



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée



N°

REF/ BIBLIO

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème:

Exploration de la variation des paramètres biochimiques antioxydants sériques lors des différentes pathologies chroniques

Présenté par:

M^{lle} AHLEM Mesnadi

M^{lle} FATIHA Merkhi

Devant le jury:

Mr. LAHMER. EM

M.A.A

Université de Tébessa

Président

Mme. LAHMER.BELGUENDOZ. K

M.A.A

Université de Tébessa

Rapporteur

Mr. GHRISSI. D

M.A.B

Université de Tébessa

Examineur

Date de soutenance: 30/05/2016

الغرض من هذا العمل تقييم قدرة مضادة

المرضى الذين يعانون من أمراض مزمنة مختلفة.

لهذا قمنا بإجراء دراسة 242 مريضا بالغا من كلا الجنسين يعانون من أمراض: السكتة الدماغية، مرض السكري (01)
(02) أمراض القلب ارتفاع ضغط الدم، الربو، السل، التهاب الكبد الوبائي، تليف الكبد والتصلب المتعدد.
تحليل نتائج البيوكيميائية، وجدنا زيادة كبيرة في حمض اليوريك في دم المرضى الذين يعانون من داء
. . . (2) ارتفاع ضغط الدم السكتة الدماغية . . . زيادات كبيرة في مجمو
البيليروبين المرضى الذين يعانون من داء السكري (1) السكتة الدماغية . التهاب الكبد الوبائي،
تليف الكبد والذين يعانون من مرض السل. مع زيادة كبيرة في مستويات البيليروبين المباشر .
المصل في جميع الأمراض التي شملتها . الألبومين . الغالبية
. . . . شاهدة باستثناء المصابين بالتهاب الكبد الوبائي وتليف الكبد . و أيضا .
شواهد مستويات عالية من النترت مع زيادة طفيفة في البروتينات الكلية والمؤكسد
نتائجنا تشير إلى وجود حالة من الإجهاد التأكسدي . المرضى الخاضعين للدراسة وأن مضادات الأكسدة في
ستجيب بشكل مختلف في أمراض مختلفة.

الكلمات المفتاحية : الإجهاد التأكسدي، أمراض مزمنة، بيليروبين، حمض اليوريك، ألبومين.

The purpose of this work was to evaluate serum antioxidant capacity in patients with various chronic diseases. For this we conducted a study of 242 adult patients of both sexes with diseases: AVC, diabetes (01 and 02), heart disease, hypertension, asthma, tuberculosis, HCV, cirrhosis and multiple sclerosis.

From the analysis of the biochemical results, we found a significant increase in serum uric acid in patients with type 2 diabetes, hypertension, AVC, asthma and heart disease and significant increases in total bilirubin in patients with type 1 diabetes, AVC, heart disease, HCV, hypertension, cirrhosis and those with tuberculosis with a significant increase in serum levels of direct bilirubin in all diseases studied. Furthermore, a balanced rate of albumin was observed in the majority of patients compared to the control except those infected with HCV and cirrhosis. In parallel, the high levels of nitrites with a slight increase in total and oxidized proteins in patients were found compared to controls.

Our results indicate the presence of a state of oxidative stress in the patients studied and that serum antioxidant respond differently in different pathologies.

Key words: oxidative stress, chronic diseases, bilirubin, uric acid, albumin.

Le présent travail a pour but d'évaluer les capacités antioxydantes sériques chez des patients atteints de différentes maladies chroniques. Pour cela nous avons réalisé une étude sur 242 patients adultes des deux sexes atteints les maladies : AVC, diabète (01et 02), cardiopathie, HTA, asthme, tuberculose, HCV, sclérose en plaque et cirrhose.

A partir de l'analyse des résultats biochimiques, nous avons trouvé une augmentation de manière significative des taux sériques en acide urique, chez les patients atteints de diabète type 2, d'HTA, d'AVC, d'asthme et des cardiopathies et une augmentation significative en taux de bilirubine totale chez les patients atteints de diabète type 1, d'AVC, cardiopathies, d'HCV, d'HTA, de cirrhose de foie ainsi que ceux atteints de tuberculose avec une augmentation significative des taux sériques en bilirubine directe dans toutes les maladies étudiées. Par ailleurs, un taux équilibré de l'albumine a été observée chez la majorité des patients par rapport au témoin sauf ceux qui atteints de l'HCV et de la cirrhose de foie. En parallèle, des taux élevés des nitrites avec une augmentation légère des protéines totaux et oxydées chez les patients ont été retrouvé par rapport aux témoins.

Nos résultats indiquent la présence d'un état de stress oxydatif chez les patients étudiés et que les antioxydants sériques répondent différemment dans les différentes pathologies.

Les mots clé : stress oxydatif, les maladies chroniques, bilirubine, acide urique, albumine.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

A mes très chers parents pour leurs amour inestimable, leurs confiance, leur soutien et pour toutes les valeurs qu'ils m'ont inculqué.

A ma sœur Asma et son marié

A mes sœurs Amira et NADA

A mon frère Med Nacer

Pour leurs complicités et leur soutien moral.

A la petite Sirine

Ainsi qu'à ma Binome Fatima et sa famille

A mes amies Fatima, Aicha, Amel, Nessrine

*A tous mes amies et les étudiants du Biologie spécialement la
promotion de 2016-2017*

*A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond
de mon cœur et de ma pensée.*

AHLEM

Dédicaces

*A mes chers parents, pour leur amour, leur soutien et tous leurs
sacrifices*

A mes chères sœurs et mes chers frères

A mes grands-parents.

A mes tantes et mes oncles et mes cousins et cousines

A ma chère binôme Ahlem et sa famille

*A tous les étudiants du Biologie spécialement la promotion de
2015-2016*

*A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond
de mon cœur et de ma pensée.*

FATIHA

Remerciement

Avant toute chose, je remercie « Allah » pour m'avoir donné la force, la patience et le courage pour mener ce travail à son terme.

En préambule, je souhaite adresser tous mes remerciements aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Je tiens, à exprimer ma gratitude et mes remerciements à mon encadreur Mme. LAHMER BELGUENDOUCZ Karima.

Nous remercions les membres du jury: Mr LAHMER EM et Mr GHRISSI D pour l'intérêt et le temps qu'ils ont consacré à juger ce mémoire.

J'adresse une pensée particulière à Mr. ZOGHLAMI Tidjani (Chef de service de laboratoire des analyses médicales) au sein de l'EPH Bouguerra Boulaares Bekarría pour leurs gentillesse et leurs aides pour compléter mon travail. Nous tenons également à remercier leurs équipes pour tout son aide et Mr. DAHMEN Djamel Pour leurs conseils pendant notre période de stage

Merci infiniment ...

