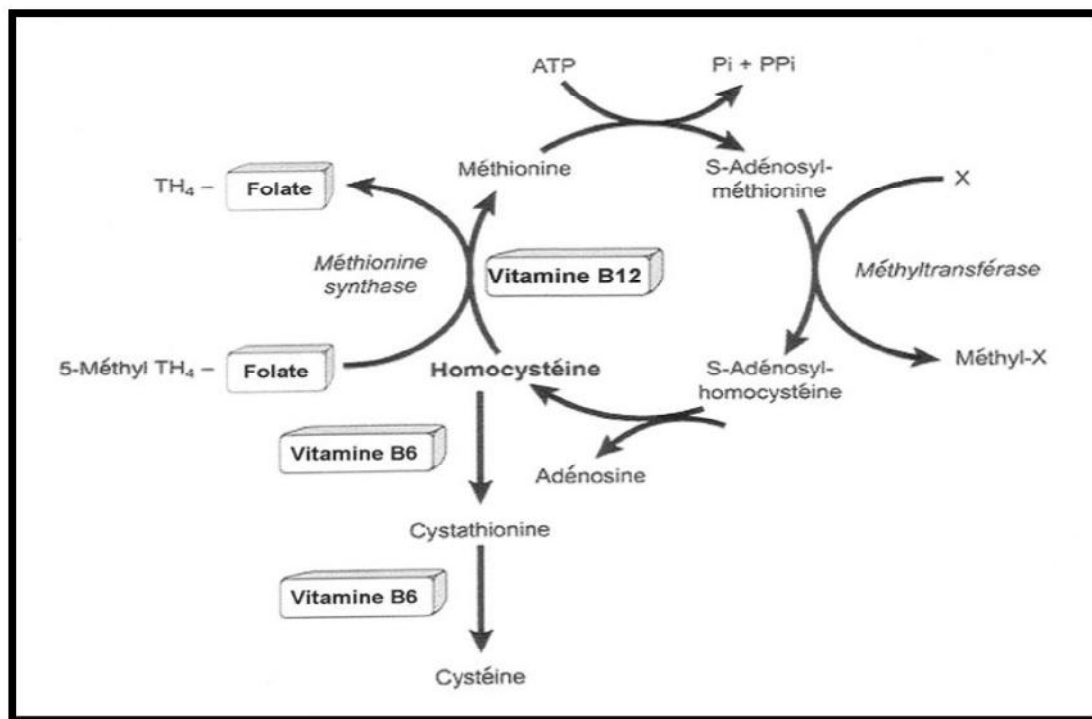


Figure 6: Métabolisme de l'homocystéine

3. Les formes circulantes de l'homocystéine plasmatique:

Il y a quatre formes organiques d'homocystéine plasmatique:

- l'homocystéine liée aux protéines plasmatiques par un pont disulfure.
- l'homocystéine liée à la cystéine (Homocystéine-Cystéine).
- l'homocystéine sous forme de dimère (Homocystéine-Homocystéine).
- l'homocystéine libre.

L'ensemble de ces formes représente l'homocystéine totale plasmatique. L'homocystéine liée aux protéines plasmatiques est majoritaire puisqu'elle représente 80% de l'homocystéine plasmatique totale (Piolot et al., 1996).

IV. Hyperhomocystéinémie:

Notre organisme synthétise environ 20 mmoles par jour d'homocystéine, mais très peu comparativement se retrouve dans le sang. Elle existe soit sous forme libre(30%), soit liées aux protéines (70%).

Les valeurs normales d'homocystéine totale varient en fonction de la technique de dosage employée, mais des valeurs entre 7 et 14 $\mu\text{mol/L}$ chez les sujets à jeun sont considérées comme normales, ces valeurs peuvent être varié selon le sexe (les valeurs normales chez l'homme sont supérieures à les valeurs normales chez les femmes) et l'âge (pour les femmes, les valeurs sont plus basses avant 50 ans mais après 50 ans les valeurs rejoignent celles des femmes).

Chez les enfants (3-14 ans) les concentrations normales sont plus basses et se situent autour de 6 $\mu\text{mol/l}$ (Ueland PM., 1993).

Tableau 7: Classification des Hyperhomocystéinémie:

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

(Mouchabac, 2008)

1) Principaux facteurs favorisant l'Hyperhomocystéinémie:

a) Les facteurs nutritionnels:

Comme nous l'avons vu, un apport important en méthionine peut majorer ce taux, en théorie cette augmentation devrait être rapidement régulée, grâce aux voies précédemment décrites.

Nous savons maintenant que les folates (vit. B9) et la vit. B12, sont aussi impliqués dans les mécanismes de synthèse de l'homocystéine: un déficit (bien souvent lié à un processus carenciel ou une malabsorption d'origine digestive) va donc avoir des répercussions sur le cycle de transformation de l'homocystéine, mais de manière moins importante qu'une carence prolongée en vit. B6 (qui de plus, conduit à une élévation majeure de l'homocystéinémie en cas d'apport orale important en méthionine).

b) Les facteurs génétiques (mutations):

- **Anomalies de la voie de transméthylation:**

Concernant la MTHFR, il existe des mutations non rares, autosomiques récessives, qui s'accompagnent d'une diminution d'au moins 50% de l'activité de cette voie.

- **Anomalies de la voie de transsulfuration:**

En cas de mutations sur le gène de la CBS (cystathionine- β -synthétase), on va observer des dysfonctions de cette voie: il existe une forme homozygote (plutôt rare : 1/200000 environ), qui est associée à une atteinte sévère, alors que la forme hétérozygote (environ 1%) pour laquelle l'augmentation de l'homocystéine est plus modérée et non systématique (environ 40% des cas).

c) Facteurs non spécifiques:

➤ **Conditions médicales:**

Insuffisance rénale, certains cancers (sein, ovaire, pancréas), hypothyroïdie, diabète.

➤ **Sexe:**

Probable influence hormonale puisque l'on observe un taux légèrement plus élevé chez l'homme, cette différence s'équilibrant à la ménopause.

➤ **Age:**

Augmentation avec l'âge, mais cette variation ne conduit pas nécessairement à des taux anormaux élevés.

➤ **Toxiques:**

Alcool, tabac, café.

➤ **Médicaments:**

Metformine, fibrate, oméprazole, ciclosporine, lévodopa, protoxyde d'azote.

V. Hyperhomocystéinémie et stress oxydatif:

L'oxydation de l'homocystéine donne des radicaux libres tel que H_2O_2 et peroxynitrite, ces derniers peuvent provoquer des lésions au sein de l'ADN et altérer le message génétique; ils peuvent même modifier la structure primaire, secondaire et tertiaire des protéines entraînant la dépolymérisation de protéines comme le collagène.

Les radicaux libres peuvent encore altérer la fluidité membranaire en agissant au niveau des acides gras polyinsaturés et des phospholipides membranaires et

participent aussi à la peroxydation lipidique des lipoprotéines athérogènes présentes dans l'intima artérielle (**Guilland et al., 2003**).

VI. Hyperhomocystéinémie et maladie cardiovasculaire:

l'Hcy provoque une altération du métabolisme des lipoprotéines induisant secondairement une atteinte de la paroi vasculaire. Les LDL modifiées ne sont plus reconnues par leurs récepteurs spécifiques Apo B/E et sont alors captées par les récepteurs scavenger des macrophages, lesquels se transforment en cellules spumeuses fixes.

Les données *in vitro* suggèrent que l'Hcy puisse interagir avec un taux élevé de cholestérol en augmentant l'oxydation des LDL. Ces dernières sont fixées sur des cellules sanguines mononuclées à l'aide des récepteurs LOX-1 (lectin-like oxidized LDL receptor-1). Chez les patients hyperhomocystéinémiques, l'expression du gène LOX-1 est augmentée dans ces cellules, ainsi que la libération de TNF α qui est élevée par la stimulation des LDL oxydées. Un traitement par l'acide folique a mené à la normalisation des taux d'Hcy accompagnée de la réduction d'expression du gène LOX-1 et de la libération de TNF α stimulée par les LDL-oxydées (**Holven et al., 2003**).

Chez l'homme *in vivo*, **Voutilainen et al. (1999)** ont mis en évidence une corrélation positive entre l'hyperhomocystéinémie et la peroxydation des lipides, et ceci par l'évaluation de la concentration plasmatique en isoprostanes F2.

MATERIEL
ET
METHODES

I. Lieu et durée de l'expérimentation:

Cette étude est composée de deux parties et elle a été réalisée dans trois endroits à savoir :

- Les paramètres biochimiques et des dosages sont réalisés au niveau de laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital universitaire, CHU d'Hussein Dey à Alger et au niveau du laboratoire d'analyses médicales de la polyclinique de Birkhadem. Cette étude biochimique à durée 2 mois environ.
- Pour ce qui est de la partie histologie qui a durée aussi 2 mois, elle a été réalisée au niveau du laboratoire de physiologie métabolique de l'hôpital universitaire du CHU de d'Hussein Dey à Alger, service de cytologie avec l'aide du professeur ABDALLALI.

II. Matériel:

1) Matériel biologique:

➤ **Choix des animaux:**

Notre étude a été réalisée sur des Rats males (espèce : *Ratus norvegicus*) de souche *Wistar* originaires de la firme IFFA-CREDO (France). Ces rats proviennent de l'animalerie de Saidal.

Nous avons choisi exclusivement des rats mâles pour exclure toutes variations métaboliques d'origine hormonale, et les facteurs dont dépend le dosage de l'homocystéine.

2) Matériel non biologique :

➤ La DL- méthionine:

Dans le cadre de notre travail, un état d'Hyperhomocystéinémie est induit expérimentalement par 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.

➤ Le lycopène:

Le lycopène, administré aux rats, est un antioxydant naturel extrait de la tomate. Il se présente sous forme de pastilles de 10 mg (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 de lycopène sont administrées dans 1ml d'huile d'olive et sont préparées quotidiennement, à l'abri de la lumière, pour éviter toute oxydation (**Lee et Chen, 2001**). Les pastilles de lycopène utilisées sont protégées par une enveloppe plastique opaque (**Fig. 7**).

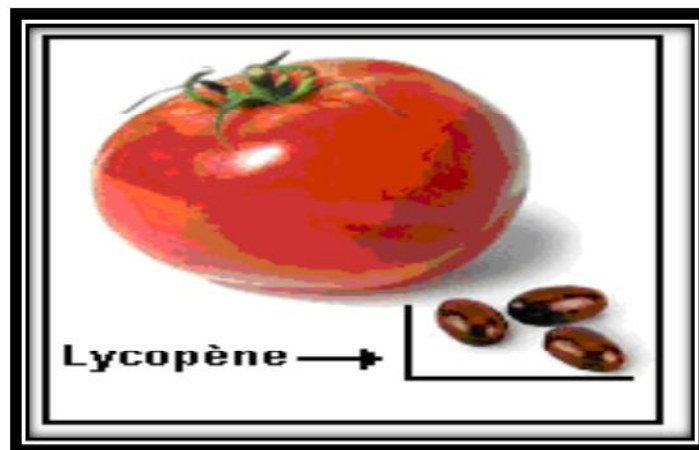


Figure 7: Pastilles de lycopène (lyc-o-mato, 10mg)

- Les produits et le matériel utilisés pendant l'expérimentation sont résumés dans le tableau 8 et la figure 8 (voir annexe).

III. Méthodologie :

1) Expérimentation animal:

a. Protocole expérimental:

Durant cette étude, nous avons reçu des prélèvements sanguins dans des tubes secs pour le dosage du profil lipidique et des tubes citratés pour le dosage de l'homocystéine. Nous avons aussi reçu des portions de tissus, fixés

au préalable dans du formol ou du Bouin aqueux (foie et cœur), pour une étude histologique. Ces Prélèvements sont issus à partir d'une expérimentation animale qui été réalisée sur 50 rats de sexe mâle, provenant de CRD Saidal. Après une période d'adaptation de 20 jours, ces derniers sont répartis en 05 lots selon les traitements administrés.

b. Répartition des animaux en lots :

- **Lot 1:** lot témoin, les rats ont reçu quotidiennement que de l'huile d'olive par voie orale (gavage).
- **Lot 2:** lot témoin, les rats ont reçue quotidiennement de l'eau physiologie.
- **Lot 3:** Lot Méthionine (500 mg/Kg de pc/j).
- **Lot 4:** Lot lycopène (5mg/kg de pc/j dans une solution d'huile d'olive).
- **Lot 5:** Lot lycopène + Méthionine (5mg/kg/pc/j de Lycopène + 500mg de méthionine dans des biberons).
- Notons que les prélèvements se font mensuellement (T0= réception des rats ; T1= 1 mois de traitement ; T2= 2mois de traitement et T3= 3mois de traitement) et que cette expérimentation a durée 3mois.

2) Les analyses biochimiques plasmatiques:

1) 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 aussitôt prélevé sur tubes (héparines, EDTA, citratés et secs) est centrifugé à 45000 tr/mn pendant 15 minutes à 4°C. Le plasma récupéré est conservé à -80°C pour le dosage des paramètres biochimiques plasmatiques (homocystéine, cholestérol total, triglycérides, HDLc et LDLc, et la CRP us).

2) Méthodes analytiques:

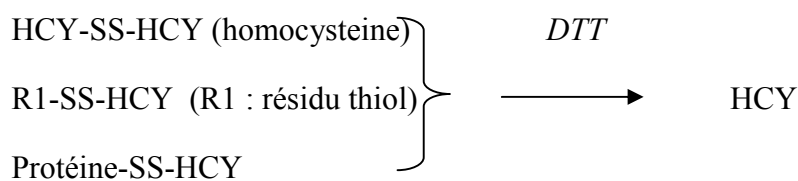
Sur les plasmas obtenus, nous avons déterminé l'homocystéine, la cholestérolémie, la triglycéride, HDL, LDL, la CRPus.

1. Dosage de l'homocystéine

L'homocystéine totale est dosée par la méthode de fluorescence polarisation immunoassay (FPIA), méthode quantitative automatisée sur analyseur AXSYM Abott dont 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 dithiothréitol (DTT).



✓ **La conversion enzymatique :**

L'homocystéine totale libre est convertie en S-adénosyl-L-homocystéine (SAH) par la S-adénosyl-L-homocystéine hydrolase (SAHase) en présence de d'adénosine (Fig. 3).

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.

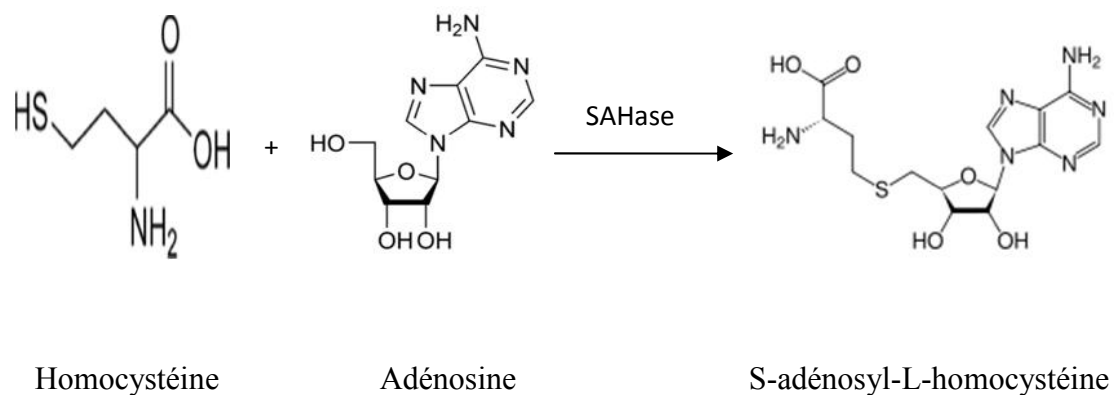


Figure 9 : Conversion enzymatique de l'homocystéine libre

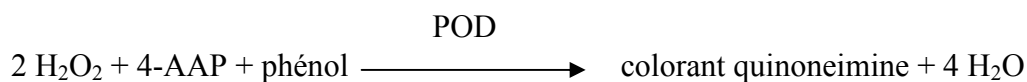
2. Dosage des lipides plasmatiques:

a. 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.

1- 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.

2- protocole:

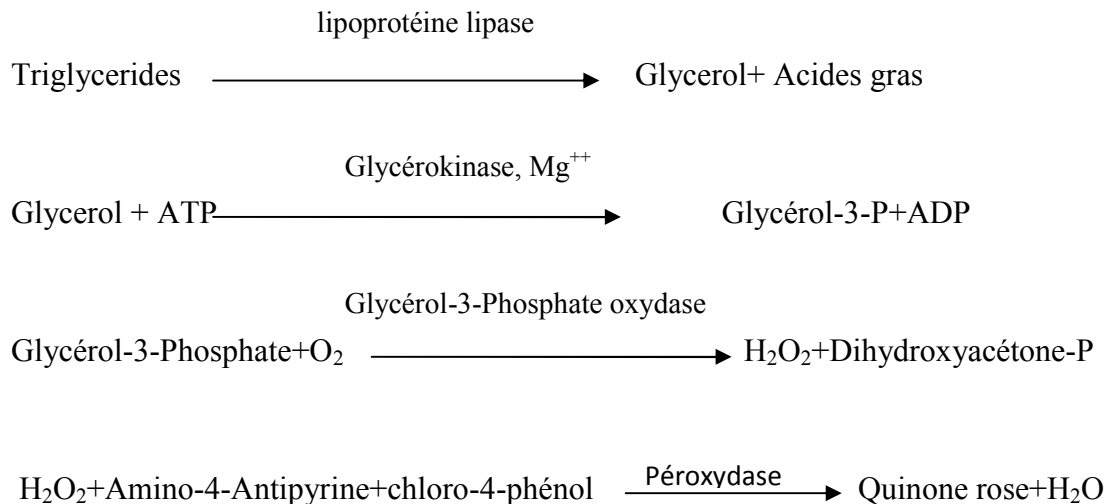
- ❖ Avant de procéder au dosage, les sérums doivent être placés dans de la glace pour décongélation.
- ❖ Puis on pipette 50 µl de sérum et 200 µl d'eau distillée, dans les tubes des échantillons codés et placés déjà dans un portoir.
- ❖ Par la suite, il faut bien agiter les tubes au moyen de l'agitateur.

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

b. 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:

1- Principe:



La quinone ainsi produite est révélée à 505 nm.