Absract	
Résumé	
Dédicace	
Remerciement	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	
Chapitre 01 stress oxydatif	
I- Radicaux libres	1
I-1- Définition	1
I-2- Les espèces réactives de l’oxygène (ROS)	1
I-2-1- Le radical superoxyde	2
I-2-2- Peroxyde d’hydrogène	2
I-2-3- Radical hydroxyl	2
I-3- Les espèces réactives non oxygénée	3
I-4- Origines cellulaire des espèces réactives de l’oxygène	3
II- Définition de stress oxydatif	4
II-1- Conséquences moléculaires du stress oxydatif	5
II-1-1- L’oxydation de l’ADN	6
II-1-2- L’oxydation des protéines	6
II-1-3- L’oxydation des lipides	7
Chapitre 02 Les Antioxydants	
I- Antioxydants	8
II- Défenses enzymatiques	9
II-1- La superoxyde dismutase (SOD)	9
II-2- La Catalase (CAT)	9
II- 3- La glutathion peroxydase (GPX)	9
III- Défense non enzymatique	10
III-1- Les antioxydants non enzymatiques hydrosolubles	10
III-1-1- Glutathion	10
III-1-2- Acide urique	10

III-1-3- Bilirubine	11
III-1-4- Albumine	12
III-2- Les antioxydants non enzymatiques liposolubles	13
III-2-1- La vitamine E	13
III-2-2- Les caroténoïdes	13
III-2-3- Les cofacteurs minéraux	14
Chapitre 03 Les pathologies liées au stress oxydatif	
I- Les pathologies liées au stress oxydatif	15
II-Stress oxydatif et maladies cardiovasculaires	16
II-1-Hypertension artérielle (HTA)	16
II-2-L'insuffisance cardiaque	17
II-3- diabète	17
II-4-L'athérosclérose	17
III-Stress oxydatif et maladies nerveux	17
III-1-La sclérose en plaques	18
IV- Stress oxydatif et maladies respiratoires	18
IV-1-Asthme	18
V-Stress oxydatif et maladies hépatique	18
Matériel et méthodes	
I- Matériels	20
I-1- Matériel biologique	20
I-1-1- Population d'étude	20
I-1-2- Prélèvement sanguin	20
I-2- Réactifs	20
I-2-1-Réactifs de dosage de l'acide urique	21
I-2-2-Réactifs de dosage de la bilirubine	21
I-2-3- Réactifs de dosage de l'albumine	21
II- Méthodes	21
II-1- Dosage sérique de l'acide urique	21
II-2- Dosage sérique de la bilirubine totale et directe	22
II-3- Dosage sérique de l'albumine	23
II-4-Dosage de nitrite	24
II-5-Dosage des protéines	25

II-6- Dosage de protéines oxydées	25
II-7- Analyse statistique des résultats	27
Résultat	
1-Dosage de l'acide urique	27
2-Dosage de la bilirubine Totale	32
3-Dosage de la bilirubine directe	37
4-Dosage de l'albumine	42
5-Dosage des nitrites	47
6-Dosage des Protéines	50
7-Dosage des protéines oxydées	53
Discussion	57
Conclusion	
Bibliographies	

Figure	Titre	Page
01	Principales voies de formation des espèces réactives de l'oxygène	01
02	Mode d'action des radicaux hydroxyls (addition sur doubles liaisons) avec une base de l'AND, la guanine	03
03	Représentation schématique de la chaîne respiratoire mitochondriale	04
04	Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant	05
05	Les principales cibles du stress oxydatif	06
06	Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydatif	08
07	Formule de l'AU	11
08	Formule de bilirubine	12
09	Formule de l' -tocophérol	13
10	ROs et ERNs produits lors de l'inflammation	16
11	Les conséquences secondaires d'un stress oxydatif	19
12	Courbe d'étalonnage des nitrites	24
13	Courbe d'étalonnage de protéines totale	25
14	Courbe d'étalonnage de protéines oxydée	26
15	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de diabète type 2 et des témoins	27
16	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints d'HTA et des témoins	28
17	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints d'AVC et des témoins	28
18	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints d'asthme et des témoins	29

19	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de cardiopathies et des témoins	29
20	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de tuberculose et des témoins	30
21	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints d'HCV et des témoins	30
22	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de diabète type 01 et des témoins	31
23	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de sclérose en plaque et des témoins	31
24	Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de cirrhose de foie et des témoins	32
25	Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète type 01 et des témoins	33
26	Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints d'AVC et des témoins	33
27	Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de cardiopathies et des témoins	34
28	Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints d'HCV et des témoins	34
29	Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints d'HTA et des témoins	35
30	Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de cirrhose de foie et des témoins	35
31	Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de tuberculose et des témoins	36
32	Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète type 02 et des témoins	36

33	Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints d'asthme et des témoins	37
34	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de diabète type 01 et des témoins	37
35	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints d'AVC et des témoins	38
36	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de cardiopathies et des témoins	38
37	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints d'HCV et des témoins	39
38	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints d'HTA et des témoins	39
39	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de cirrhose de foie et des témoins	40
40	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de sclérose en plaque et des témoins	40
41	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de diabète type 02 et des témoins	41
42	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de tuberculose par rapport aux témoins	41
43	Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints d'asthme par rapport aux témoins	42
44	Variation de taux de l'albumine des patients atteints d'HCV par rapport aux témoins	42
45	Variation de taux de l'albumine des patients atteints de cirrhose de foie par rapport aux témoins	43
46	Variation de taux de l'albumine des patients atteints de sclérose en plaque par rapport aux témoins	43

47	Variation de taux de l'albumine des patients atteints de cardiopathies par rapport aux témoins	44
48	Variation de taux de l'albumine des patients atteints d'asthme par rapport aux témoins	44
49	Variation de taux de l'albumine des patients atteints d'AVC par rapport aux témoins	45
50	Variation de taux de l'albumine des patients atteints d'HTA par rapport aux témoins	45
51	Variation de taux de l'albumine des patients atteints de diabète type 02 par rapport aux témoins	46
52	Variation de taux de l'albumine des patients atteints de diabète type 01 par rapport aux témoins	46
53	Variation de taux de l'albumine des patients atteints de tuberculose par rapport aux témoins	47
54	Variation de taux de nitrite des patients atteints de diabète type 01 par rapport aux témoins	47
55	Variation de taux de nitrite des patients atteints de diabète type 02 par rapport aux témoins	48
56	Variation de taux de nitrite des patients atteints de cardiopathies par rapport aux témoins	48
57	Variation de taux de nitrite des patients atteints d'asthme par rapport aux témoins	49
58	Variation de taux de nitrite des patients atteints d'AVC par rapport aux témoins	49
59	Variation de taux de nitrite des patients atteints d'HTA par rapport aux témoins	50
60	Variation de taux des protéines des patients atteints de diabète type 02 par rapport aux témoins	51

61	Variation de taux des protéines des patients atteints de cardiopathies par rapport aux témoins	51
62	Variation de taux des protéines des patients atteints de diabète type 01 par rapport aux témoins	52
63	Variation de taux des protéines des patients atteints d'AVC par rapport aux témoins	52
64	Variation de taux des protéines des patients atteints d'asthme par rapport aux témoins	53
65	Variation de taux des protéines des patients atteints d'HTA par rapport aux témoins	53
66	Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints d'HTA par rapport aux témoins	54
67	Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints de diabète type 02 par rapport aux témoins	54
68	Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints de cardiopathies par rapport aux témoins	55
69	Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints de diabète type 01 par rapport aux témoins	55
70	Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints d'AVC par rapport aux témoins	56
71	Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints d'asthme par rapport aux témoins	56

AOPP	Advanced Oxidation Protein Product
AU	Acide urique
AVC	Accidents cérébro-vasculaires
BD	Bilirubine directe
BT	Bilirubine totale
GP x	Glutathion Peroxydase
GSS	Glutathion réduit
GSSH	Glutathion oxydé
GST	Glutathion –S- transférase
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HCV	Hépatite C virale
HOCl	Acide hypochloride
HTA	Hypertension artérielle
LPS	Lipopolysaccharide
MDA	Malondialdéhyde
Mn-SOD	Superoxyde dismutase associée au manganèse.
MPO	Méthylperoxydase
NADPH	Nicotinamide-adéninedinucléotide- Phosphate réduit.
NO	Monoxyde d'azote
NOS	NO Synthase
O₂^{o-}	Radical superoxyde (anion superoxyde)
OH^o	Radical hydroxyl
ONOO^o	Eroxydinitrite
ROS	ROS Radicaux libres oxygénés
SOD	Superoxyde dismutase.
SOD	Superoxydedismutase
T	Témoins
TBA	L'acide thiobarbiturique
TCA	Trichloroacétique
TNF-	facteur de nécrose tumorale

INTRODUCTION

Les radicaux libres sont des espèces chimiques à très forte réactivité, capables d'oxyder une très grande variété de biomolécules dans l'organisme (**Harman *et al.*, 1956**). L'organisme est doté de défenses intrinsèques dites anti-oxydantes, chargées de détruire les radicaux libres. On parle de stress oxydant lorsque la cellule ne parvient plus à gérer ces entités, c'est à dire lorsque le niveau de production des radicaux libres est excessif par rapport aux défenses, ou que les défenses sont insuffisantes par rapport à la quantité des radicaux libres (**Halliwell et Evans, 1999**).

Le stress oxydatif et l'inflammation sont deux processus étroitement liés (**Barhoumi, 2011**). L'augmentation de stress oxydatif provoque des lésions directes des molécules biologiques, telles que l'oxydation des acides nucléiques, des protéines, des lipides et des glucides. Ces processus d'oxydation accrue déclenchent la stimulation des macrophages et les autres cellules inflammatoires qui libèrent alors les médiateurs de l'inflammation (**Servais, 2002**). Ce stress oxydant est impliqué dans presque toutes les grandes pathologies de notre siècle (maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer).

Evaluer le stress oxydatif chez un individu consiste donc à estimer la production d'oxydants, évaluer les mécanismes de défense et enfin analyser les produits secondaires qui peuvent en résulter (**Morena *et al.*, 2002**). Les défenses antioxydantes reposent sur deux systèmes l'un enzymatiques et l'autre non enzymatique. Parmi les antioxydants non enzymatiques, on retrouve principalement le glutathion réduit (GSH), l'acide urique, la bilirubine et la vitamine E (**Morena *et al.*, 2002**).

Dans notre étude, nous avons évalué les capacités anti oxydantes sériques chez les patients atteints des maladies chroniques. Pour cela, nous avons en premier lieu évalué les marqueurs du stress oxydatif (nitrites, protéine totaux et oxydées) puis réalisé le dosage des paramètres biochimiques antioxydants sériques (l'acide urique, l'albumine, la bilirubine directe et totale) chez des patients atteints de différentes pathologies chroniques.

CHAPITRE 01 :
STRESS OXYDATIF

I- Radicaux libres

I-1- Définition

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (Jacques et André, 2004). Cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. Une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Martinez-Cayuela, 1995).

I-2- Les espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments, apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette transformation génère environ 2 % de molécules d'oxygène (Edeas, 2005). L'oxygène peut s'avérer délétère en raison de son caractère oxydant, il est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène (Figure 01) (Ichai et al., 2011).

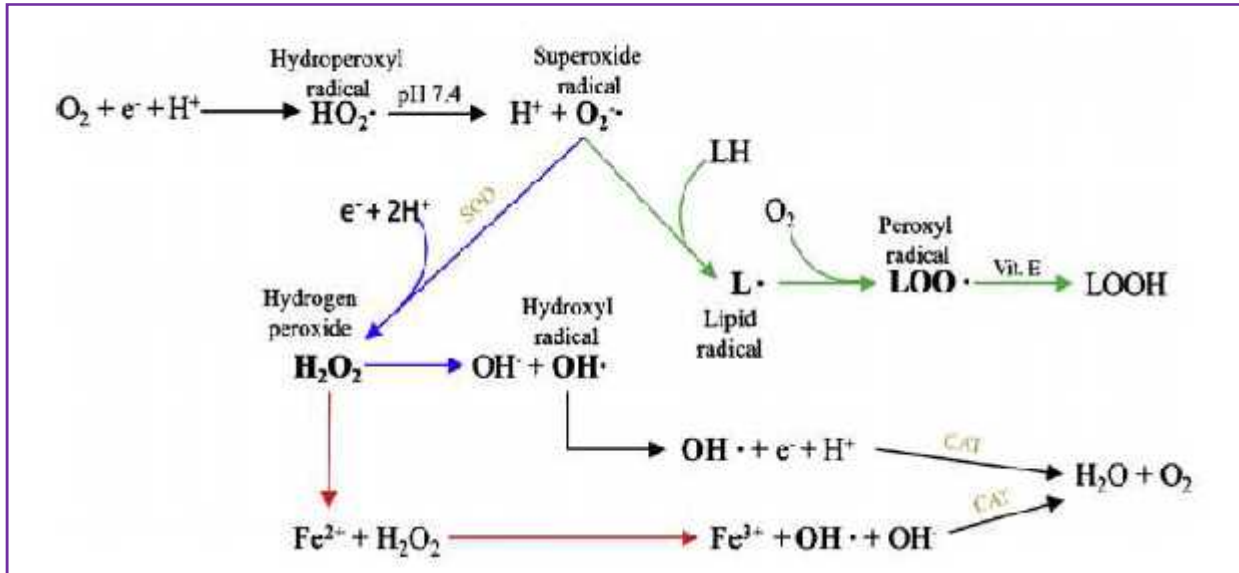


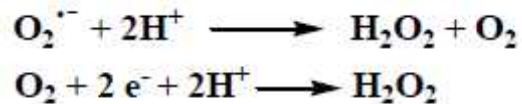
Figure 01: Principales voies de formation des espèces réactives de l'oxygène (Ichai et al., 2011).