3- Protocole du dosage:

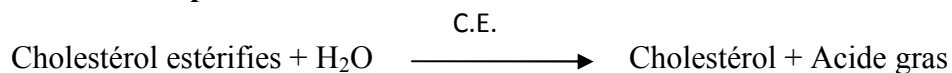
- ❖ Avant de procéder au dosage, les sérums doivent être placés dans de la glace.
- ❖ Puis on pipette 10 µl de sérums, dans les tubes des échantillons codés et placés déjà dans un portoir. Mettre dans chaque tube d'essai 1000 µl de réactif. Ajouter 10 µl de la solution d'étalon dans le tube placé à cet 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.

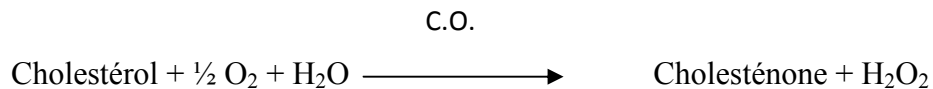
c. Dosage du HDL:

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.

1- Principe:



(C.E. : cholestérol estérase)



(C.O.: cholestérol oxydase)



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.

2- Protocole de dosage:

a. Précipitation:

- ❖ Pour le dosage du cholestérol-HDL, la première étape consiste à pipeter dans des tubes à centrifuger 100µl 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 surnagent.

b. Colorimétrie:

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

d. Dosage du LDL:

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)**.

$$\text{Cholesterol LDL} = \text{Cholesterol total} - \text{Cholesterol HDL} - \frac{\text{Triglycérides}}{5}$$

3. Dosage de la protéine C réactive ultra sensible (CRP_{us}) :

La CRP ultrasensible est déterminé automatiquement par la cassette COBAS INTEGRA 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.

1- 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.

2- 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) La technique histologique :

L'étude histopathologique a été réalisée au niveau du laboratoire de Service Cytologie du CHU Parnet d'Hussein Dey à Alger sous la direction du professeur ABDALALLI. Le protocole utilisé pour cette étude passe par plusieurs étapes successives:

a. Fixation des organes:

Les deux organes prélevés à savoir le foie et le cœur de chaque rat sont lavés à l'eau physiologique et coupées en petites portion, puis plongés directement dans des piluliers, remplis de formol et/ou de Bouin. Cette étape permet la conservation des constituants tissulaires et cellulaires de l'organe (**fig.10**).



Figure 10: Fixation du foie et cœur dans le formol et le Bouin.

Après la fixation, nous avons réalisé des coupes transversales et longitudinales des biopsies puis nous les avons mis dans des microcassettes qui sont numérotés par rapport aux rats (**Fig.11**).

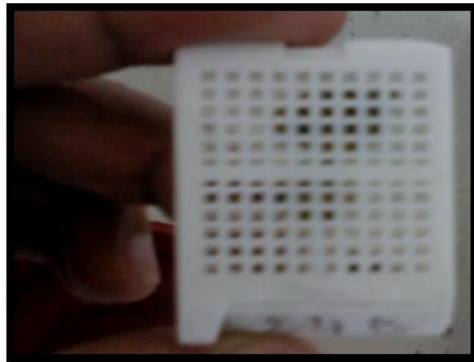


Figure 11: Préparation des microcassettes.

b. Lavage et déshydratation et l'imprégnation:

Les microcassettes préparées sont rincées dans l'eau courante pendant deux heures. Ensuite, elles sont placées dans l'automate (circulation) (**fig.12**), pour la déshydratation. Celle-ci se fait successivement dans des bains d'alcool de concentrations croissantes et d'une durée d'une heure et 30 minutes dans chaque bain:

La déshydratation:

- 2bain d'alcool 70%
- 2bain d'alcool 90%
- 2bain d'alcool 100 %
- 4 bain de xylène pour éliminer l'alcool d'une durée de 30 minute pour chaque bain.

Imprégnation a la paraffine:

Les cassettes sont imprégnées dans deux bains de paraffine deux heures pour le premier bain et la nuit pour le deuxième bain.



Figure 12: Prolongement des pièces dans l'automate.

c. L'inclusion et confection des blocs :

L'inclusion des pièces est procédée en versant la paraffine dans les moules, (**fig. 13**). L'organe est introduit puis orientée convenablement dans le moule (**fig. 15**). Ensuite la microcassette de la pièce est installée dans le moule en versant la paraffine

sur dessus (**fig. 16**) et on la laisse refroidir 15 à 20 minutes sur la plaque (**fig. 17**) et se solidifier pour obtenir un bloc de forme d'un rectangle selon le moule utilisé.



Figure13: Couler la paraffine dans le moule.

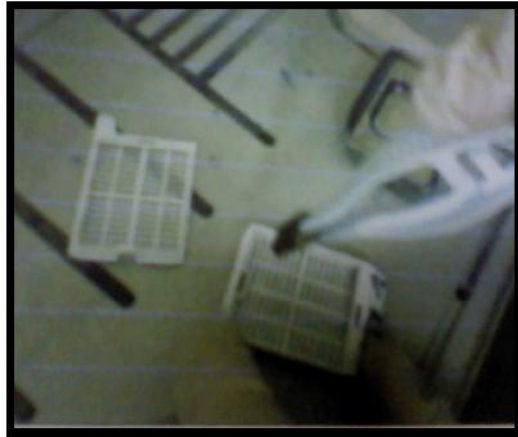


Figure 14: Prendre la pièce a partir de la microcassette.



Figure 15: Introduction de la pièce dans le moule.



Figure 16: Confection des blocs.

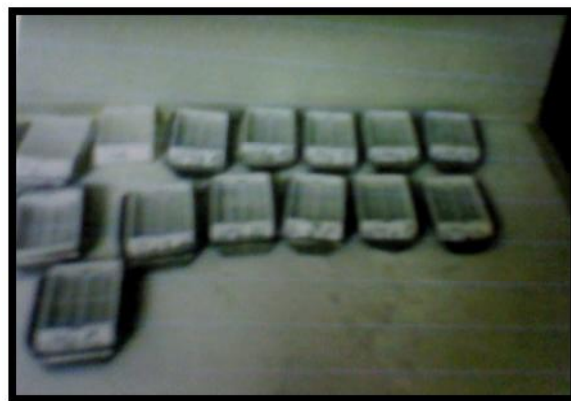


Figure 17: Refroidissement des moules.

d. Confection des coupes et l'étalement :

Après la confection des blocs, on réalise des coupes de 5 μ m d'épaisseur à l'aide d'un microtome (**fig. 18**). Les rubans obtenus sont plongés dans un bain marie de 42° (**fig. 20**). Puis une goutte d'eau gélatinée est déposée sur des lames propres. Chaque fois une lame est introduite dans le bain marie afin de récupérer quelques coupes (**fig. 21**) pour les étaler sur une platine chauffante à 37 ° c (**fig. 22**). les lames étalées sont placées dans l'étuve pendant 48heurs (**fig. 23**).



Figure 18: Microtomisation des blocs.



Figure 19: Formation du rubans (coupes sériés).



Figure 20: Rubans dans le bain marie.

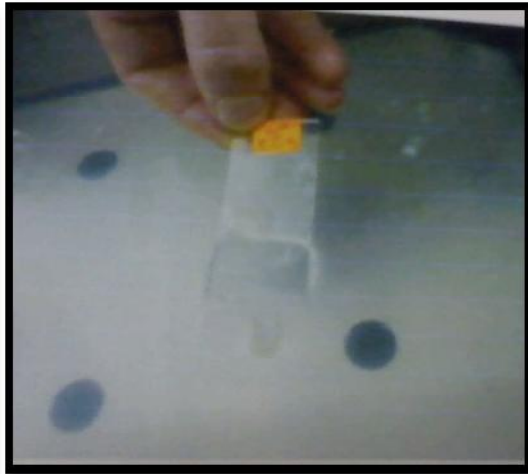


Figure 21: Coupes sur lame gélatinée.



Figure 22: Etalement des coupes.



Figure 23: Les lames étalés dans l'étuve.

e. Coloration des coupes:

Le but de la coloration est d'établir le contraste naturel des coupes et de rendre les différents constituants cellulaires bien claires.

Nous avons procédé à la coloration de trichrome de Masson, cette coloration met en évidence les fibres de collagènes dont leur dépôts causes une des altérations majeure de la matrice extracellulaire, causant ainsi l'installation d'un état d'Hyperhomocystéinémie, elle consiste à colorer :

- noyaux, chromatine et nucléole: en bleu foncé à noir (Hématoxyline de Groat).
- cytoplasme: en rouge (Fuschine-ponceau et orangé G).
- collagène: en bleu (Bleu d'aniline) ou en vert (vert lumière).

Cette coloration passe par les étapes suivantes (**fig. 24**):

➤ A- déparaffinage :

par un bain de xylène pendant 30 minute

➤ B- réhydratation:

- par 3 bains d'alcool:

- alcool 100% pendant 3 minutes.
- alcool 90% pendant 3 minutes.
- alcool 70% pendant 3 minutes.

-rinçage à l'eau distillée pendant 01 minute.

➤ C-COLORATION:

- Hématoxyline pendant 2minutes.
- rinçage à l'eau courante pendant 5minutes.
- Fuch sine Ponceau pendant 30 secondes.
- rinçage pour quelque secondes pour éliminer l'excès .
- acide phosphomolipdique à 10 % pendant 15 minute.
- bleu d'aniline pendant 30 à 40 minutes.
- rinçage à l'eau acétifiée (eau distillée +acide acétique 1%).
- déshydratation par l'alcool 100% pendant 5 secondes.



Figure 24: Les différents bain de coloration

f. Montage:

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

g. La lecture et le prise des photos:

La lecture se fait en utilisant le microscope photonique, aux différents grossissement et la prise des photos s'effectue à l'aide d'un appareil photo numérique spécial pour la microscopie photonique.

4) Méthodes statistiques:

Les résultats biochimiques (Homocystéine, cholestérol, triglycérides, HDL, LDL, 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).

RESULTATS

I. EVOLUTION DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES PLASMATIQUES

1. L'homocystéinémie:

L'homocystéinémie exprimée en $\mu\text{mol/L}$ a été évaluée chaque mois (Tab.9; Fig. 25).

Tableau9: Evolution de l'homocystéinémie ($\mu\text{mol/L}$) des rats des différents lots.

Temps(mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	5,28±0,56	5,70±0,42	5,87±0,36	6,13±0,66
LOT2	5,28±0,56	5,63±0,89	5,74±0,41	5,85±1,30
LOT3	5,28±0,56	8,55±0,9 ***	10,47±0,83	15,66±1,08
LOT4	5,28±0,56	6,63±0,59	6,9±0,45	5,92±0,29
LOT5	5,28±0,56	8,41±0,7 ***	9,72±3,23 *	5,70±0,60

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

Lot 3, 4 et 5 vs Témoin *** P< 0.001 ; * p<0,05

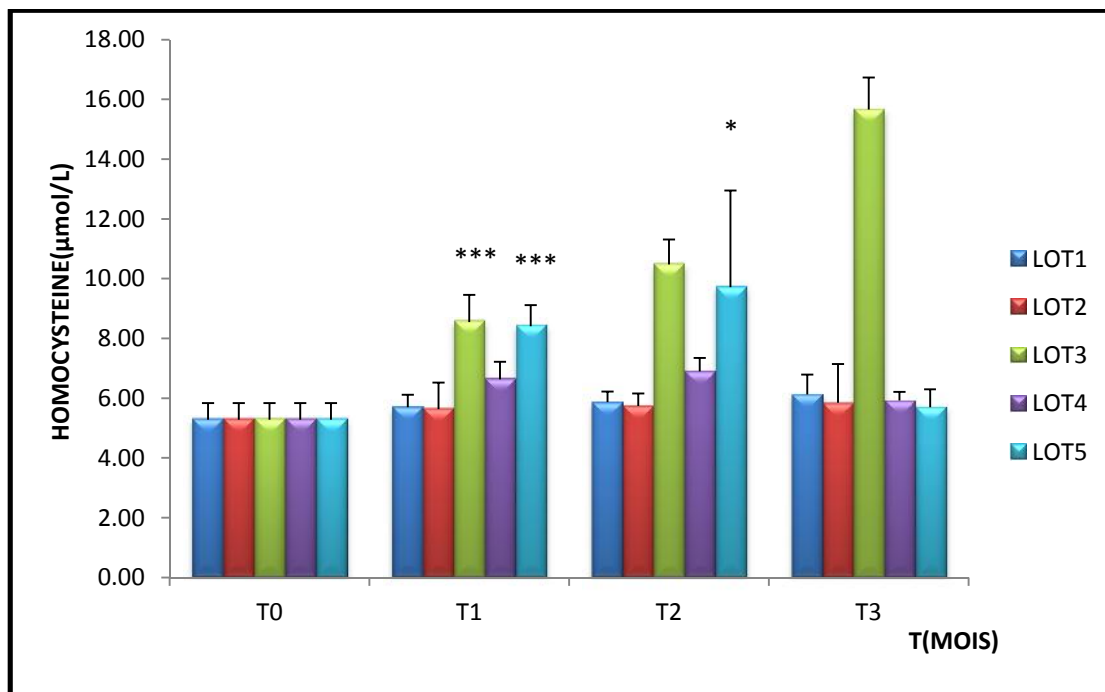


Figure25: Evolution de l'homocystéinémie ($\mu\text{mol/L}$) des rats des différents lots.

Les valeurs obtenues montrent que l'administration de méthionine engendre une augmentation de l'homocystéinémie, résultat attendu par notre expérimentation.

Au temps T1, nous avons observé une augmentation très significative ($P < 0,001$) chez les rats du lot 3 et 5 vs Te.

Au temps T2, nous avons observé une augmentation peu significative ($p < 0,05$) pour les rats des lots 3 et 5 vs Te.

En fin d'expérimentation, à savoir 3 mois, la plus importante augmentation est notée chez les animaux du lot 3 avec un gain de 196%. Nous notons par contre une diminution non significative de 7% ($p > 0,05$ vs lot 3) chez les animaux du lot 5, mettant en évidence l'effet du lycopène sur l'hyperhomocystéinémie.

2. Les lipides plasmatiques:

A. Le cholestérol total:

Les résultats du dosage du cholestérol total exprimée en (g/L) sont rapportés dans le **tableau 10 et la figure 26**.

Tableau 10: Evolution de la cholestérolémie (g/L) chez les rats des différents lots.

Temps(mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,57±0,28	0,75±0,11	0,59±0,06	0,52±0,26
LOT2	0,57±0,28	0,68±0,18	0,63±0,08	0,60±0,19
LOT3	0,57±0,28	0,58±0,06	0,64±0,11	0,95±0,07 **&
LOT4	0,57±0,28	0,54±0,06	0,33±0,05	0,29±0,05
LOT5	0,57±0,28	0,68±0,09	0,54±0,06 *	0,5±0,03

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

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

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

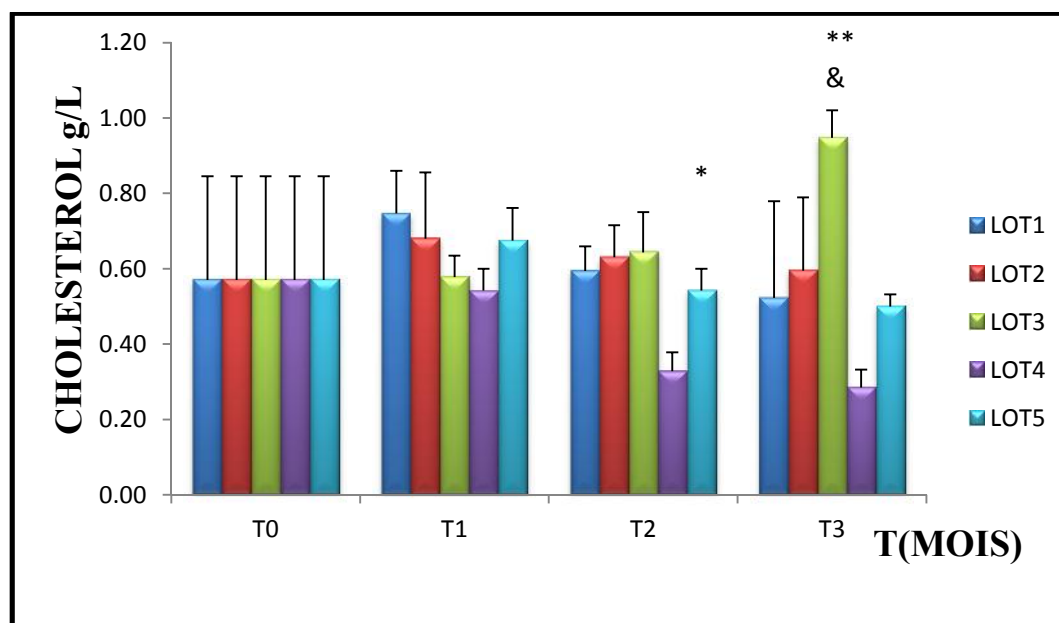


Figure 26: Evolution de la cholestérolémie (g/L) chez les rats des différents lots.

Les valeurs obtenues montrent que la cholestérolémie augmente à T3 chez les rats hyperhomocystéinémiques du lot 3 atteignant environ un gain de 66% ($P < 0.01$ vs T3 de Te).

Par contre chez les rats du lot 5, qui ont reçu du lycopène et de la méthionine simultanément, l'augmentation enregistrée à T1 devient plus faible à T2 et T3 (diminution peu significative $P < 0,05$) avec un pourcentage de -12%.

B. La Triglycéridémie

Le dosage des triglycérides sanguins exprimée en (g/L) a permis d'obtenir les résultats rapportés dans le **tableau 11** et illustrés par la **figure 27**.

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

Temps(mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,66±0,03	0,72±0,13	1,17±0,58	1,08±0,20
LOT2	0,66±0,03	0,64±0,08	0,67±0,10	0,67±0,11
LOT3	0,66±0,03	0,74±0,04 &&	0,93±0,05 **	1,53±0,04
LOT4	0,66±0,03	0,6±0,05	0,55±0,04	0,53±0,03
LOT5	0,66±0,03	0,95±0,04 **	0,74±0,10 &&	0,68±0,10

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type

Lot 3, 4 et 5 vs Te ** P< 0,01.

lot 3 (T1, T2, T3) vs Lot 5 (T1, T2, T3) && P< 0,01.

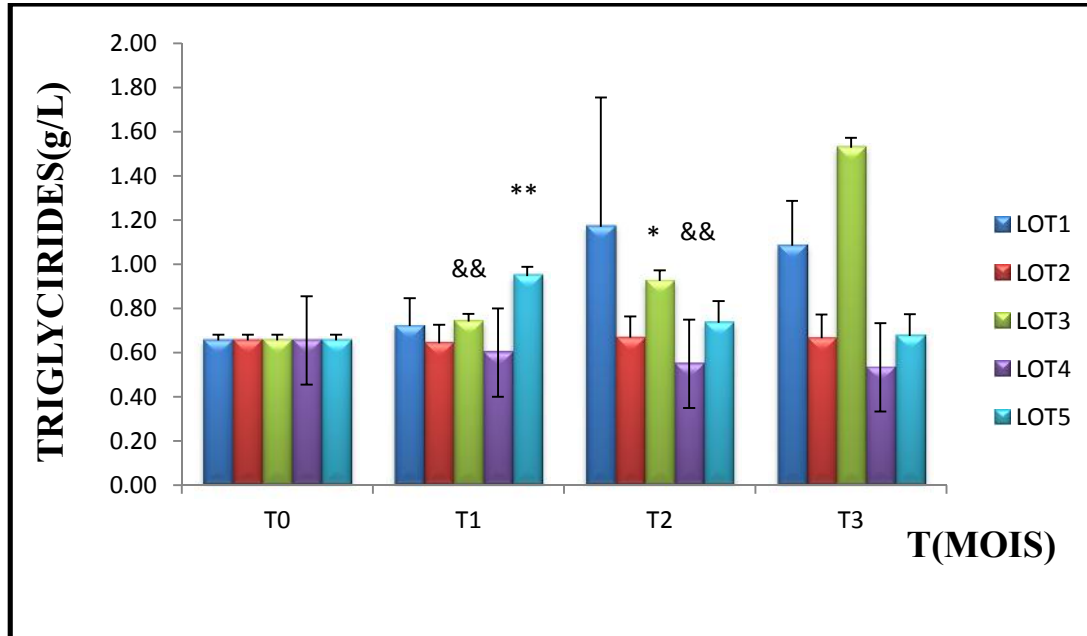


Figure 27: Evolution de la triglycémie (g/L) chez les rats des différents lots.

Les résultats montrent qu'après 1 mois d'administration de méthionine, la triglycémie est augmentée pour le lot 3 ($p > 0.05$) et pour le lot 5 ($p < 0.01$) comparativement au témoin.

Et après 2 mois d'administration de méthionine, la triglycémie est augmentée pour le lot 3 ($p < 0.01$) et pour le lot 5 ($p > 0.05$) comparativement au témoin.

En fin d'expérimentation, cette augmentation atteint environ 133% (lot 3). Au contraire chez les rats du lot 5 nous avons enregistré une augmentation non significative, le taux de triglycides se stabilise et se rapproche du taux initial.

C. Le cholestérol HDL :

Le dosage du cholestérol HDL sanguins exprimée en (g/L) a permis d’obtenir les résultats rapportés dans le **tableau 12** et illustrés par la **figure 28** .

Tableau 12: Evolution du HDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.

Temps(mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,15±0,04	0,15±0,01	0,16±0,02	0,17±0,02
LOT2	0,15±0,04	0,13±0,02	0,12±0,02	0,14±0,02
LOT3	0,15±0,04	0,11±0,01	0,10±0,02	0,07±0,02 ***
LOT4	0,15±0,04	0,17±0,02	0,23±0,03	0,26±0,02
LOT5	0,15±0,04	0,13±0,01 &	0,14±0,01 &&&	0,16±0,01*

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type

Lot 3, 4 et 5 vs Te *** P< 0,001.* P < 0,05.

Lot 3 (T1, T2, T3) vs Lot 5 (T1, T2, T3) ; &&& P<0,001, &P < 0,05.

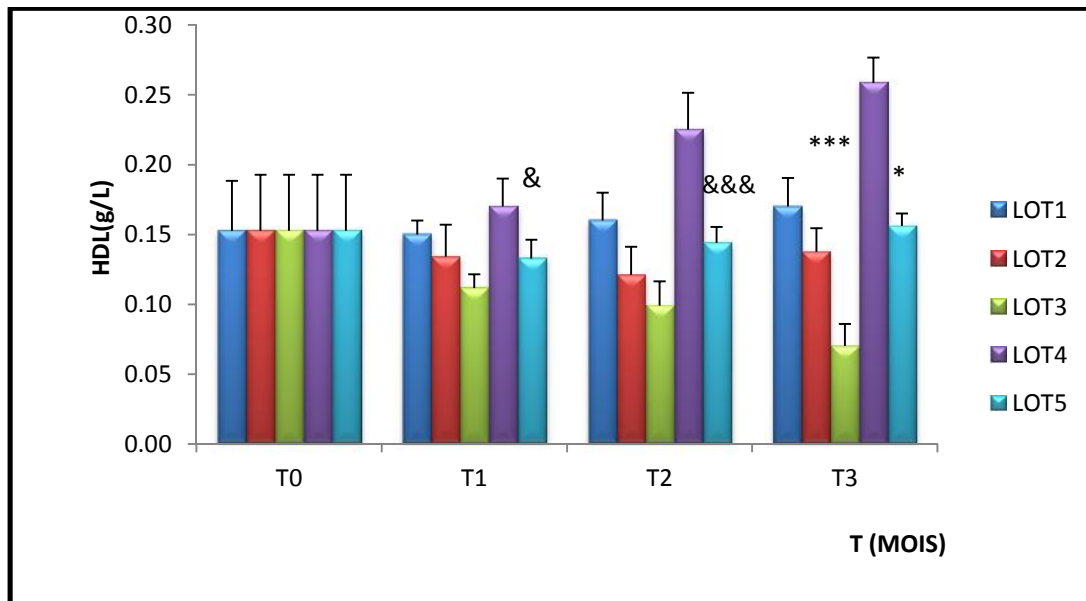


Figure 28: Evolution du HDL (g/L) chez les rats des différents lots.

Le tableau 12 et la figure 28 mettent en évidence une diminution de 54% de la fraction cardioprotectrice (HDL) chez les rats de lot 3 et une faible augmentation de 2% chez les rats de lot 5 en fin d'expérimentation par rapport au témoin.

D. Le cholestérol LDL

Le dosage du cholestérol LDL sanguins a permis d'obtenir les résultats rapportés dans le **tableau 13** et illustrés par la **figure 29**.

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

Temps(mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,21±0,02	0,26±0,03	0,24±0,02	0,22±0,01
LOT2	0,21±0,02	0,23±0,03	0,22±0,02	0,21±0,01
LOT3	0,21±0,02	0,28±0,02 *	0,32±0,04 &	0,35±0,05 ***
LOT4	0,21±0,02	0,24±0,02	0,21±0,03	0,19±0,04
LOT5	0,21±0,02	0,27±0,04	0,23±0,04	0,20±0,03 &&&

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type

Lot 3, 4 et 5 vs Te * P< 0,05; *** P < 0,001.

Lot 3 (T1, T2, T3) vs Lot 5 (T1, T2, T3) ; & P<0,05, &&& P<0,001

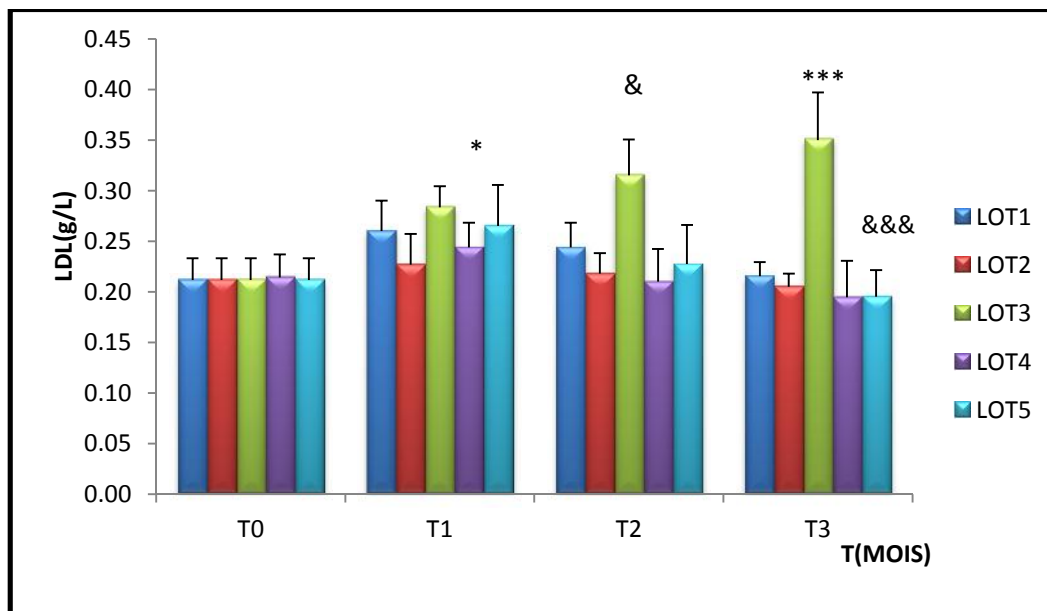


Figure 29: Evolution du LDL-c plasmatique (g/L) chez les rats des différents lots.

En fin d'expérimentation, la fraction athérogène (LDL) a subi une augmentation de 65 % chez le lot 3 par contre un retour à la valeur initiale (T0) est enregistré pour le lot 5 (Met –Lyc).

3. La CRPus:

Le dosage du CRPus sanguins a permis d'obtenir les résultats rapportés dans le **tableau 14** et illustrés par **la figure 30**.

Tableau 14: Evolution du CRPus (mg/L) chez les rats des différents lots.

Temps(mois)	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,65±0,09	0,68±0,12	0,73±0,14	0,73±0,12
LOT2	0,65±0,09	0,66±0,08	0,72±0,12	0,65±0,12
LOT3	0,65±0,09	1,17±0,19 *** &	1,55±0,32 ***	1,88±0,09
LOT4	0,65±0,09	0,68±0,10	0,71±0,06	0,63±0,08
LOT5	0,65±0,09	0,97±0,08 ***	0,94±0,09 ** &&	0,68±0,14

Les valeurs représentent la moyenne affectée de son écart-type

Lot 3, 4 et 5 vs Te ** P< 0,01; *** P < 0,001.

Lot 3 (T1, T2, T3) vs Lot 5 (T1, T2, T3) ; & P<0,05, && P<0,01.

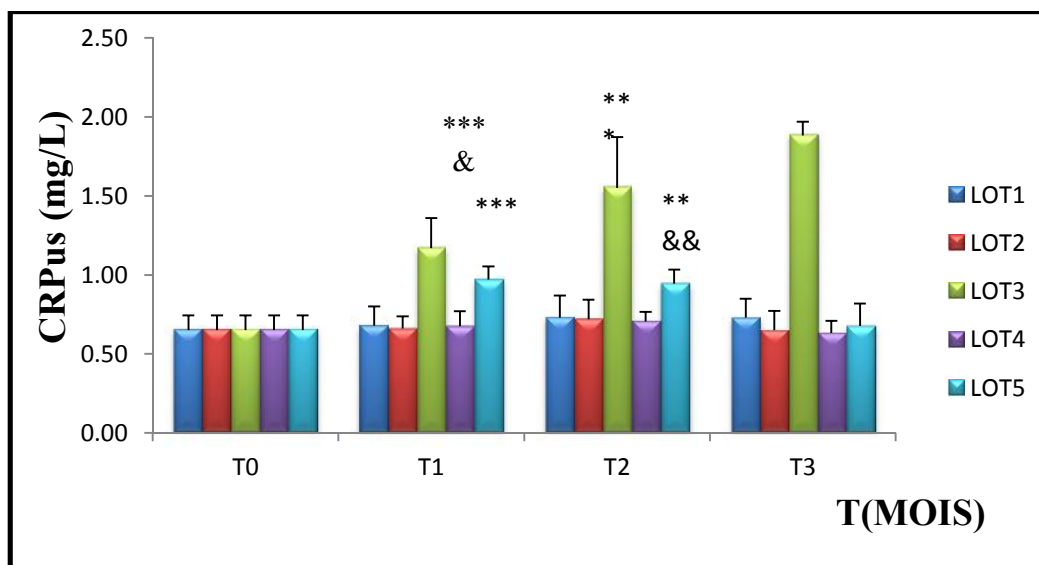


Figure 30: Evolution du CRPus plasmatique (mg/L) chez les rats des différents lots.

Au temps T1, nous avons observé une augmentation très significative ($P < 0,001$) chez les rats du lot 3 et 5 vs Te.

Au temps T2, nous avons observé une augmentation significative ($p < 0,01$) pour les rats du lots 5 vs Te et une augmentation très significative ($P < 0,001$) chez les rats du lot 3 vs Te.

En fin d'expérimentation, à savoir 3 mois, la plus importante augmentation est notée chez les animaux du lot 3 avec un gain de 189%. Nous notons par contre une diminution non significative de 4% ($p > 0,05$ vs lot 3) chez les animaux du lot 5, mettant en évidence l'effet du lycopène sur l'hyperhomocystéinémie.

II. LA STRUCTURE HISTOLOGIQUE DU FOIE:

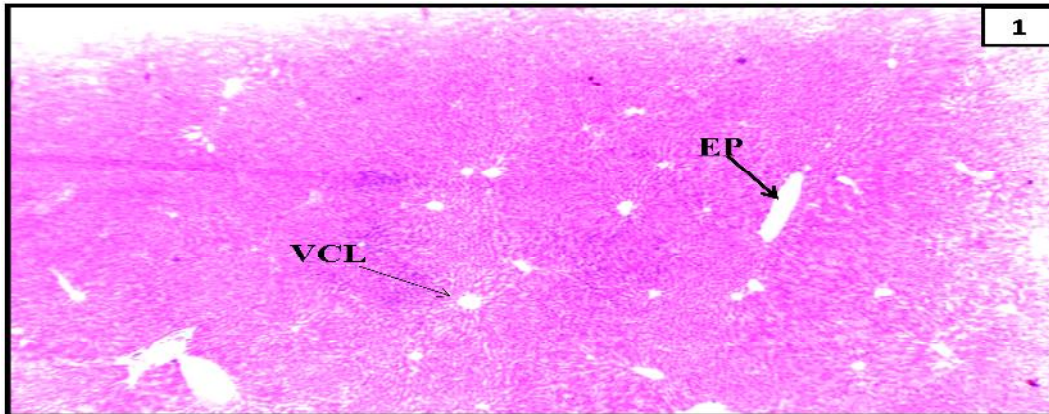
1. Histologie du foie du rat témoin:

Le foie est organisé en unités structurales appelées lobules hépatiques (LH). Ces derniers ont une forme hexagonale irrégulière et sont séparés entre eux par de fins septa de tissu collagénique de soutien. Aux coins de l'hexagone, on peut trouver 3 à 6 espaces appelés espaces portes (EP). Ces derniers sont constitués d'une branche de l'artère hépatique (AH), d'une de la veine porte (VP) et d'un canal biliaire (CB).

Le lobule hépatique est centré par une veine dite veine centrolobulaire (VCL). Par ailleurs, de la périphérie du lobule au centre, on trouve des travées dénommées travées de Remak, qui ont une disposition radiaire et sont essentiellement constituées d'hépatocytes (H), de cellules endothéliales et de macrophages ou cellules de küpffer. Entre les travées cheminent des capillaires sinusoides (S) (**P.1**).

Le sang provenant des espaces portes converge par les sinusoides vers les veines centrolobulaires, puis ces dernières se jettent dans les veines sus hépatiques. A l'opposé, la bile circule par voie centrifuge pour rejoindre les canaux biliaires des espaces portes.

Planche 1:
Coupes histologiques du foie des rats Wistar témoins.
Coloration: Trichrome de Masson

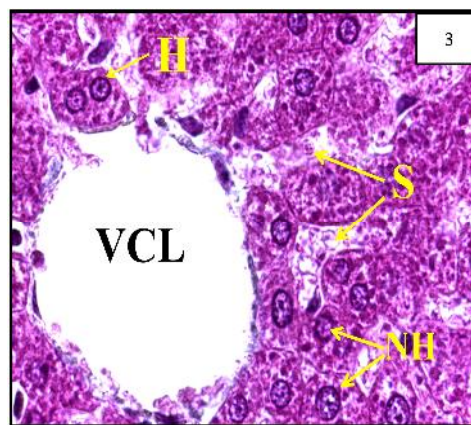
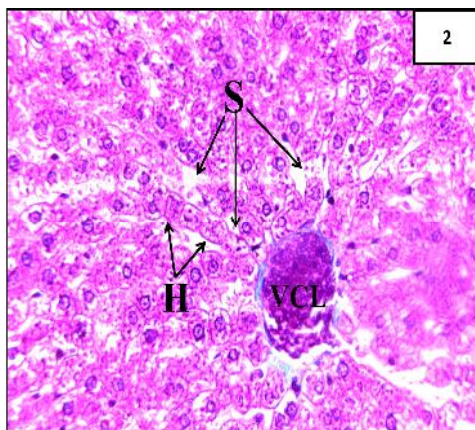


Aspect histologique du Parenchyme hépatique du rat témoin Gr10X; fig.1

Le foie est constitué d'un ensemble de lobule et chaque lobule a une forme hexagonale centré par la veine centre lobulaire et les sommets sont occupé par les espaces portes.

VCL : veine centre lobulaire.

EP: espace porte.



*Aspect histologique du parenchyme hépatique du rat témoin
 Gr 40X; fig.2 et Gr.100X; fig.3*

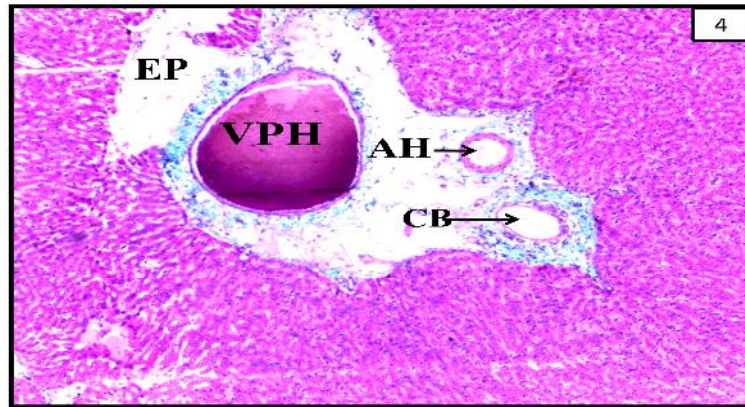
Le tissu hépatique est constitué essentiellement par les hépatocytes organisés en travées hépatocytaires séparé par des capillaires sinusoides.