I-2-1- Le radical superoxyde

Dans l'organisme une partie de l'oxygène moléculaire peut capter de manière univalente et séquentielle un électron, conduisant alors la formation du chef de file des ROS: l'anion superoxyde ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot-}$) (Al-Mamun *et al.*, 2007; Koechlin-Ramonatxo, 2006).

I-2-2- Peroxyde d'hydrogène

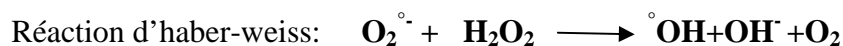
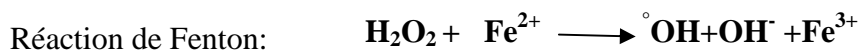
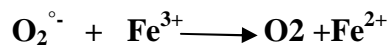
Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 peut être formé secondairement à la dismutation de ($O_2^{\cdot-}$) par la superoxyde-dismutase, ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases, notamment l'acyl CoA déshydrogénase, NADH déshydrogénase, la xanthine oxydase, l'uricase, la mono-amine-oxydase (Jadot, 1994).



Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) est également un agent oxydant très réactif, c'est pour cela qu'on l'utilise souvent comme désinfectant et comme agent de blanchiment. S'il n'est pas rapidement détruit, il peut se décomposer et produire des radicaux hydroxyles qui s'attaquent aux macromolécules de la cellule (Karp, 2010).

I-2-3- Radical hydroxyl

Il est produit principalement à partir de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en présence d'ions ferriques au cours de la réaction d'Haber-Weiss



Le radical hydroxyle possède une très grande réactivité dans les milieux biologiques, pouvant se combiner avec de nombreuses molécules, avec une constante de vitesse de l'ordre de 10^9 à $10^{10} M^{-1}.s^{-1}$. Il est capable de réagir avec les composants cellulaires par échange d'électron, addition sur les doubles liaisons ou arrachement d'un atome d'hydrogène (figure 02). Le radical hydroxyle est donc un oxydant très puissant, constituant certainement le

radical libre le plus toxique en biologie et serait à l'origine de la production des radicaux libres secondaires, suite à sa réaction avec différents composés cellulaires (Lacolley, 2007).

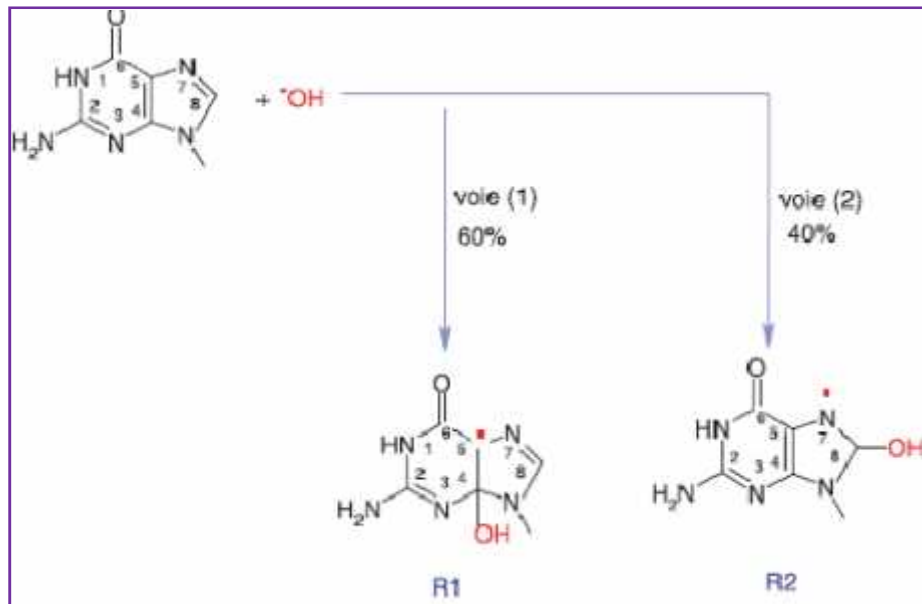


Figure 02: mode d'action des radical hydroxyle (addition sur double liaison)
(albert *et al.*, 2003)

I-3- les espèces réactives non oxygéné

Les espèces réactives de l'oxygène comprennent non seulement les radicaux libres oxygénés mais aussi les radicaux libres dérivant d'autres espèces que l'oxygène, par exemple l'acide hypochloreux (HClO), le monoxyde d'azote NO° qui se combine aisément avec le O_2° pour former le peroxynitrite (ONOO^-) (Moussard, 2006) .

I-4- Origines cellulaire des espèces réactives de l'oxygène

Les mitochondries sont des organites présents dans le cytoplasme de toutes les cellules eucaryotes. Elles constituent un système de transport énergétique au cours duquel l'énergie chimique contenue dans les aliments est transformée par phosphorylation oxydative en liaisons phosphate à haute énergie (ATP) (De Robertis et De Robertis, 1983).