VCL: veine centre lobulaire

S: capillaire sinusoidal

H: hépatocytes

NH : noyaux des hépatocytes



Aspect histologique d'un espace porte du rat témoin Gr 10X; fig.4

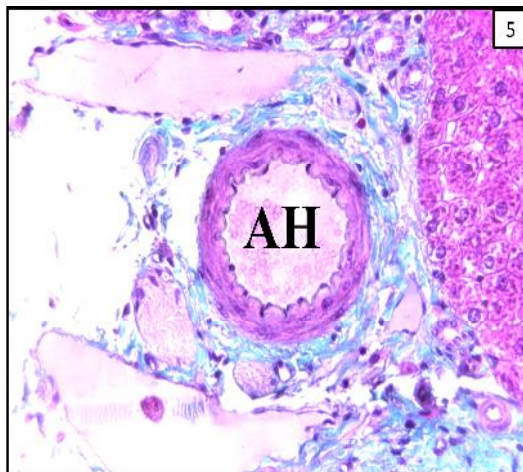
Un espace porte renferme trois structures principales. Celle de plus grand calibre est une branche de la veine porte. Les vaisseaux de plus petit diamètre, à paroi épaisse, sont les branches de l'artère hépatique. Les canaux biliaires collecteurs, de taille variable, sont revêtus par un épithélium simple cubique ou cylindrique.

EP: espace porte

AH: artère hépatique

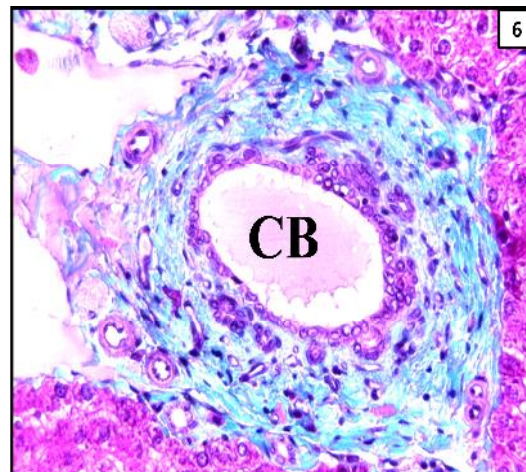
VPH: veine porte hépatique

CB: canal biliaire



Aspect histologique d'une branche de l'artère hépatique du rat témoin Gr 40X; fig.5

AH : artère hépatique



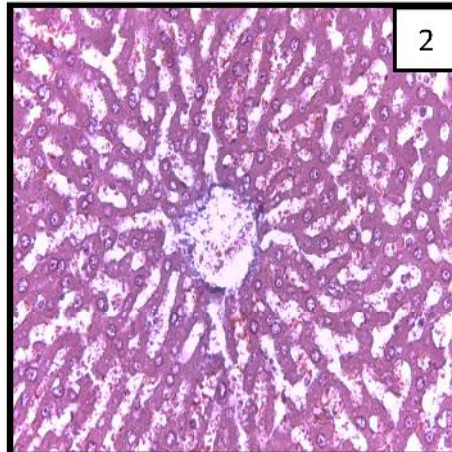
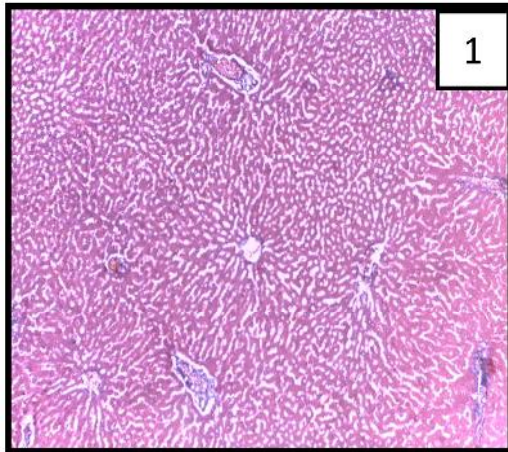
Aspect histologique d'une branche du canal biliaire du rat témoin Gr 40X; fig.6

CB : canal biliaire

Planche 2:

Coupes histologiques du foie des rats Wistar ayant reçu de l'huile d'olive pendant 3 mois.

Coloration: Trichrome de Masson

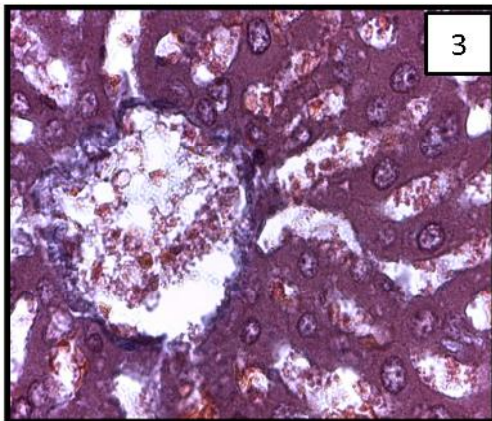


Aspect histologique d'un lobule hépatique

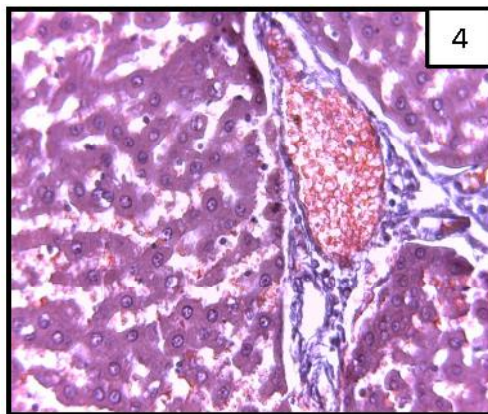
Gr10X; fig.1

Aspect histologique d'un parenchyme hépatique

Gr40X; fig.2



Aspect histologique d'un parenchyme hépatique d'un rat ayant reçu quotidiennement d'huile d'olive vu au MO $\times 100$

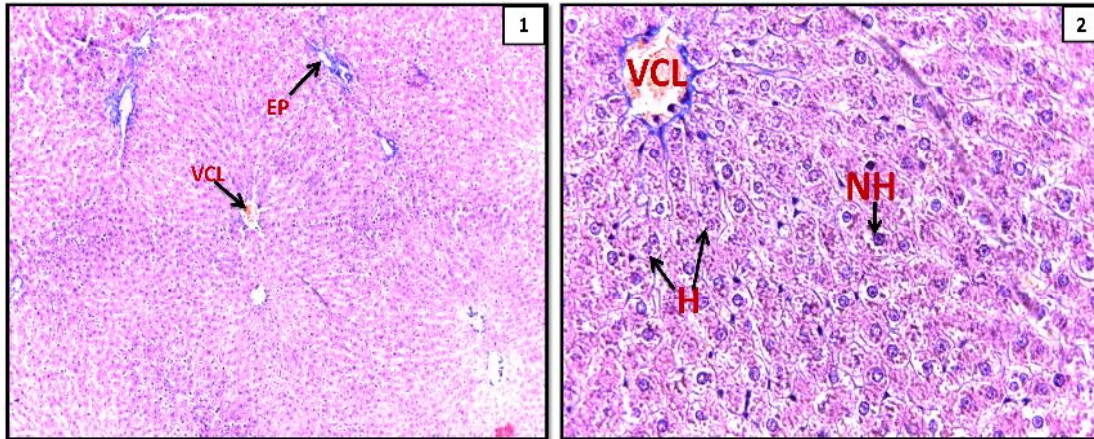


Aspect histologique d'un espace porte d'un rat ayant reçu quotidiennement de l'huile d'olive vu au MO $\times 100$

Planche 3:

Coupes histologiques du foie des rats ayant reçu du lycopène pendant 3 mois

Coloration: Trichrome de Masson



*Aspect histologique d'un lobule hépatique du lot 5
Gr10X; fig.1*

VCL: veine centre lobulaire.

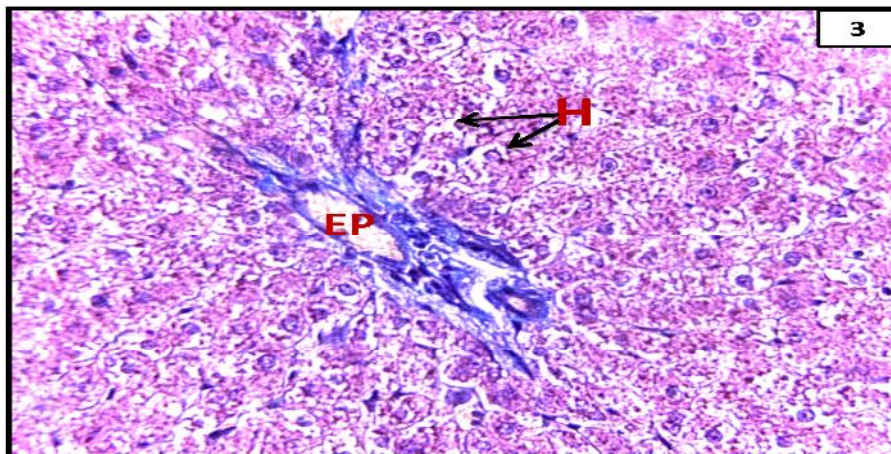
EP: espace porte.

*Aspect histologique d'un parenchyme hépatique du lot 5
Gr40X; fig.2*

VCL: veine centre lobulaire.

EP: espace porte.

NH: noyaux des hépatocytes



Aspect histologique d'un espace porte du lot 5

Gr40X; fig.3

H: hépatocyte.

EP: espace porte.

2. Histologie du foie des rats soumis à la méthionine (hyperhomocystéinémiques) pendant 3 mois:

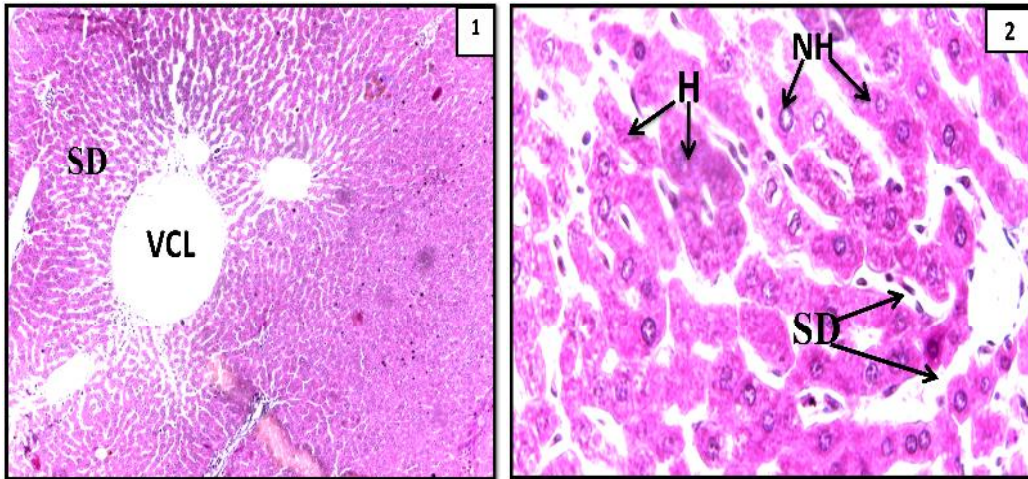
Sous l'influence de la méthionine, nous avons noté des altérations histologiques distinctes au niveau du foie, chez le groupe de rats soumis à la méthionine à raison de 500mg/j et les modifications enregistrées sont les suivantes:

- Dilatation des capillaires sinusoides (P.4 ,fig.1 et fig. 2).
- Installation d'une fibrose périvasculaire et formation des ponts fibreux entre les espaces portes (P.4, fig.3 et fig. 4).
- Une manifestation du début de phénomène d'apoptose caractérisé par des noyaux hépatocytaires denses (P.4,fig.5).
- Une dégénérescence des noyaux cellulaires caractérisés par des noyaux pycnotiques (P.4, fig.6).
- Apparition d'une stéatose caractérisée par l'apparition des adipocytes (P.4, fig.7).
- Une désorganisation tissulaire (P.4 fig.8).
- vasodilatation des capillaires sinusoides (P.4 fig.8).

Planche 4:

Coupes histologiques du foie des rats soumis à la méthionine (500mg/Kg) pendant 3 mois

Coloration: Trichrome de Masson

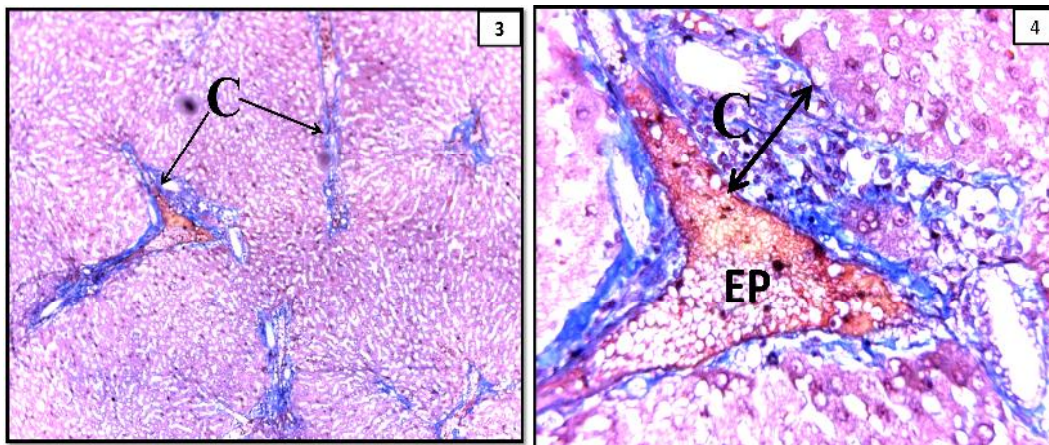


*Aspect histologique d'un parenchyme hépatique du rat méthionine
Gr 10X; fig.1 et Gr 40X; fig.2*

- Dilatation des capillaires sinusoides.

SD : capillaire sinusoidal dilaté.
H: hépatocytes.

NH: noyaux hépatocytaires.
VCL: veine centre lobulaire.



Aspect histologique d'un parenchyme hépatique du rat méthionine Gr 10X; fig.3

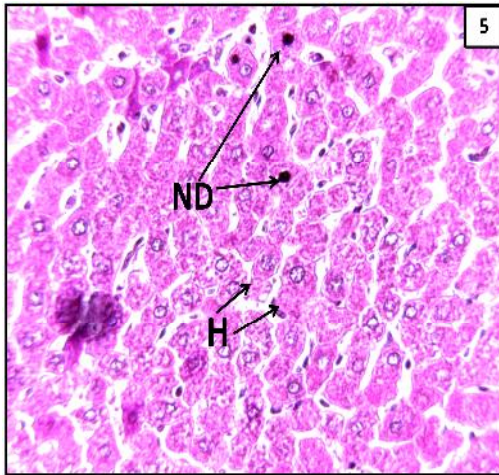
Les dépôts de collagènes autour des espaces portes, et formation des ponts fibreux entre les espaces portes.

C:collagène.

Aspect histologique d'un espace porte du rat méthionine Gr 40X; fig.4

Accumulation des fibres de collagènes en position péri vasculaire.

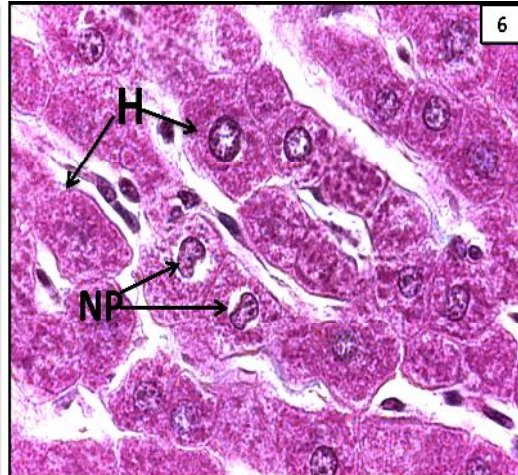
C: collagène. **EP:** espace porte



Aspect histologique d'un parenchyme hépatique du rat Méthionine
Gr 40X; fig.5

Apparition de quelques noyaux denses .

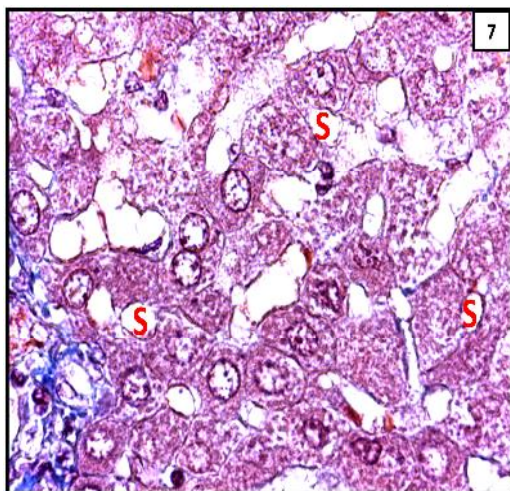
ND: noyau dense. H:hypatocyte.



Aspect histologique d'un parenchyme hépatique du rat méthionine
Gr100X; fig.6

Une dégénérescence des noyaux cellulaires caractérisés par des noyaux pycnotique.

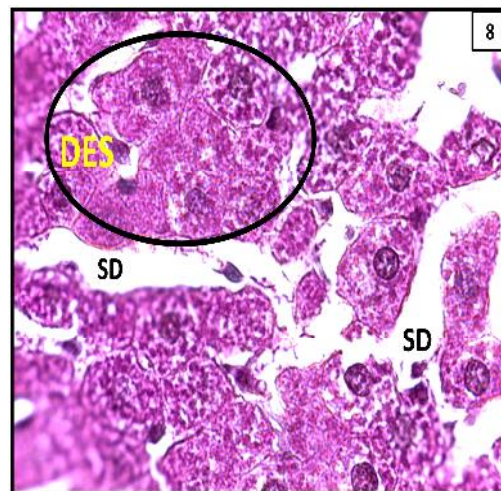
NP: noyau pycnotique. H:hypatocyte.



Aspect histologique d'une parenchyme hépatique Gr 100X;
fig.7

Apparition d'une stéatose caractérisée par l'apparition des adipocytes.

S: stéatose



Aspect histologique d'un parenchyme hépatique
Gr 100X; fig.8

La vasodilatation des capillaires sinusoidaux et désorganisation tissulaire.

SD : capillaire sinusoidal dilaté.

DES : désorganisation structurale.

3. Histologie du foie des rats préventifs (Lot 5) ayant reçu de la méthionine et du lycopène

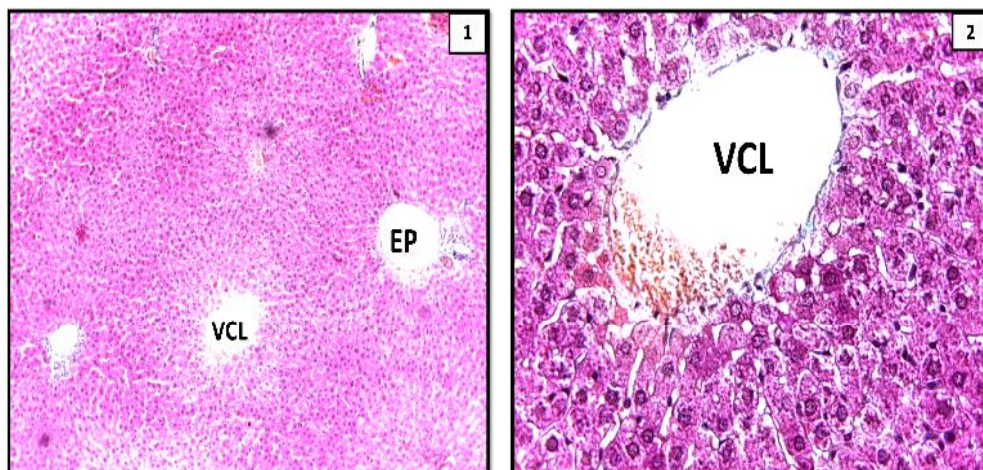
Sous l'influence du lycopène, nous avons noté des altérations histologiques distinctes au niveau de la matrice extracellulaire du foie, et les modifications enregistrées sont résumées comme suit :

- Une réorganisation de l'architecture hépatique (P.5 fig.1).
- Diminution des dilatation des capillaires sinusoides (P.5 fig.1 et fig.2).
- Diminution du dépôt du collagène (épaisseur du collagène) (P.5 fig.1)et autour d'une veine centre lobulaire (P.5fig.2).
- Organisation tissulaire normal des hépatocytes avec ses noyaux (pas de stéatose, absence des noyaux denses et pycnotiques) (P.5fig.3).

Planche 5:

Coupes histologiques du foie des Rats soumis à la méthionine et au lycopène pendant 3 mois.

Coloration: Trichrome de Masson

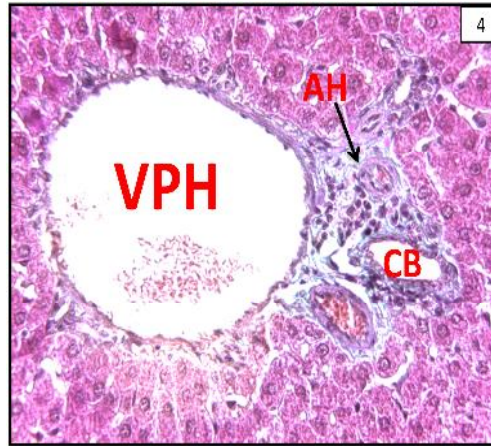
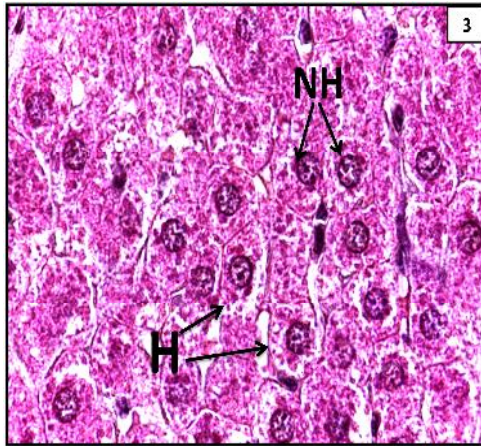


*Aspect histologique d'une lobule hépatique d'un rat préventif
Gr10X; fig.1et Gr 40X; fig.2*

- Diminution de la dilatation des capillaires sinusoides.
- Diminution du collagène autour de la veine centrolobulaire.

VCL: veine centrolobulaire.

EP: espace porte.



Aspect histologique du parenchyme hépatique du rat préventif Gr100X; fig.3

Organisation tissulaire normal des hépatocytes avec ses noyaux (pas de stéatose, absence de noyaux denses et pycnotiques).

H: hépatocytes. NH: noyaux des hépatocytes.

Aspect histologique d'un espace porte du rat préventif Gr40X; fig.4

Diminution du collagène autour d'un espace porte.

VPH: veine porte hépatique.

CB: canal biliaire.

AH: artère hépatique.

III. LA STRUCTURE HISTOLOGIQUE DU COEUR:

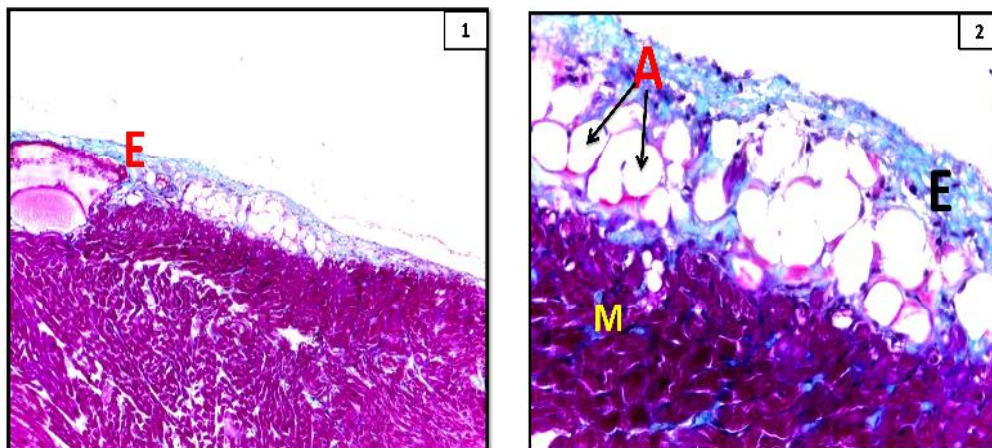
1. Histologie de la paroi cardiaque des Rats hyperhomocystéinémiques:

L'administration quotidienne par voie orale d'un excès de méthionine à provoquer des altérations vasculaires de la structure myocardique tant au niveau cellulaire que matricielle. Ces altérations sont les suivantes :

- Altération de la matrice munie d'une fibrose interstitielle et péri vasculaire.
- Lésion des fibres musculaires.
- Présence de collagène entre les cardiomyocytes.
- Désorganisation cellulaire.
- Présence de noyaux apoptiques.
- Epaissement de la couche conjonctive de l'endocarde.
- Richesse de l'endocarde par des vaisseaux sanguins.

Par contre le lycopène a réduit ces altérations (réduction d'espaces intercellulaire et le collagène est moins abondant ; pas de fibrose).

Planche 6:
Coupes histologiques du cœur des rats Wistar témoins.
Coloration: Trichrome de Masson



*Aspect histologiques de la paroi ventriculaire du Rat Wistar
Témoin. Gr 10X fig. 1 et Gr 40X fig.2*

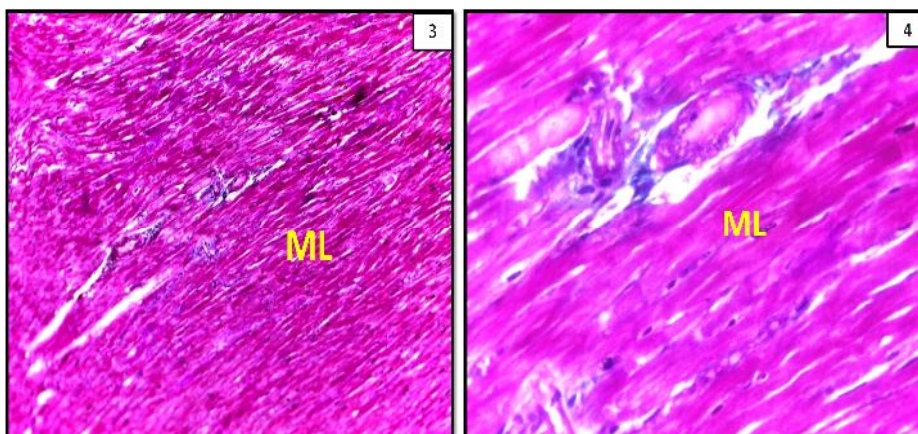
Coupe transversale.

Le tissu conjonctif est très réduit au niveau de l'endocarde et du myocarde.

M:myocarde

A:adipocyte

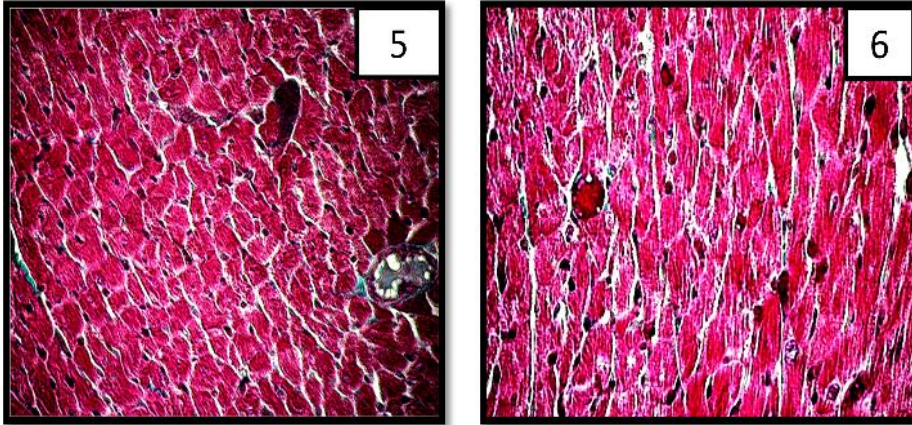
E:endocarde



*Aspect histologiques du myocarde des Rat Wistar Témoin.
Gr×10 fig.3 et Gr×40 fig.4*

Coupe longitudinale nous montre des myofilaments et des fibres anastomosées.

ML : myofilaments.



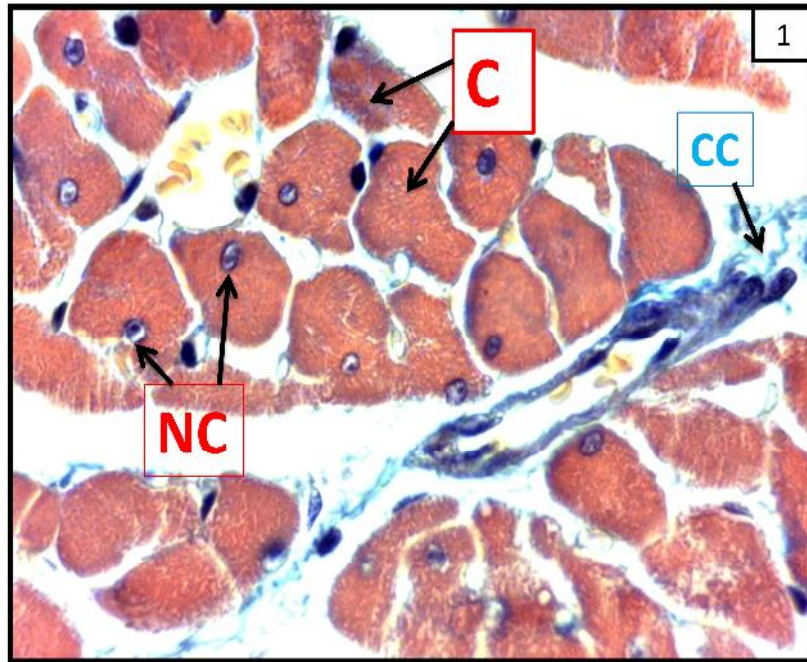
*Aspect histologique du myocarde du rat témoin
Gr 40X; Fig.5 et Gr 100X; Fig.6*

La structure des cellules musculaires transversales est normale, l'endocarpe est aussi normal. Les cardiomyocytes bien individualisés Vascularisation abondante normale Tissu conjonctif très réduit.

Planche 7:

Coupes histologiques du cœur des rats Wistar ayant reçu de l'huile d'olive pendant 3 mois.

Coloration: Trichrome de Masson



Aspect histologiques du myocarde du rat du lot d'huile d'olive Gr100X; Fig.1

Mêmes observations que précédemment

C: cardiomyocytes.

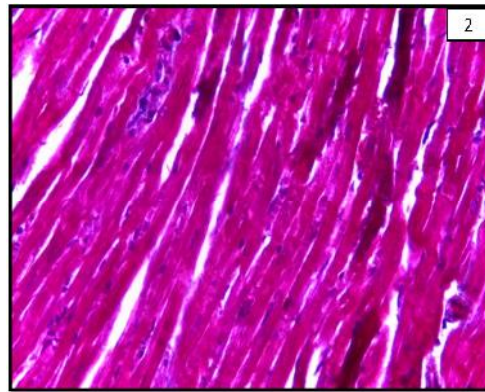
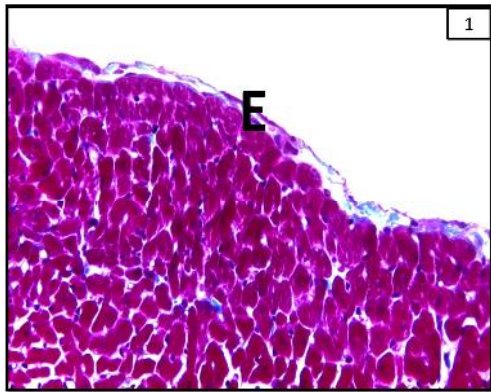
CC: cloison conjonctif.

NC: noyau des cardiomyocytes

Planche 8:

Coupes histologiques du cœur des rats ayant reçu du lycopène pendant 3 mois.

Coloration: Trichrome de Masson



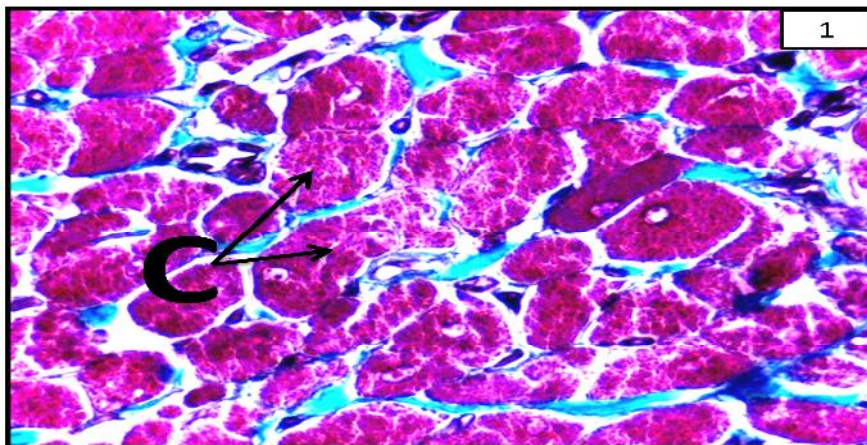
*Aspect histologiques de la paroi cardiaque du rat du lot de lycopéne.
Gr 40X ; fig.1 et fig.2*

Paroi ventriculaire du Rat Wistar Témoin semble normale, elle comporte 3 couches : l'endocarde (E) délimitant la cavité ventriculaire, le myocarde (M) et l'épicarde.

Planche 9:

Coupes histologiques du cœur des rats soumis à la méthionine (500mg/Kg) pendant 3 mois

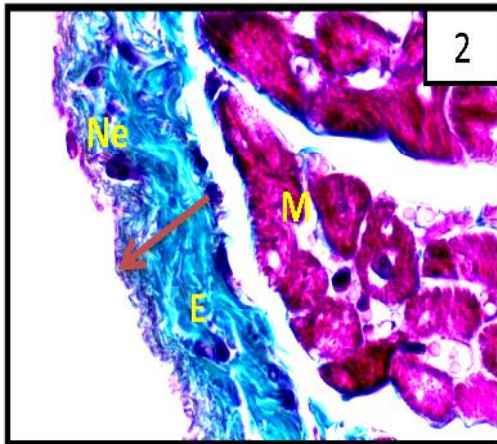
Coloration: Trichrome de Masson



Aspect histologique du Myocarde du Rat hyperhomocystéinémiques. Gr 100X; Fig.1

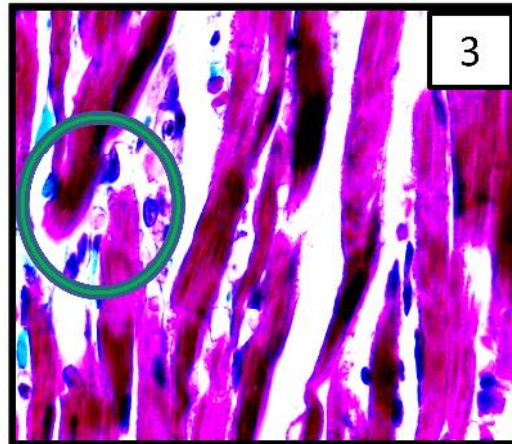
Importante accumulation de collagènes (colorés en bleu) entre les Cardiomyocytes et en position péri vasculaire.

C: cardiomyocytes.



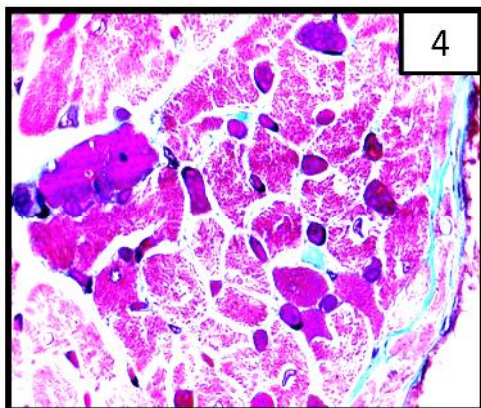
Aspect histologique de la paroi cardiaque du Rat hyperhomocystéinémique Gr. 100X; Fig.2

Important épaissement de la couche conjonctive, focalisé dans l'endocarde(E) qui est constitué d'un endothélium dont on observe les noyaux (N.e). La couche conjonctive délimite le myocarde (M).



Aspect histologique du Myocarde du Rat hyperhomocystéinémique . Gr. 100X; Fig.3

- Lésion des fibres musculaires (le cercle vert).