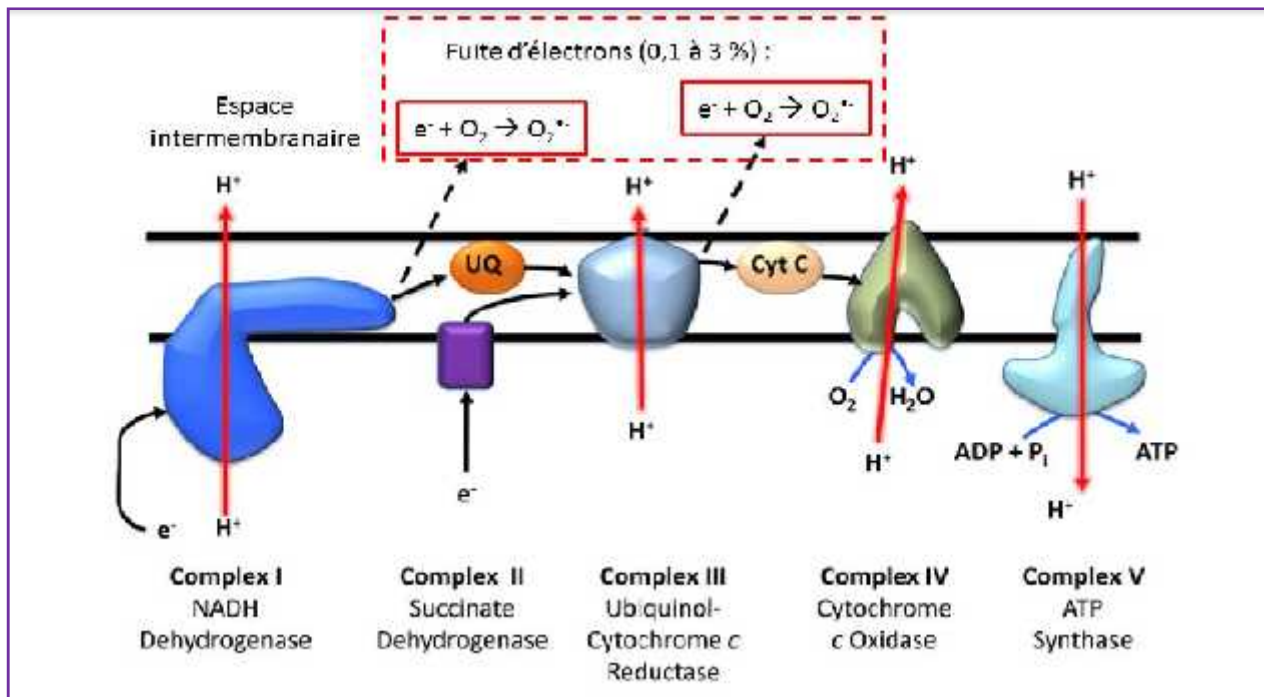


Figure 03: Représentation schématique de la chaîne respiratoire mitochondriale (De Robertis et De Robertis, 1983).

La mitochondrie est le siège majoritaire de la synthèse des radicaux superoxydes (Guidot *et al.*, 1995; Turrens, 1997). Durant la respiration, quatre électrons sont ajoutés à l'oxygène par le complexe IV de la chaîne respiratoire. Cependant l'oxygène peut être réduit en formant des espèces réactives de l'oxygène telles que l' $O_2^{\cdot -}$ et HO^{\cdot} (Figure 03) (Lacolley, 2007).

II-Définition de stress oxydatif

Le stress oxydatif est une circonstance anormale que traversent parfois les cellules ou un les tissus, lorsqu'ils sont soumis à un déséquilibre entre la production des radicaux libres ou pro-oxydants et les systèmes de défenses antioxydantes (Figure 04), ce qui produit des dégâts tissulaires à travers les modifications oxydatives des biomolécules cellulaires (Gammoudia *et al.*, 2013). Comme exemple, l'exposition chronique au stress oxydatif peut favoriser l'apparition de cancers et maladies cardiovasculaires (Favier, 2006; Nkhili, 2009).

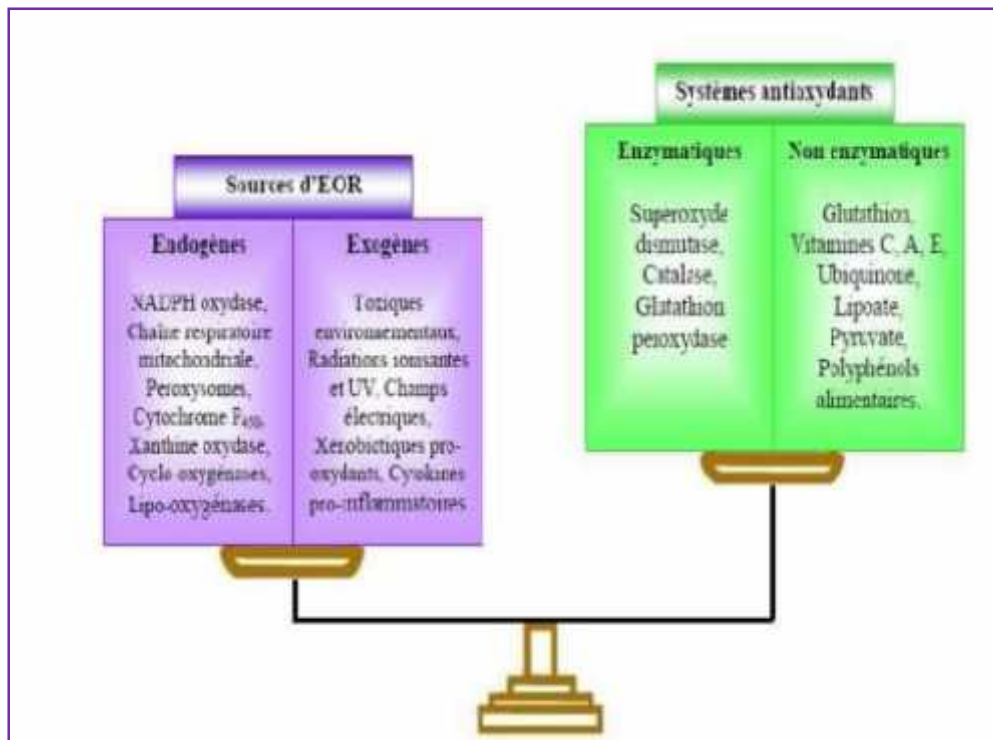


Figure 04: Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant
(Gammoudia *et al.*, 2013)

II-6- Conséquences moléculaires du stress oxydatif

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes des molécules biologiques : l'oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003). Les principes cibles radicalaires sont résumés dans la figure (figure 05).

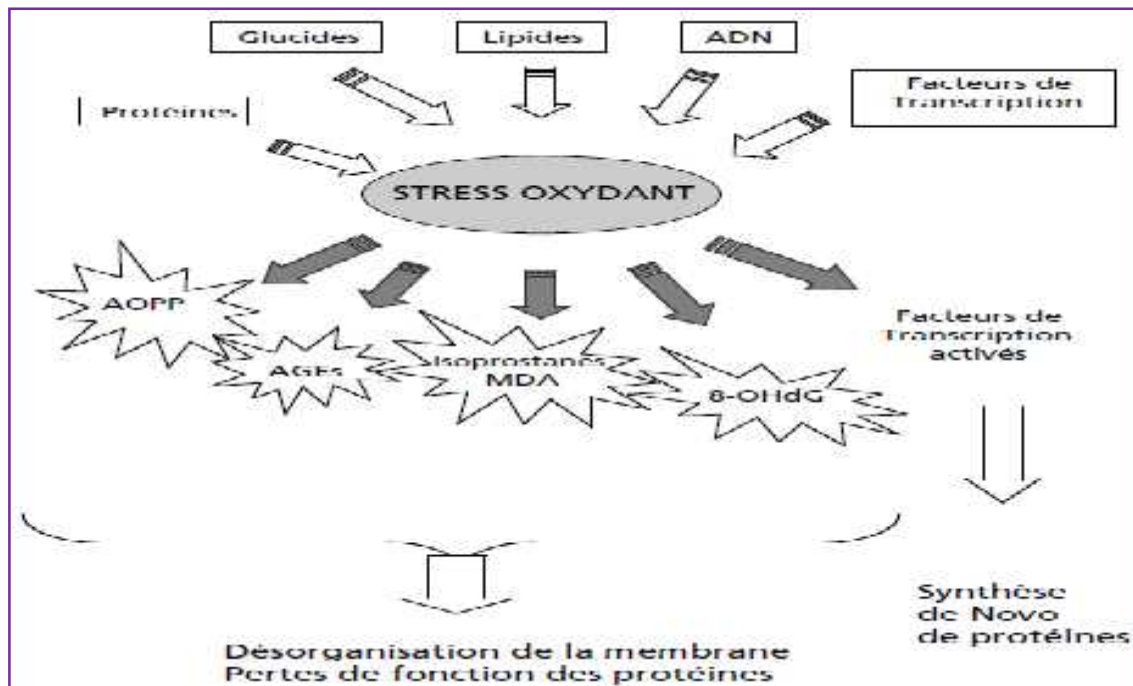


Figure 05: Les principes cibles du stress oxydatif (morena et al,2002)

II-6-1- L'oxydation de l'ADN

Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. (Krippeit-Drews *et al.*, 1994). L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, ce qui donne naissance à un grand nombre de bases modifiées.

Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine ou éthéno dérivés.

Les radicaux libres peuvent aussi attaquer les protéines qui sont très nombreuses à entrer en contact avec l'ADN pour le protéger (histones), ou pour le lire (enzymes et facteurs de la réplication ou de la transcription), entraînant des pontages des protéines. Comme ils peuvent aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin (Favier, 2003; Rehman *et al.*, 1999).

II-6-2- L'oxydation des protéines

L'action des radicaux libres sur les chaînes latérales de certains acides aminés comme le thiol des cystéines. A proximité des sites de liaison d'ions métalliques, peuvent se dérouler

des réactions d'oxydation qui produisent des acides aminés anormaux. Les radicaux libres sont également responsables de la formation de ponts disulfures, qui modifient la conformation des protéines et leur activité biologique (activité enzymatique, transduction d'un signal ou système de transport).

II-6-3- L'oxydation des lipides

Les lipides et principalement les acides gras polyinsaturés, sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle, capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydée en radical peroxy. Cette réaction appelée peroxydation lipidique se déroule en plusieurs étapes.

)L'initiation

Dans cette étape, un acide gras polyinsaturé est attaqué au niveau d'un carbone situé entre deux doubles liaisons par un radical hydroxyle avec arrachement d'un atome d'hydrogène qui laisse un électron non apparié, L'acide gras subira alors une réarrangements des doubles liaisons.

)La stabilisation

Dans l'étape de la stabilisation, il se produit une formation d'un diène conjugué RO_2° par coordination avec une molécule d'oxygène.

)La propagation

Les alkoxy et peroxy-radicaux propagent l'oxydation par l'intermédiaire de RO_2° (Jacques et André, 2004).

)La terminaison

Les hydroperoxydes subissent plusieurs transformations, ils sont soit réduit par la glutathion peroxydase ou l'oxydation continue et dans ce cas ils se fragmentent en aldéhydes toxiques. Cette réaction en chaîne se termine soit par l'intervention d'un composé antioxydant ou par l'interaction de deux radicaux pour former une molécule stable (Hennebelle *et al.*, 2004; Jacques et André, 2004).

*CHAPITRE 02 : LES
ANTIOXYDANTS*

I- Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir des concentrations non cytotoxiques des ROS au niveau de la cellule (Favier, 2003). Les antioxydants peuvent empêcher ou retarder les processus d'oxydation causés par les radicaux libres et ROS (Hansford *et al.*, 1997). Ils ont la capacité d'éliminer les effets néfastes des radicaux libres dans les tissus. Ils sont donc censés pour protéger contre le cancer, les maladies cardiaques et plusieurs autres maladies (Bandyopadhyay *et al.*, 2007). Les défenses antioxydantes reposent sur des systèmes enzymatiques : superoxyde dismutases (SOD), catalases et glutathion peroxydases et non enzymatiques comme les vitamines C et E, les polyphénols (Leverve, 2009). Aussi, le maintien de ces systèmes enzymatiques nécessite la présence d'un certain nombre d'oligoéléments: cuivre, manganèse, zinc et sélénium (Jacotot, 1994). Les stratégies de défense vis-à-vis du stress oxydant sont variées (figure 06).

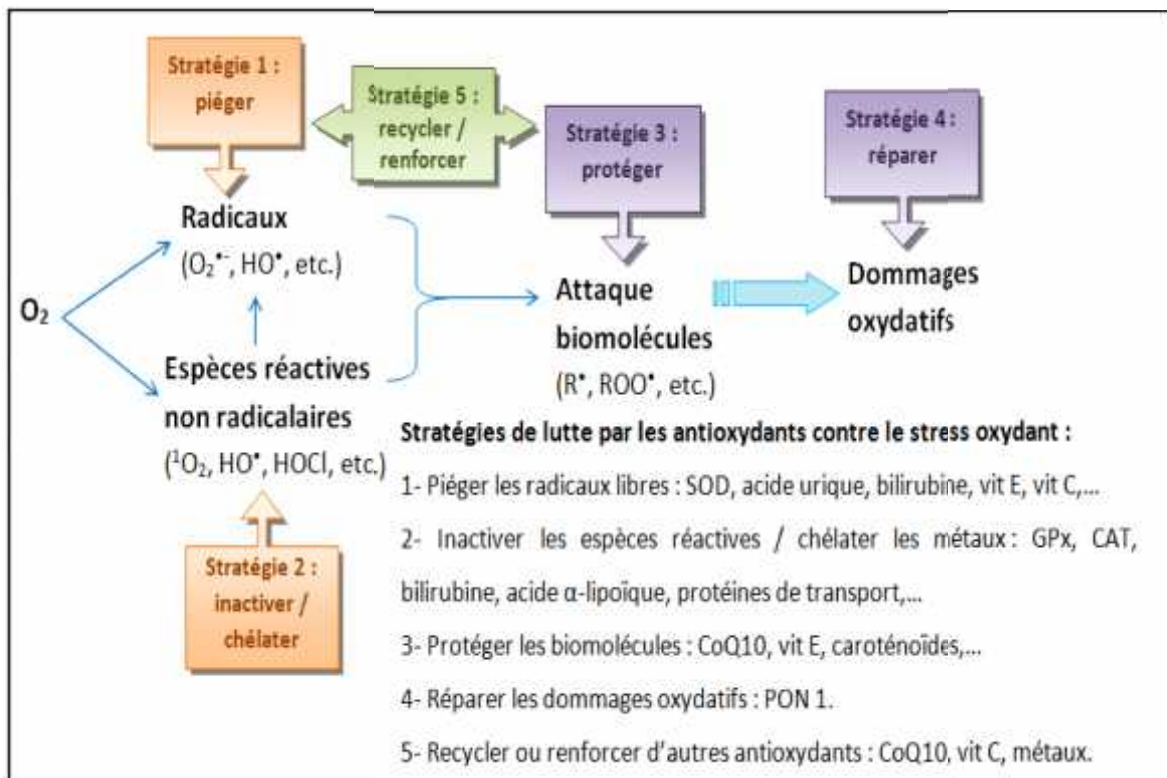


Figure 06 : Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydatif (Grandjean, 2005).