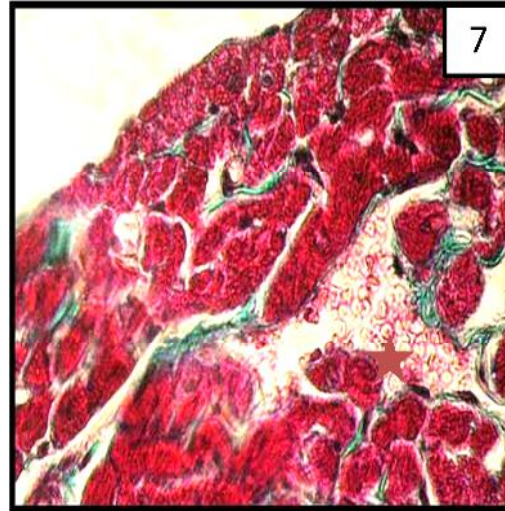
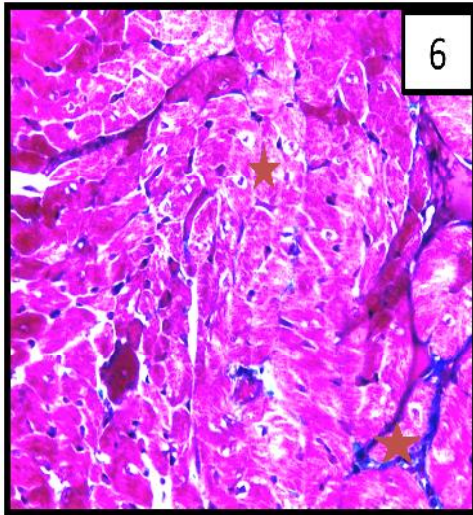
Aspect histologique du Myocarde du Rat hyperhomocystéinémique Gr 100X; Fig.4

- Importante vascularisation myocardique.
- Présence d'espaces entre les cardiomyocytes.
- Certains cardiomyocytes présentent une désorganisation cytoplasmique.



Aspect histologique du Myocarde du Rat hyperhomocystéinémique Gr 40X; Fig.5

- L'endocarde est riche en vaisseaux sanguin(VS), en capillaires et en collagène(C).
- L'espace entre les cellules est très élargie (flèche blanche)



*Aspect histologique du
Myocarde du Rat
hyperhomocystéinémiques
Gr. 40X; Fig.6*

- Hétérogénéité tinctoriale cytoplasmique observée au niveau de certains cardiomyocytes
- Les noyaux observés au niveau de certains cardiomyocytes présentent un aspect apoptotique (*).

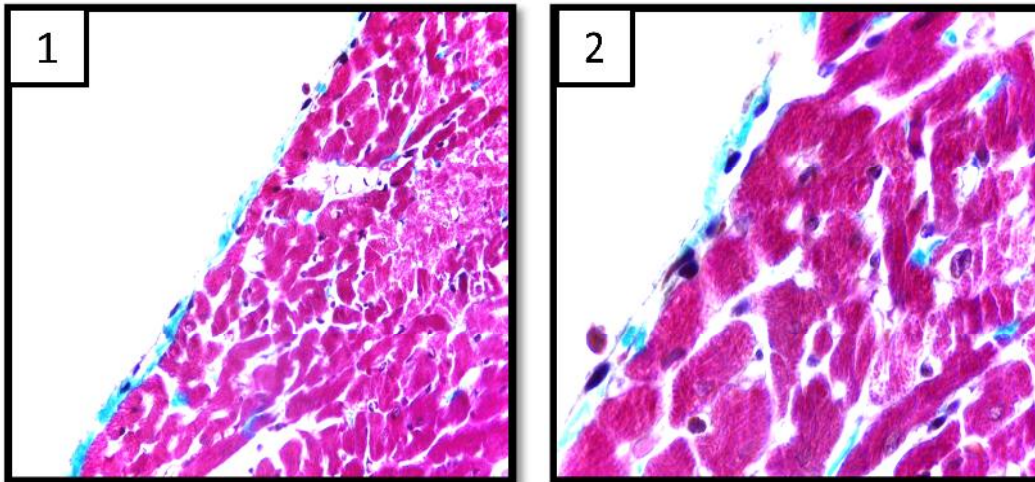
*Aspect histologique du
Myocarde du Rat
hyperhomocystéinémiques
Gr. 40X; Fig.7*

Nous notons une rupture de la paroi vasculaire d'un capillaire (*) chez certains rats hyperhomocystéinémiques.

Planche 10

Coupes histologiques du cœur des Rats préventifs.

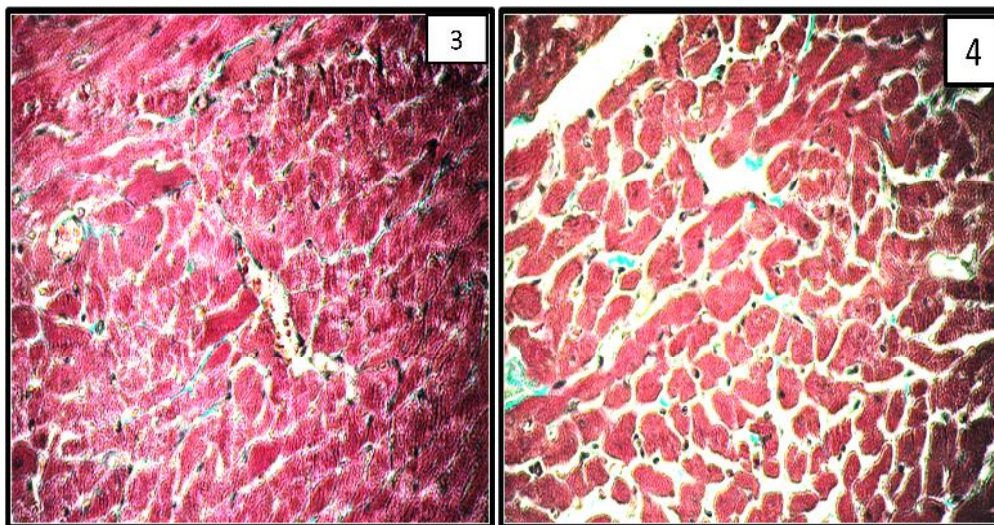
Coloration: Trichrome de Masson



Aspect histologiques de la paroi cardiaque des rats préventifs.

Gr 40X fig.1 et 100X fig.2

Cette micrographie n'a décelé aucune anomalie, que se soit cellulaire, ni vasculaire. Le tissu cardiaque semble normalement constitué.



Aspect histologique du myocarde des rats préventifs.

- Réduction des espaces intercellulaires (fig3).
- Collagènes moins abondants (fig4).

DISCUSSION

Notre étude analyse :

- 1- Les effets d'une hyperhomocystéinémie provoquée par une surcharge en DL-méthionine, administrée *per os* à raison de 500 mg/Kg/pc/jour pendant 3 mois, sur le remodelage de la matrice extracellulaire hépatique et cardiaques, ainsi ses répercussions sur la biochimie plasmatique, chez le rat *Wistar*.
- 2- L'effet préventif du lycopène administré par voie orale à raison de 5 mg /Kg de poids corporel /jour pendant 3 mois sur l'hyperhomocystéinémie et ses conséquences.

Les doses de méthionine utilisées afin d'induire un état d'hyperhomocystéinémie varient en fonction du modèle animal utilisé. Au sein de laboratoire de la Biochimie et remodelage de la matrice extracellulaire d'USTHB, les doses utilisées chez le Rat *Wistar* sont de 70 et 200 mg/Kg de poids corporel/jour pendant 10 et 6 mois respectivement (**Raaf, 2003; Ghoul, 2009**), de 70 mg/Kg de poids corporel/jour pendant 6 mois chez *Psammomys obesus* (**Zerrouk, 2007**) et varient de 0,5 à 1,5 g/jour chez le lapin pendant 3 et 2 mois respectivement (**Othmani, 2007; Fernane, 2009; Taghlit, 2010**).

L'administration de la méthionine a engendré une augmentation de l'homocystéinémie par altération des voies de trans-sulfuration et de méthylation conduisant à un état d'hyperhomocystéinémie (**Refsum et Ueland, 1990**) que nous avons observé après 1 mois chez tous les rats expérimentés. Un résultat similaire est observé par **Zhou et al. (2001)** et **Sharma et al. (2007)**. Nos résultats confirment aussi les travaux de l'équipe de laboratoire de la Biochimie et remodelage de la matrice extracellulaire d'USTHB: **Hamdis (2011), Ghoul (2009), Taghlit (2010)**, sur les différents modèles utilisés et les différentes doses de méthionine administrées.

Les rats du lot 5, au de-là de T1 le taux d'homocystéine a subi une diminution non significative ($P > 0,05$) enregistrée à T2 et T3 et cela ne correspond pas aux résultats de **Yefsah (2007)** et **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 épidémiologiques ont suggérées qu'il était

spécifiquement et individuellement liés à une diminution des pathologies cardiovasculaires et de ses complications.

Dans notre étude nous avons aussi procédé au dosage du cholestérol total plasmatique, il apparait que ce paramètre évolue de la même manière que l'homocystéinémie. Cependant, la cholestérolémie des rats témoins est inférieure de celle enregistrée chez les rats du lot 3(Met).

Ce résultat ne rejoint pas les travaux de **Fernane (2009)** qui a noté une diminution de la concentration plasmatique en cholestérol. Cependant, **Koyama (1995)** en utilisant une alimentation surchargée en 3% de méthionine a observé une augmentation. **Sharma et al. (2007)**, **Gong et al. (2008)**, **Velez-Carrasco (2008)**, **Obeid et Herrman (2009)** aussi ont enregistré une élévation du cholestérol total plasmatique. En injectant la SAM par voie intra gastrique à des rats sprague-dawly, **Zuojiong et al. (2008)** ont obtenu les mêmes résultats. Alors que **Borsheim et al. (2009)** ont enregistré une diminution de ce paramètre chez des patients âgés nourris au régime supplémenté en acides aminés incluant la méthionine. La surcharge en méthionine pendant un mois, a provoqué une augmentation non significative ($p>0.05$) de la cholestérolémie chez les rats de lot 3. Après trois mois de traitement. Une augmentation non significative est notée chez les rats du lot 5 après 1 mois d'expérimentation. **Rao et al. (2006)** et **Yefasah (2007)**, ont rapporté que le taux de cholestérol plasmatique total est diminué avec une supplémentation en lycopène.

Des résultats indiquent que l'homocystéine provoque un stress oxydatif par la génération de ROS, ces derniers vont diminuer la biodisponibilité du monoxyde d'azote, altérer l'expression des gènes et augmenter le stress du réticulum endoplasmique en activant la synthèse du cholestérol (**Werstuck et al., 2001; Obeid et Herrman, 2009**) **Scan et al. (2009)** ont trouvé Chez les animaux recevant du lycopène, une diminution des marqueurs des dommages radicalaires et une augmentation du statut antioxydant total et des activités antioxydantes des enzymes. Leur profil lipidique a également été amélioré.

La triglycéridémie s'avère perturbée au bout d'un mois de supplémentation en méthionine. Une augmentation plus importante ($p < 0.01$) est enregistrée chez les rats hyperhomocystéinémiques du lot3. Ces résultats rejoignent ceux mentionnés par **Xiao Jun et al. (2007)** ainsi que **Gong et al. (2008)** qui rapportent une augmentation de ce paramètre chez le rat Wistar soumis à la Met. Cette augmentation des TG plasmatiques et hépatiques conduit au développement d'une stéatose hépatique (**Zuojiong et al., 2008**).

Alors que certains travaux réalisés chez le lapin (**Fernane, 2009 et Taghlit, 2010**) et le Rat wistar (**Ghoul, 2009; Hamdis, 2011**) mentionnent des fluctuations pour le lot Met, **Borsheim et al. (2009)** ont noté une diminution du taux des TG sous l'effet de la Met. Et **Sharma et al. (2007)** n'ont pas enregistré de changements significatifs de la triglycéridémie chez le rat Wistar Sprague-Dawley à des doses de méthionine inférieures à 0,5g/Kg de p. c. Par contre, à des doses supérieures à 0,5g/Kg de p.c. **Ji et Kaplowitz. (2003)** ont montré que l'hyperhomocystéinémie provoque un stress oxydatif du RE altérant le métabolisme hépatocytaires des lipides en activant une famille de protéines du RE, les SREBPs (sterol regulatory element binding proteins) responsables du contrôle de l'expression des gènes nécessaires pour la biosynthèse des triglycérides, des acides gras et du cholestérol.

Chez les rats de lot 5, les valeurs de la triglycéridémie diminuent pour se rapprocher de celles des témoins en fin d'expérimentation. Cette diminution trouve une explication dans le rôle et le mode d'action du lycopène. Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Xiao Jun et al. (2007); Yefsah (2007) et Bahcecioglu et al. (2010)** qui ont enregistré une diminution significative chez les rats ayant reçu une dose de lycopène de 2 et 4 mg/Kg de poids corporel est peu significative chez les rats ayant reçu une dose plus importante de lycopène à savoir 4 et 10mg /Kg de poids corporel.

Ainsi, nous avons noté une baisse des HDL-c et une augmentation des LDL-c pendant les 3 mois chez les rats du lot Met, ces variations sont associées à une augmentation du cholestérol total et des TG. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Hidiroglou et al. (2004); Sharma et al. (2007) et de Obeid et**

Herrmann, (2009) qui ont montré que les HDL-c en culture éliminent 80% de l'homocystéine-thiolactone (forme toxique), prévenant ainsi son accumulation et confirmant les propriétés protectrices anti oxydantes de la fraction HDL-c. **Taghli, (2010)** a trouvé que les HDL-c des lapins rendus hyperhomocystéinémiques, présentent une diminution peu significative par contre, il a enregistré une forte augmentation du LDL-c. Ces résultats rejoignent ceux **Wanda et al. (2008)** et **Borsheim et al. (2009)** obtenus chez des souris mutantes MTHFR homozygotes avec hyperhomocystéinémie, les taux de HDL-c sont plus faibles que ceux notés chez des souris normales. Une diminution de la fraction HDL-c et une augmentation de la fraction LDL est rapportée par **Sharma et al. (2007)** et **Zerrouk, (2007)**. Cette modification de l'équilibre HDL-LDL et l'apparition de la lipoprotéine A est également observée chez le Lapin hyperhomocystéinémique femelle (**Othmani, 2007; Fernane, 2009**) et **Joanna et al. (2010)** ont trouvé aucune corrélation statistique entre le niveau d'homocysteine sérique et la concentration de LDL-c et triglycérides ainsi une corrélation négatif était évalué entre le niveau d'homocysteine sérique et la concentration de LDL-c chez les patients en soins intensifs au niveau de service de cardiologie.

Mais chez les rats du lot 5, soumis à la méthionine et au lycopène au même temps, l'augmentation du taux des HDL-c est peu significatives et la diminution du taux des LDL-c est non significatives par rapport à celles enregistrées chez les rats du lot Met. En fin d'expérimentation nous avons observé une diminution *très significative* du taux des LDL-c suite a son augmentation à T1, nous avons remarqué aussi une augmentation *non significative* du taux des HDL-c suite a sa diminution à T1. Le même résultat est obtenu par **Sahin et al. (2006)** et **Sharma et al. (2007)** qui ont enregistré une augmentation de la concentration de HDL avec la supplémentation en lycopène alimentaire. Selon **Sahin et al. (2006)** l'oxydation des LDL-c diminue avec l'augmentation des niveaux sériques de lycopène. La consommation du lycopène améliore le statut antioxydant et inhibe la peroxydation lipidique, prévient les dommages oxydatifs des biomolécules comme les lipides dont le cholestérol, les protéines et l'ADN (**Southon, 2001; Markovits et al., 2009**). D'autres études montrent que la supplémentation en lycopène augmente le taux de HDL-c et diminue le taux de LDL-c (**Sahin et al., 2006**). Ainsi **Bose et Agrawal (2007)** ont observé un niveau de lipides significativement plus important dans le groupe ayant des maladies

coronariennes ($p < 0,001$) ; Mais après 60 jours de supplémentation en tomates les résultats ont montrés une amélioration significative du taux sérique d'enzymes impliquées dans les activités antioxydantes et il ya eu diminue de la peroxydation lipidique ($p < 0,001$).

Elson et al. (1999) ont observé, in vitro, une réduction significative de 14% de la concentration de cholestérol LDL plasmatique chez des homme ayant reçu une supplémentation alimentaire de lycopène (60mg/jour) pendant 3mois.

Nous avons procédé aussi au dosage du CRPus plasmatique, elle constitue un important peptide endogène dans l'évaluation du risque des maladies cardiovasculaires. Les valeurs sériques de ce marqueur de l'inflammation dépendent de plusieurs facteurs de risque cardiovasculaires il apparait que ce paramètre évolue de la même manière que l'homocystéinémie. Ce résultat rejoint les travaux de **(Hrira et al., 2010)**; ils ont montré que les taux de la CRPus obtenus chez les témoins comparés à la population Hyperhomocystéinémiques sont de l'ordre de $3,96 \pm 1,67 \text{mg/L}$ vs $5,06 \pm 3,04 \text{mg/L}$.

Chez les rats du lot 5, le taux du CRPus a subit une diminution non significative de 4% ($P > 0,05$) enregistrée à T3 et cela correspond aux résultats de **(Saedisomeolia et al., 2009)** qui ont rapporté que le lycopène a un rôle potentiel dans la suppression de l'inflammation des voies respiratoires induite par rhinovirus, ainsi il peut réduire ou prévenir les effets secondaires de la chimiothérapie due à ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires **(Sahin et al., 2010)**.

Sous l'influence de la méthionine, nous avons noté des altérations histologiques distinctes au niveau du foie chez le lot soumis à la méthionine à raison de 500mg/j, les modifications enregistrées sont les suivantes:

Installation d'une fibrose périvasculaire et formation des ponts fibreux entre les espaces portes. Cette altération a été observée chez *Psammomys* soumis à un régime hyperlipidique **(Hamlat, 2004)**, selon **Remkova et Remko (2009)** suggèrent que les sujets atteints d'altérations hépatiques avec hyperhomocystéinémie, vont développer une stéatose accompagnée ou pas d'une fibrose hépatique.

L'apparition d'une stéatose est généralement caractérisée par l'apparition des adipocytes; **Riederera et al. (2009)** ont montré que le tissu adipeux participe à l'élévation du taux de l'homocystéine plasmatique, l'insulino- et la leptino-résistance ce qui favorise le développement de l'obésité et par conséquent une stéatose hépatique. Et selon **Sozio et al. (2010)**, les différents mécanismes cellulaires possibles par lesquels l'élévation de l'homocystéine favorise la stéatose peuvent être de différentes natures: stress oxydant, altération du métabolisme de l'homocystéine, suralimentation. Ainsi **Roblin et al. (2007)** a montré que toute anomalies enzymatique du métabolisme de l'homocystéine responsable d'hyperhomocystéinémie est associée au minimum à une stéatose hépatique de type micro vésiculaire.

Vasodilatation des capillaires sinusoïdes est due à la baisse de la biodisponibilité du NO sous l'influence de la surcharge en méthionine et la dilatation des capillaires sinusoïdes; Un résultat similaire a été montré dans les travaux de **Boutbel et Messili (2003)** chez le lapin soumis à la méthionine.

Une manifestation du début de phénomène d'apoptose caractérisé par des noyaux hépatocytaires denses. Un résultat similaire a été montré dans les travaux de **Seda et al. (2009)**, qui ont utilisé un régime enrichi en méthionine chez le rat wistar pour provoquer l'hyperhomocystéinémie; peut causer l'apoptose au niveau hépatique.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Boutbel et Messili (2003)** chez le lapin, **Rezkallah et Zellal (2003)**, **Benhmed et al. (2005)** chez les rats wistar.

Après administration de lycopène associé à une surcharge en méthionine (Lot 5) nous avons montré une réduction des altérations engendrées par la méthionine. Cette réduction est essentiellement marquée par la reconstitution du parenchyme hépatique, la diminution des espaces sinusoïdaux, associée à une diminution de l'accumulation de tissu conjonctif essentiellement les collagènes. Ces observations confirment l'effet protecteur de lycopène probablement par l'augmentation des niveaux des antioxydants et par le piégeage des radicaux libres. **Shivashangari et al. (2006)**; **Sevtap et al. (2012)** ont confirmé qu'une supplémentation en lycopène (10mg/Kg de poids corporel) assure une protection du foie. Le prétraitement au

lycopène a conduit à la réduction des altérations structurelles de la matrice extracellulaire, suggérant ses potentialités protectrices vis-à-vis des affections engendrées par la méthionine (500 mg/Kg de poids corporel), tel que le montrent clairement nos observations.

L'administration quotidienne par voie orale d'un excès de méthionine à provoqué des altérations vasculaires de la structure myocardique tant au niveau cellulaire que matricielle. Ces altérations sont les suivantes :

- Altération de la matrice munie d'une fibrose interstitielle et péri vasculaire caractérisée par une accumulation de collagènes autour des vaisseaux ainsi qu'une richesse en capillaires qui sont dilatés; **Kumar et al. (2008)** enregistrent cette accumulation de collagènes au niveau des artères coronaires de souris C β S hyperhomocystéinémiques.
- Présence de collagène entre les cardiomyocytes est également observée par **Zhou et al. (2001)** et **Joseph et al. (2003)**. Une synthèse de collagènes a été observée lors d'une hyperhomocystéinémie par **Iris et al. (2004)**.
- Présence de noyaux apoptiques; **Sharma et al. (2006)**, **Zerrouk (2007)** et **Fernane (2009)** rapportent un résultat identique.
- Épaississement de la couche conjonctive de l'endocarde; **Rolland et al. (1995)** ont rapporté un épaississement similaire au niveau aortique.

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

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

Le but de ce travail a été d'étudier l'impact du lycopène sur le stress oxydatif induit chez le Rat Wistar mâle rendu hyperhomocystéinémique par l'administration per os d'une dose chronique de méthionine pendant trois mois (500mg/Kg de poids corporel/jour) sur la biochimie plasmatique ainsi que sur les modifications structurales hépatiques et cardiaques.

Une approche initiale de la biochimie du plasma a été réalisée par le dosage de certains paramètres; l'état d'hyperhomocystéinémie a été confirmé par le dosage de l'homocystéine plasmatique totale. Elle semble perturber de façon importante la plupart des paramètres étudiés (cholestérol, HDL-C, LDL-C, triglycéride ainsi que la CRPus qui est un facteur inflammatoire donc du stress oxydatif).

L'étude histopathologique a révélée que l'hyperhomocystéinémie est responsable des lésions vasculaires par cytotoxicité endothéliale liée au stress oxydatif avec la formation des radicaux libres, la diminution de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO) et l'inhibition du glutathion peroxydase.

L'impact de l'hyperhomocystéinémie est plus marqué au niveau tissulaire essentiellement au niveau de la MEC. Il ressort de notre étude, que la MEC subit un remodelage caractérisé par:

- une importante accumulation des collagènes fibrillaires ont été observées (accumulation péri vasculaire de collagènes, dilatation des capillaires).

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

- La réduction de l'homocystéine, des LDL, de la CRPus.

- L'augmentation des HDL.

qu'au niveau cellulaire et vasculaire.

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

Ce travail mériterait d'être complété par :

- L'étude du remodelage tissulaire par la quantification des MMPs par zymographie,
- La détermination de la balance oxydants/antioxydants (NO, Catalase et les Tbars)
- La détermination des statuts :

- ❖ Inflammatoire (IL-8, IL-10) et fibrinogène.
- ❖ La quantification de la troponine cardiaque.

-Procoagulant de l'homocystéine.

-L'étude de l'effet de l'hyperhomocystéinémie sur la contractilité des cardiomyocytes (actine, myosine et calcium).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- **Agarwal S. et Rao A.V. (2000).** Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Can. Med. Am J*; **163**: 734- 739.
- **Bahcecioglu I.H., Nalan Kuzu.,KeremMetin., Ibrahim Hanifi Ozercan., Bilal Ust'undag., KazimSahin.and Omer Kucuk. (2010).** Lycopene Prevents Development of Steatohepatitis in Experimental Nonalcoholic SteatohepatitisModel Induced by High-Fat Diet. Article ID 262179:8.
- **Barmley P.M. (2000).** Is lycopene benficial to human health. *54*: 233-236.
- **Barouki R et Morel Y. (2001).** Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. *Biochem Pharmacol*; **61** : 511-6.
- **Benahmed N.; Hadj –Ziane K et Rahim M. (2005).** Effet d'un excès de méthionine sur les paramètres et l'histomorphométrie du foie et du cœur. *DES en Biochimie. USTHB.Alger.*, P 34.
- **Boger, R. H., Sullivan, L. M., Schwedhelm, E., Wang, T. J., Maas, R., Benjamin, E. J.,Schulze, F., Xanthakis, V., Benndorf, R. A. and Vasam, R. S.(2009).** Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community, *Circulation*. **119**: 1592-1600.
- **Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J., Radicaux libres et anti-oxydants. In Delattre J., Durand G et Jardillier JC. (2003).** Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires. Médecine-sciences Flammarion Paris: 59-81.
- **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.
- **Boutbel A. et Messili A. (2003).** Effets de la méthionine sur quelques paramètres biochimiques plasmatiques et sur le foie et l'aorte du lapin «*Oryctolagus cuniculus domestiques* ». *USTHB. Alger*. P 29.
- **Casas, J. P., Bautista, L. E., Smeeth, L., Sharma, P. and Hingorani, A.D. (2005).** Homocysteine and stroke: evidence on a causal link from mendelian randomisation, *The Lancet*. **365**: 224-232.
- **Caussé E. (2008).** Intérêt du dosage de l'homocystéine en médecine générale.
- **Chung H. Y., Ferreira A. L., et al. (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- 539.

- **Clinton SK. (1998).** Lycopene Chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr. Rev*; 56 (2): 35-51.
- **Conn P.F., Schlasch W et Truscott T.G. (1991).**The singlet oxygen and carotenoids interaction.
- **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.
- **Di Mascio P., Kaiser S et Seies H. (1989).** Lycopéne as the most effective biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch. Biochem.Biophys*; 274: 532-538.
- **Elson CE, Peffley DM, Hentosh P. et Mo H. (1999).** Isoprenoid-mediated inhibition of mevalonate synthesis: potential application to cancer. *Proc Soc Exp Biol Med* 22: 294–310.
- **Estévez, J. (2002).** Jordan, Nitric oxide and superoxide, a deadly cocktail, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 962: 207–211.
- **Favier A. (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*; 108-115.
- **Fernane A. (2009).** Homocystéine, stress oxydatif et remodelage cardiovasculaire chez le lapin domestique mâle. Thèse de magister. *USTHB.Alger*.P131.
- **Freiedewald W.T., Levy R.I. et Fredrickson D.S. (1972).** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
- **Fuhrman B., Ben Yaish L., Ahiass J et Hayek T. (1997).** Tomato lycopene and B-carotene inhibit low density lipoprotein oxidation and this effect depends on the lipoprotein vitamin E content. *Nutr.Med.Cardiovasc*;7: 433-443.
- **Gerster H. (1997).** Le rôle potentiel de lycopéne pour la santé humaine. *J Am Coll. Nutr*; 16 (2): 109-126.
- **Gong Z., Yan S., Zhang P., Huang Y., Wang L. (2008).** Effects of Sadenosylmethionine on liver methionine metabolism and steatosis with ethanolinduced liver injury in rats. *Hepatol Int*; 2: 346-523.
- **Ghoul A. (2009).** Hyperhomocystéinémie et remodelage de la matrice extracellulaire testiculaire, épидидymaire et vésiculaire chez le rat Wistar, *Rattus norvegicus*. Thèse de magister. *USTHB. Alger*. P94.

- **Goodenough D.A., Grolier JA et Paul DL. (1996).** Connexins, connexons and intercellular communication. *Ann.Rev. Biochem*; 65: 475-502.
- **Gouranton E, Thabuis C, Riollet C,et al. (2011).** Lycopene inhibits proinflammatory cytokine and chemokine expression in adipose tissue. *J Nutr Biochem*; 22: 642–648.
- **Guilland J-C., Favier A., Potier de Courcy G et al.(2003).** L’hyperhomocystéinémie: facteur de risque ou simple marqueur ? *Pathologie et Biologie.*; 51: 101-110.
- **Halliwell B et Gutteridge J.M.C. (1999).** **Free Radicals In Biology And Medicine.** 3rd Edition, Oxford University Press, 936p.
- **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.
- **Hamlat N. (2004).** Effets de régimes enrichis en lipides sur certains paramètres plasmatiques; tissulaires et cellulaires chez *Psammomys* et *Rattus norvigicus*. Magister en Biologie et Physiologie animale. *USTHB. Alger.* P 142.
- **Hidiroglou N., Gilani G., Long L., Zhao X., Madere R., Cockell K., Belonge B., Ratnayake W., Peace R. (2004).** The influence of dietary vitamin E, fat, and methionine on blood cholesterol profile, homocysteine levels, and oxidizability of low density lipoprotein in the gerbil *The Journal of Nutritional Biochemistry*;15(12) :730-740.
- **H. Kono, I. Rusyn, M. Yin, E. Gabele, S. Yamashina, A. Dikalova, M.B. Kadiiska, H.D. Connor, R.P. Mason, B.H. Segal, B.U. Bradford, S.M. Holland, R.G. Thurman.(2000).** NADPH oxidase-derived free radicals are key oxidants in alcohol-induced liver disease. *J. Clin. Invest.*106: 867–872.
- **H. Kono, I. Rusyn, T. Uesugi, S. Yamashina, H.D. Connor, A. Dikalova, R.P. Mason et R.G. Thurman.(2001).** Diphenyleneiodonium sulfate, an NADPH oxidase inhibitor, prevents early alcohol-induced liver injury in the rat. *Am. J. Physiol.: Gastrointest. Liver Physiol.* 280: G1005–G1012.
- **Holven K.B., Scholz H., Halvorsen B., Aukrust P.,Ose L. et Nenseter M.S. (2003).** Hyperhomocysteinemic Subjects Have Enhanced Expression of Lectin-Like Oxidized LDL Receptor-1 in Mononuclear Cells. *J. Nutr.*, **133** : 3588–3591.
- **Jackson M.J., Reddy V et Mahanran M. (1997).**The assessment of bioavailability of micronutrients. *Eur.J.Clin. Nutr*; 51:1-2.
- **Ji C et Kaplowitz N. (2003).** Betaine decreases hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and liver injury in alcohol-fed mice. *Gastroenterol.*, **124** : 1488-99.

- **Ioanna Samara, Georgios Alvertos Karikas, Eleni Kalkani, Alexandra Tzimogianni, Nikolaos Bournousouzis et Athina Fytou-Pallikari. (2010).** Les corrélations négatives du total-homocystéine et HDL-c niveaux sériques chez les patients en soins intensifs. 189: 189-192.
- **Jonathan R Mein., Fuzhi Lian et Xiang-Dong Wang. (2012).** Biological activity of lycopenes metabolites: implications for cancer. *Nutrition prevention Reviews*; 66(12): 667–683.
- **Joseph J., Joseph L., Shekhawat NS., Devi SS., Wong J.; Melchert RB., Hauer-Jensen M. and Kennedy RH. (2003).** Hyperhomocysteinemia leads to pathological ventricular hypertrophy in normotensive rats. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*; **285**: H686-H688.
- **Koyama. J. (1995).** The influence of methionine and its metabolites on the progression of atherosclerosis in rabbits. *Nippon Ika Daigaku Zasshi*; **62(6)**: 596-604.
- **Krinsky N.I. et Johnson J. (2005).** Carotenoid actions and their relation to health and disease." *Mol Aspects Med*; 26(6): 459-516.
- **Lee M. et Chen B. (2001).** Separation of lycopene and its cis isomers by liquid chromatography. *Chromatographia* **54**: 613–618.
- **L.P. James, P.R. Mayeux et J.A. Hinson. (2003).** Acetaminophen-induced hepatotoxicity, *Drug Metab. Dispos.* 31: 1499–1506.
- **Luciene de Souza Venâncio., Roberto Carlos Burini., Winston Bonetti et Yoshida Sharma. (2010).** Le traitement diététique de l'hyperhomocystéinémie dans la maladie artérielle périphérique; **9(1)**.
- **L. Xiao, J. Chen et C.-S. Cha. (2000).** Elimination of the interference of ascorbic acid in the amperometric detection of biomolecules in body fluid samples and the simple detection of uric acid in human serum and urine by using the powder microelectrode technique. *J. Electroanal. Chem.*; 495 :27-35.
- **Macrae R., Robinson Rk. et Sadler Mj. (1993).** *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition* , Academic Press.London.
- **Markovits N., A. B., Amotz, and Levy Y. (2009).** The effect of tomato-derived lycopene on low carotenoids and enhanced systemic inflammation and oxidation in severe obesity, *Israel Medical Association Journal*; **11(10)**: 598–601.
- **Micozzi MS., Brown ED., Edwards BK et al. (1992).** Plasma response. Caroténoïde à l'ingestion chronique de certains aliments et suppléments de bêta-carotène chez les hommes *Am J Clin Nutr.*; 55(6): 1120-1125.

- **M. M. Nassef, A.-E. Radi et C. O'sullivan. (2007).** Simultaneous detection of ascorbate and uric acid using a selectively catalytic surface. *Anal. Chim. Acta.*; 583: 182-189.
- **Mouchabac S. (2008).** Homocystéine, hyperhomocystéinémie et dépression ;**32** : 9 – 18.
- **Moussa, M., J. F. Landrier, E. Reboul, O. Ghiringhelli, C. Comera, X. Collet, K. Frohlich, V. Bohm et P. Borel. (2008).** Lycopene absorption in human intestinal cells and in mice involves scavenger receptor class B type I but not Niemann-Pick C1-like 1. *J Nutr.*; 138: 1432-6.
- **Nicolas Guggenbühl. (2007).** Cancer epidemiol biomarkers prev.; 17(5): 962-8.
- **Obeid R, Herrmann W. (2009).** Homocysteine and lipids: S-adenosyl methionine as a key intermediate. *FEBS Lett.*; **583** (8): 1215-1725.
- **Othmani K. (2007).** Remodelage de la matrice extracellulaire induit par une hyperhomocystéinémie et par la gestation chez le lapin. Caractérisation et suivi de marqueurs de la gravidité. *Thèse de Doctorat es Sciences. USTHB. Alger.* P194.
- **Paran E and 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.
- **Parker et R.S. (1996).** Absorption metabolism and transport of carotenoids. *FASEB.J.*; 10: 542-251.
- **Pincemail J., Siquet J., Chapelle J-P. et al. (2000).** Evaluation des concentrations plasmatiques en antioxydants, anticorps contre les LDL oxydées et homocystéine dans un échantillon de la population liégeoise. *Ann Biol Clin* 58: 178-185.
- **Piolot A., Nadler F. et Parez N. (1996).** L'homocystéine:ses liens avec les maladies cardiovasculaires ischémiques. *Rev Med Interne*; 17: 34 - 45.
- **Premkumar J. et Koo S. B. (2005).** Electrocatalytic oxidations of biological molecules (ascorbic acid and uric acids) at highly oxidized electrodes. *J. Electroanal. Chem*; **576**: 105-112.
- **Raaf L. (2003).** Effet de l'hyperhomocystéinémie sur la matrice extracellulaire de la paroi artérielle. *Thèse de magister. USTHB. Alger.*P113.
- **Rao A.V. et Agarwal S. (2000).** Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *J. Am. Coll. Nutr*; 19: 563-569.
- **Rao, A.V., Ray, M.R. et Rao L.G. (2006).** Lycopene, *Advances in Food and Nutrition Research*; 51:99-164.

- **Refsum H. et Ueland PM. (1990).** Clinical significance of pharmacological modulation of homocysteine metabolism. *Trends Pharmacol. Sci.*, 11: 411-16.
- **Remková Anna, Milan Remko. (2009)** Homocysteine and endothelial markers are increased in patients with chronic liver diseases. *European Journal of Internal Medicine* 20: 482–486.
- **Rezkallah N et Zellal W. (2003).** Effet d'un régime riche en cholestérol et de la méthionine sur le foie de rat *wistar* « *Rattus norvegicus* ». *DES en biologie et physiologie animale. USTHB. Alger.* P29.
- **Riederera Monika, Wolfgang Erwab, Robert Zimmermann, Sařsa Frank, Rudolf Zechner. (2009).** Adipose tissue as a source of nicotinamide Nmethyltransferase and homocysteine. *Atherosclerosis* 204: 412–417.
- **Roblin X., Pofelski J. and Zarski J-P. (2007).** HÉPATITE C (Rôle de l'homocystéine au cours de la stéatose hépatique et de l'hépatite chronique). *Biol;* **31**: 415-420.
- **Rolland P.H, Friggi A., Barlatier A., Piquet P, Latrille V., Faye M.M., Guillou J.,Charpiot P., Bodard H., Ghiringhelli O., Calaf R, Luccioni R et Garçon D. (1995).** Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig. *Circulation;* **91**:1161-1174.
- **Saedisomeolia, A., Wood, L. G., Garg, M. L., Gibson, P. G., and Wark, P. A. B. (2009).** Lycopene enrichment of cultured airway epithelial cells decreases the inflammation induced by rhinovirus infection and lipopolysaccharide. *J. Nutr. Biochem.*, **20**: 577-585.
- **Sahin, K., Tuzcu, M., Sahin, N., Ali, S., and Kucuk, O. (2010).** Nrf2/HO-1 signaling pathway may be the prime target for chemoprevention of cisplatin-induced nephrotoxicity by lycopene. *Food Chem. Toxicol.*, **48**: 2670-2674.
- **Sahin K., Onderci M., Sahin N., Gursu M., Khachik. and Kucuk O.(2006).** Effet of lycopene supplementation on antioxidant status oxidative stress, performance and carcass characteristics in heat-stressed Japanese quail. *Journal of Thermal Biology;* **31**: 307-312.
- **Sahin, K., Tuzcu, M., Sahin, N., Ali, S., and Kucuk, O. (2010).** Nrf2/HO-1 signaling pathway may be the prime target for chemoprevention of cisplatin-induced nephrotoxicity by lycopene. *Food Chem. Toxicol.*, **48**: 2670-2674.
- **Seda Yalçınkaya, M.D.a, Yesim Ünlüerçi, M.D.a, Murat Giris, M.S.a, Vakur Olgaç, Ph.D.b, Semra Dogru-Abbasoglu, M.D., Ph.D.a, and Müjdat Uysal, M.D.a. (2009)** Oxidative and nitrosative stress and apoptosis in the liver of rats fed on high methionine diet: Protective effect of taurine. *Nutrition* 25 ; 436–444.