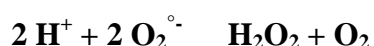
II- Défenses enzymatiques

Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal (homéostasie physiologique), elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser.

II-1- La superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (**Rahman, 2007**), elle est répandue dans la nature dans les organismes eucaryotes et procaryotes (**Ratnam et al., 2006**). Il existe trois types de SOD : la Cu/Zn-SOD cytosolique, la Mn-SOD mitochondriale et la Cu/Zn-SOD extracellulaire (**Zelko et al., 2002**). Chez l'homme, les plus hauts niveaux de la superoxyde dismutase se trouvent dans le foie (**Scheibmeir et al., 2005**).

La SOD convertit le superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante (**Matès et al., 1999 ; Matès, 2000**).



II-2- La Catalase (CAT)

La catalase se trouve dans les peroxysomes essentiellement. Elle assure la transformation de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en eau et dioxygène, pour lequel elle a une moins forte affinité que la GPX. Elle fonctionne avec un cofacteur : le fer (**Tessier et Marconnet, 1995**). Là encore des concentrations plus élevées en CAT ont été retrouvées dans les fibres musculaires oxydatives (**Powers, Criswell et al., 1994**).

II-3- La glutathion peroxydase (GPX)

Les enzymes de cette famille sont sélénium (Se)-dépendante, la glutathion peroxydase (GPX) est présente dans le cytoplasme où elle joue un rôle majeur dans la régulation de l'état redox physiologique intracellulaire des cellules vasculaires. Elle catalyse la réduction des hydroperoxydes (H_2O_2), en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'hydrogène (**Powers, Criswell et al., 1994**).



III- Défense non enzymatique

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules pro-oxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition, empêchant ainsi la réaction de Fenton. Ce type d'antioxydants regroupe un grand nombre de substances hydrophiles ou lipophiles et ils sont produits par l'organisme au cours de processus biosynthétiques.

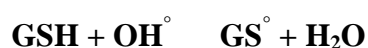
Le nombre d'antioxydants produits *in vivo* est très limité ; on peut citer parmi les plus actifs : le glutathion (**Piquet et Hébuterne, 2007**), le NADPH, les dipeptides (**Boldyrev, 1993**), l'acide urique (**Ames et al., 1996**), l'acide lipoïque (**Packer et al., 2001**), la bilirubine (**Stocker et al., 1987**). Le taux de ce système de défense dans l'organisme est essentiellement assuré par un apport alimentaire.

III-1-Les antioxydants non enzymatiques hydrosolubles

Ces antioxydants sont répartis dans le cytosol et le milieu extracellulaire. On y retrouve : le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, l'albumine et la vitamine C.

III-1-1- Glutathion

Le glutathion est le thiol le plus abondant dans les systèmes biologiques. Il est antioxydant par son caractère nucléophile et radicalaire : (**Baudin, 2006**)



III-1-2- Acide urique

L'acide urique (AU) est avant tout le produit de dégradation et d'excrétion des purines telles que l'adénine et la guanine de l'ADN ou de l'ARN. C'est donc un déchet du métabolisme protéinique. Cet acide provient également de la digestion de certains aliments riches en acides nucléiques (foie, ris de veau, certains poissons et volailles).

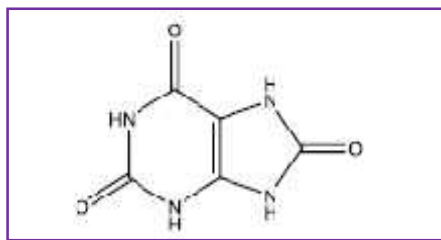
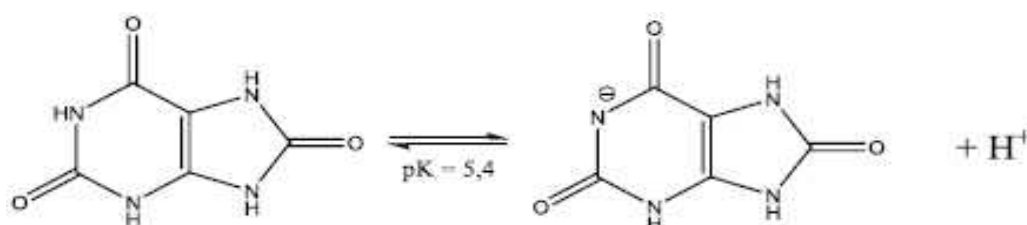


Figure 07 : Formule de l'acide urique

L'AU doit donc être filtré par les reins et éliminé via les urines. De cette façon, l'uricémie (taux d'AU dans le sang) peut être maintenue dans des limites acceptables dans l'organisme.

Dans le sang, au pH physiologique, l'AU est sous forme de sel soluble (urate) de formule $C_5H_3N_4O_3$, Cet équilibre acido-basique a pour pKa 5,4 (**Haleng et al., 2007**)



Acide urique et stress oxydant

L'AU joue un rôle important dans le système antioxydant, Il apparaît comme étant l'antioxydant plasmatique le plus réactif avec les ROS, contribuant à lui seul à 60 % de la capacité antioxydante du plasma grâce à sa concentration élevée (**Zhao et al., 2009**).

Toutefois, les produits d'oxydation comme l'allantoïne ou l'urée, peuvent facilement s'oxyder en générant à leur tour des espèces toxiques de l'oxygène.

Des scientifiques japonais ont mis en exergue la capacité de l'AU à stopper les réactions d'oxydation en chaîne des lipides, en réagissant avec les radicaux lipidiques formés (**Patterson ,2009**). L'AU réagit également avec les radicaux OH° et ROO° (**Ahmad, 1995**).

III-1-3-la Bilirubine

La bilirubine est le produit final de la dégradation de l'hème de plusieurs protéines hémiques d'intérêt biologique comme l'hémoglobine des hématies et la myoglobine des

muscles. Transportée dans le sang, la bilirubine est conjuguée dans le foie et excrétée dans la bile où elle quitte l'organisme (Paredi *et al.*, 2002).

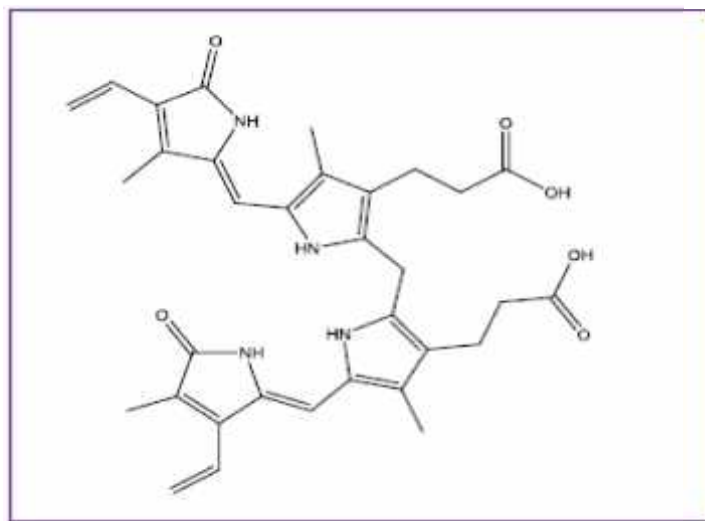


Figure 08 : Formule de bilirubine

L'hème oxydase (HO) est une enzyme retrouvée dans le réticulum endoplasmique, catalysant la dégradation de l'hème en biliverdine et libérant du fer à l'état ionique Fe^{2+} et du monoxyde de carbone (CO). La biliverdine est ensuite transformée en bilirubine grâce à la biliverdine réductase (Halliwell et Gutteridge, 2008) (Paredi *et al.*, 2002).