- **Sevtap A., Tokaç M., Taner G., Ata Turker Arikok., Halit Zaya D., Alper BO., Mine YT., Mehmet K., Arif AB. and Nursana B. (2012).** Antioxidant and antigenotoxic effects of lycopène in obstructive jaundice. *Departement of toxicology*. EI-EII.
- **Sharma M., Rai SK., Tiwari M and Chandra R. (2007).** Effect of hyperhomocysteinemia on cardiovascular risk factors and initiation of atherosclerosis in Wistar rats. *Eur J Pharmacol*; 574(1): 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.
- **Shivashangari K., Subramanian V., and Radhakrishnan S. (2006).** Hepatoprotective Potential of Lycopene on D Galactosamine/ Lipopolysaccharide Induced Hepatitis in Rats *Pharmacologyonline*; **2**: 151-170.
- **Southon,S.(2001).** Increased fruit and vegetable consumption: Potential health benefits. *Nut. Met. cardio Dis*; **11**: 78-81.
- **Sozio M.S., Liangpunsakul S and Crabb D.(2010).** The role of lipid metabolism in the pathogenesis of alcoholic and nonalcoholic hepatic steatosis. *Semin Liver Dis.* **30**(4): p. 378-90.
- **Stahl W., Junghans B., De Boer B., Driomina Es. et Briviba K, H. (1998).** Sies mélanges de caroténoïdes protègent liposomes multilamellaires contre les dommages oxydatifs: effets synergiques du lycopène et la lutéine *FEBS Lett.* 427 (2): 305-308.
- **Stahl, W., Heinrich, U., Aust, O., Tronnier, H., and Sies H. (2006).** Lycopene-rich products and dietary photoprotection. *Photochemicaland hotobiological Sciences*; **5**(2): 238–242.
- **Stipanuk MH. (2004).** Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. *Annu Rev Nutr*; **24**: 539-77.
- **Sudipta Veeramachaneni. (2008).** Interactions Between Escalating Doses of Lycopene Supplementation and Exposure to Alcohol/smoke and Carcinogen in Vivo. Thèse 181 pages.
- **Suwannalert, P., Boonsiri, P., Khampitak, T., Khampitak, K., Sriboonlue, P., and Yongvanit, P. (2007).** The levels of lycopene, alpha-tocopherol and a marker of oxidative stress in healthy northeast Thai elderly. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **16** (Suppl. 1): 27-30.

- **Taghlit A. (2010).** Les altérations plasmatiques et hépatiques induites par l'hyperhomocystéinémie chez le lapin domestique mâle. *Thèse de magistère USTHB. Alger.* P84.
- **Terruzzi I, Senesi P, Fermo I, Lattuada G et Luzi L. (2007).** Are genetic variants of the methyl group metabolism enzymes risk factors predisposing to obesity? *J Endocrinol Invest*; 30 (9): 747-53.
- **Thierry.(2000).** Is lycopene beneficial to human health. 54: 233 -236.
- **T. Zylberstein, D. E., Bengtsson, C., Bjorkelund, C., Landaas, S., Sundh, V., Thelle, D. and Lissner, L. (2004).** Serum homocysteine in relation to mortality and morbidity from coronary heart disease: a 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg, *Circulation*; **109**: 601-606.
- **Ueland PM. (1993).** Total homocysteine in plasma or serum: Methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; 39: 1764-1779.
- **U. Yogeswaran, T. Soundappan et S.-Ming.(2009).** Chen; Corrigendum to "Nanocomposite of functionalized multiwall carbon nanotubes with nafion, nano platinum, and nano gold biosensing film for simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid. *Anal. Biochem.*; 390:224.
- **Van Villet T. (1996).** Absorption of β -carotene and other carotenoids in humans and animals model. *Eur.J.Clin.Nutr.*; 50: 32-37.
- **Velez-Carrasco, Merkel M, Twiss C.O, Smith J.D. (2008).** Dietary methionine effects on plasma homocysteine and HDL metabolism in mice. *J. Nutr. Biochem*; **19**: 362-70.
- **Voutilainen S.; Morrow J.D.; Roberts L.J.; Alfthan G.; Alho H.; Nyssonen K. et Salonen J.T. (1999).** Enhanced *in vivo* lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **19** : 1263 – 1266.
- **Waliszewski, K. N., and Blasco, G. (2010).** Nutraceutical properties of lycopene. *Salud Publica Mex.*,**52**: 254-265.
- **Wanda Velez-CarrascoA., Martin MerkelB., Christian O., TwissC, and Jonathan D. SmithD. (2008).** Dietary methionine effects on plasma homocysteine and HDL metabolism in mice. *J Nutr Biochem*;**19**(6): 362–370.
- **Werstuck GH.,Lentz SR., Dayal S., Hossain GS., Sood SK., Shi YY., Zhou J. ; Maeda N., Krisans SK., Malinow MR., Austin RC. (2001).** Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. *J. Clin. Invest*; **107**: 1263-73 *In DiBello PM.*

- **Xiao Jun L., Dan Qu., Fang He., QiHong Lu., Jin Wang and Dong L Cai. (2007).** Effect of lycopene on the vascular endothelial function and expression of inflammatory agents in hyperhomocysteinemic rats. *Asia Pac J Clin Nutr*; 16 (Suppl 1): 244-248.
- **Yefsah A. (2007).** Biodisponibilité et incidence physiologique du lycopène chez le rat wistar. Thèse de magister. INA. Alger. 105p.
- **Yoshikawa, T., Yamamoto, Y. et Naito, Y. (2000).** Free radicals in chemistry, biology and medicine, ed, Oica International, Londres.
- **Zerrouk F. (2007).** Modulation de la composition de la matrice extracellulaire vasculaire par une hyperhomocysteinémie chez *Psammomys obesus*. *Thèse de magister. USTHB. Alger.* P86.
- □ **Zhou J., Moller J, Danielsen C.C., Bentzon J., Ravan H.B., Austin R.C. and Falk E. (2001).** Dietary supplementation with methionine and homocysteine promotes early atherosclerosis but not plaque rupture in ApoE-deficient mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*; **21**: 1470-76.
- **Zumbrunn A., Uebelhart P. et Eugster Ch. (1985).** HPLC of carotene with y end groups and Z configuration at terminal conjugated double bonds isolation of (s2) lycopene from tomatoes. *Helv. Chem. Acta*; 68: 1540-1542.
- **Zuojiong Gong, Shaonan Yan, Ping Zhang, Yanqing Huang, Luwen Wang. (2008).** Effects of S-adenosylmethionine on liver methionine metabolism and steatosis with ethanol-induced liver injury in rats. *Hepatol Int*; **2**: 346–352.

ANNEXES

ANNEXE MATÉRIELS ET PRODUITS

Tableau 8: La liste du matériel et des produits utilisés.

Matériel utilisés:	
Les prélèvements sanguins	L'étude histologique
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Des pipettes pasteurs. ➤ Des tubes héparines, EDTA, citratés et secs. ➤ Des Eppendorfs. ➤ Des gants. ➤ Une glacière. ➤ Des micropipettes. ➤ Des portoires. ➤ Des cuves. ➤ L'automate COBAS INTEGRA 400 plus. ➤ Un bain marie (Lauda Aqualine AL12). ➤ Un photomètre (Robert reiele KG Berlin). ➤ Une centrifugeuse(EBA20 Zentrifugen Hettich). ➤ Agitateur (SNIJDERS). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Des microcassettes. ➤ L'automate(Myrr). ➤ Un distributeur de paraffine(Leica). ➤ Un microtome (Leica). ➤ Un bain marie (Leica). ➤ L'étuve (sakura). ➤ Un papier absorbant. ➤ La plaque chauffante (Sartorius). ➤ Des portes lames. ➤ Les lames et les lamelles. ➤ Des masques. ➤ Pincés. ➤ Seringue. ➤ Microscope optique (Zeiss Axiostar plus). ➤ Apariel photo numérique de marque Canon Power Shot A 80.

Produits utilisés :

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">➤ Kit de cholestérol par la cassette COBAS INTEGRA cholestérol (Roch).➤ Kit de triglycérides type Biomaghreb.➤ Kit de HDL type Biosystems.➤ kit de CRPus par la cassette COBAS INTEGRA C-Reactive Protein (Latex) (Roch).➤ L'eau distillé. | <ul style="list-style-type: none">➤ Du Formol.➤ Du Bouin aqueux.➤ Des alcools (100 °, 90°, 70°, et 50°)➤ Du Xylène.➤ De la Paraffine.➤ De l'Hématoxyline.➤ Eukit.➤ Fuchsine Ponceau.➤ Acide Phosphomolipdique.➤ Bleu D'aniline.➤ L'eau Acétifier (Eau Distillée + Acide Acétique 1%).➤ L'eau Courante. |
|--|---|



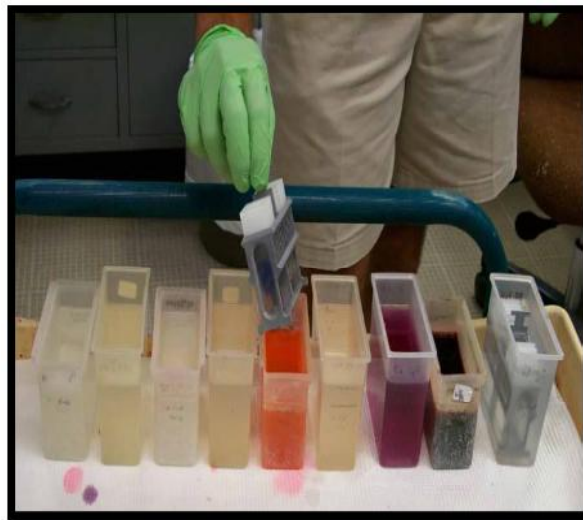
Automate de déshydratation



Microtome



Pilulier



Bac à coloration



Etuve



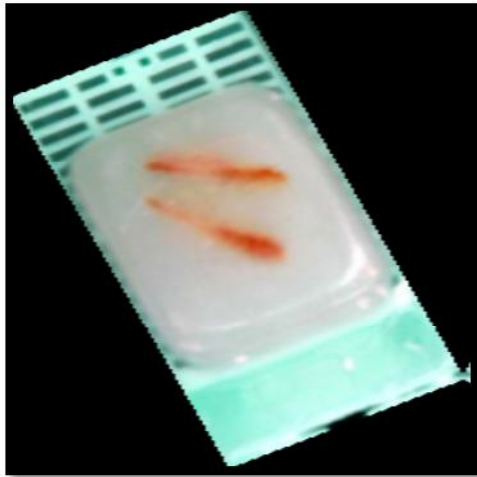
Plaque de refroidissement



Bain marie



Moule pour Biopsie(foie et cœur)



Inclusion des organes



Un distributeur



Automate pour les analyses
biochimiques.

figure 8 : Photos de certain matériel utilisés dans l'expérimentales

ANNEXE HISTOLOGIE

COLORATION TRICHROME DE MASSON (variante de Goldner)

I. Réactifs :

1. Hématoxyline de Groat : Préparation à froid

- Solution A :
 - Acide sulfurique concentré.....0, 8 ml
 - Alun de Fer.....1g
 - Eau distillée.....50ml
- Solution B :
 - Hématoxyline.....0,5g
 - Alcool 95°.....50ml

Après dissolution, mélanger les deux solutions, laisser reposer pendant 1 heure et filtré. Se conserve pendant 3mois environ.

2. Fushine-ponceau : Préparation à froid

- Fushine acide.....0, 1g
- Ponceau.....0, 2g
- Eau distillée.....300ml

Après dissolution, ajouter :

- Acide acétique.....0, 6ml

Conservation illimitée.

3. Orangé-G molybdique : Préparation à froid

- Orangé G.....2g
- Eau distillée.....100ml
- Acide phosphomolybdique.....1g

Conservation illimitée.

4. Acide phosphomolybdique à 5%

- Eau distillée.....100ml
- Acide phosphomolybdique.....5g

5. Vert lumière (solution acétique) :

Vert lumière.....0,1 g

Eau distillée.....100 ml

Ajouté :

Acide acétique.....2ml

Conservation illimitée.

6. Bleu d'aniline :

Solution mère :

Bleu d'aniline.....0,5g

Eau distillé.....100ml

Porter a ébullition, laisser, refroidir, filtrer, ajouter

Acide acétique8ml

Solution de travail :

Au moment de l'emploi, diluer :

Solution mère.....1 volume

Eau distillé.....2 volume

La solution de travail se conserve plusieurs mois.

II. Alcools:

1. Préparation de l'alcool 90°

Eau distillée.....13,25ml

Alcool 100°..... 100ml

2. Préparation de l'alcool 70°

Eau distillée.....47,75ml

Alcool 100°.....100ml

III. Préparation de l'eau gélatineuse :

Eau distillée.....100ml

La gélatine0,4g

IV. Mode opératoire :

*Déparaffiner les coupes sur platine chauffante.

*Eliminer l'excès de la paraffine dans un bain de toluène (xylène).

*Hydrater dans l'alcool (100°,90°,70°,50°).

*Colorer par le mélange fushine-ponceau pendant 20 sec.

*Rincer à l'eau acétifiée.

*Colorer par l'orangé G pendant 15 sec.

*Rincer à l'eau acétifiée.

*Colorer par le vert lumière ou bleu d'aniline pendant 5 minutes.

*Laver à l'eau acétifiée.

*Colorer par l'hématoxyline de Groat pendant 2 sec.

*Rincer à l'eau courante pendant 3 minutes.

*Déshydrater dans de l'alcool (50°,70°,90°,100°).

*Mettre les lames dans du toluène ou xylène.

*Monter les lamelles à l'Eukitt.

ANNEXE BIOCHIMIE PLASMATIQUE

Tableau 1 : EVOLUTION DE L'HOMOCYSTEINEMIE [µmole/L]

MOYENNE	T0	T1	T2	T3
LOT1	5,28	5,70	5,87	6,13
LOT2	5,28	5,63	5,74	5,85
LOT3	5,28	8,55	10,47	15,66
LOT4	5,28	6,63	6,90	5,92
LOT5	5,28	8,41	9,72	5,70

ECART TYPE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,56	0,42	0,36	0,66
LOT2	0,56	0,89	0,41	1,30
LOT3	0,56	0,90	0,83	1,08
LOT4	0,56	0,59	0,45	0,29
LOT5	0,56	0,70	3,23	0,60

Tableau 2: EVOLUTION DE LA CHOLESTEROLEMIE [g/L].

MOYENNE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,57	0,75	0,59	0,52
LOT2	0,57	0,68	0,63	0,60
LOT3	0,57	0,58	0,64	0,95
LOT4	0,57	0,54	0,33	0,29
LOT5	0,57	0,68	0,54	0,50

ECART TYPE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,28	0,11	0,06	0,26
LOT2	0,28	0,18	0,08	0,19
LOT3	0,28	0,06	0,11	0,07
LOT4	0,28	0,06	0,05	0,05
LOT5	0,28	0,09	0,06	0,03

Tableau 3: EVOLUTION DE LA TRIGLYCERIDEMIE [g/L].

MOYENNE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,66	0,72	1,17	1,08
LOT2	0,66	0,64	0,67	0,67

LOT3	0,66	0,74	0,93	1,53
LOT4	0,66	0,60	0,55	0,53
LOT5	0,66	0,95	0,74	0,68

ECART TYPE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,03	0,13	0,58	0,20
LOT2	0,03	0,08	0,10	0,11
LOT3	0,03	0,04	0,05	0,04
LOT4	0,03	0,05	0,04	0,03
LOT5	0,03	0,04	0,10	0,10

Tableau 4: EVOLUTION DU HDL (g/ L).

MOYENNE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,15	0,17	0,15	0,16
LOT2	0,15	0,13	0,12	0,14
LOT3	0,15	0,11	0,10	0,07
LOT4	0,15	0,17	0,23	0,26
LOT5	0,15	0,13	0,14	0,16

ECART TYPE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,04	0,02	0,01	0,02
LOT2	0,04	0,02	0,02	0,02
LOT3	0,04	0,01	0,02	0,02
LOT4	0,04	0,02	0,03	0,02
LOT5	0,04	0,01	0,01	0,01

Tableau 5: EVOLUTION DU LDL (g/ L).

MOYENNE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,21	0,26	0,24	0,22
LOT2	0,21	0,23	0,22	0,21
LOT3	0,21	0,28	0,32	0,35
LOT4	0,21	0,24	0,21	0,19
LOT5	0,21	0,27	0,23	0,20

ECART TYPE	T0	T1	T2	T3
-------------------	-----------	-----------	-----------	-----------

LOT1	0,02	0,03	0,02	0,01
LOT2	0,02	0,03	0,02	0,01
LOT3	0,02	0,02	0,04	0,05
LOT4	0,02	0,02	0,03	0,04
LOT5	0,02	0,04	0,04	0,03

Tableau 6: EVOLUTION DU CRPus (mg/ L).

MOYENNE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,65	0,68	0,73	0,73
LOT2	0,65	0,66	0,72	0,65
LOT3	0,65	1,17	1,55	1,88
LOT4	0,65	0,68	0,71	0,63
LOT5	0,65	0,97	0,94	0,68

ECART TYPE	T0	T1	T2	T3
LOT1	0,09	0,12	0,14	0,12
LOT2	0,09	0,08	0,12	0,12
LOT3	0,09	0,19	0,32	0,09
LOT4	0,09	0,10	0,06	0,08
LOT5	0,09	0,08	0,09	0,14

Remarque:

Le nombre d'échantillons n'est pas représentatif suite à un manque de moyens.