La bilirubine est fortement liée aux protéines et lipoprotéines plasmatiques et potentialise la défense antioxydante sanguine (notamment avec l'albumine). *In vitro*, on a montré que la bilirubine avait de puissantes propriétés antioxydantes envers plusieurs espèces réactives comme le peroxyde d'hydrogène, les radicaux peroxy et alkoxy, ainsi que l'oxygène singulet (Halliwell et Gutteridge, 2008) (Paredi *et al.*, 2002). La bilirubine joue un rôle dans la protection des membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique (notamment des cellules sanguines) et des protéines plasmatiques ; certains auteurs pensent que la bilirubine serait un antioxydant efficace de l'oxydation protéique médiée par le peroxyde d'hydrogène et pourrait être plus efficace encore que la vitamine E dans la prévention de la peroxydation lipidique (Paredi *et al.*, 2002).

III-1-4- L'albumine

L'albumine est une protéine plasmatique chargée négativement pouvant fixer les ions cuivre et de fer présents dans le sang. Son importance est également liée à sa forte

concentration dans le sang. C'est aussi une protéine sacrificielle qui est rapidement dégradée par des ROS comme l'ion hypochlorite ClO^- ou l'ion peroxy-nitrite ONOO^- . Elle est également très liée à la bilirubine, potentialisant ses effets antioxydants dans le sang (Villasante *et al.*, 2010).

L'albumine neutralise les activités néfastes de certains agents exogènes et endogènes par séquestration, grâce à son affinité pour ces derniers et diminuant ainsi leur effet toxique dans l'organisme (Roche *et al.*, 2008). C'est le cas de la bilirubine qui est un produit de dégradation de l'hémoglobine et qui peut être fortement toxique pour l'organisme lorsqu'elle se trouve à l'état libre. L'albumine va se fixer à la molécule de bilirubine pour inhiber son effet toxique mais aussi pour permettre son acheminement vers le foie où elle va être conjuguée à un acide glucuronique et devenir inoffensive (Sedlak *et al.*, 2009)

III-2- Les antioxydants non enzymatiques liposolubles

Ils se répartissent au sein des membranes cellulaires. On trouve dans cette catégorie : la vitamine E, les caroténoïdes, et l'ubiquinol.

III-2-1- La vitamine E

L'appellation Vitamine E est un terme générique qui regroupe tous les tocophérols et tocotriénols, dont on dénombre 8 espèces. Le plus abondant est l' α -tocophérol (figure 09) (M. W. Yu *et al.*, 1994).

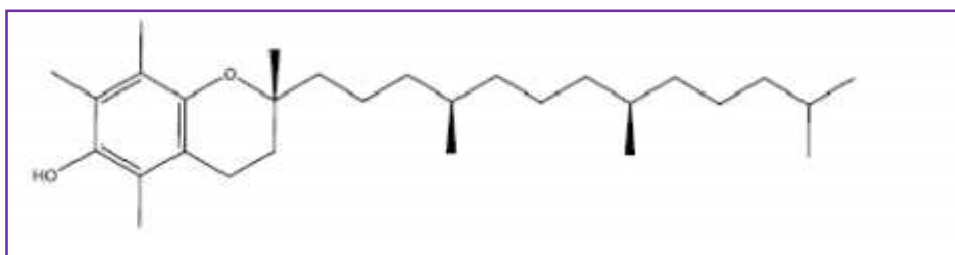


Figure 09 : Formule de l' α -tocophérol (M. W. Yu *et al.*, 1994).

La Vit E est le principal antioxydant des membranes cellulaires à forte teneur lipidique. Elle a pour principal effet de réagir avec les radicaux peroxydes, arrêtant ainsi la chaîne d'oxydation lipidique (Herrera *et Barbas*, 2001).

III-2-2- Les caroténoïdes

Ils sont majoritairement représentés par le β -carotène, appelé aussi provitamine A. Du fait de leur faible concentration dans l'organisme, Le β -carotène désactive l'oxygène singulet, et piège les radicaux peroxydes ROO° (Krinsky, 1989).

III-2-3- Les cofacteurs minéraux

Certaines enzymes antioxydantes de l'organisme ne sont fonctionnelles que si l'oligoélément est présent : le zinc (dans la SOD1), le manganèse (dans la SOD2), le fer (dans la catalase), le cuivre (dans la SOD1) ou encore le sélénium (dans la glutathion peroxydase). On reviendra sur deux d'entre eux dans les lignes qui suivent, le zinc et le sélénium.

) Le zinc

En plus de son rôle de cofacteur dans la SOD1, on suggère souvent que le zinc (qui n'est pas un élément de transition) pourrait agir comme antioxydant en déplaçant le fer (particulièrement ionique) des sites de fixation, inhibant alors la synthèse d'espèces réactives rendue possible ou facilitée par sa présence.

) Le sélénium

Le sélénium n'est pas un anti-oxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx. Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx. (Halliwell et Gutteridge, 2008).

*CHAPITRE 03 : LES
PATHOLOGIES LIÉES
AU STRESS
OXYDATIF*

I- Les pathologies liées au stress oxydatif

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre entre la production de radicaux libres principalement les ROS et leur destruction par des systèmes de défenses cellulaires antioxydants endogènes avec comme conséquences des altérations du fonctionnement cellulaire. A faibles concentrations, ces espèces radicalaires ou réactives sont impliqués dans un grand nombre de processus physiologiques tels que la modulation de la croissance cellulaire (différentiation, prolifération) et des réactions inflammatoires ou encore la signalisation cellulaire. A concentrations plus élevées, elles peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire qui se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN et de protéines, la peroxydation des lipides ou encore la perturbation de l'homéostasie du calcium intracellulaire. Afin de s'en protéger, la cellule a mis en place des systèmes de défense. S'ils sont dépassés ou inefficaces, un déséquilibre se produit en faveur des radicaux libres, il y a alors le stress oxydatif pathologique pour les cellules et les tissus. **(Becker, 2004; Droge, 2002).**

Les mécanismes à l'origine de la surproduction d'ROS sont initiés par des cytokines produites lors de l'inflammation et les cellules phagocytaires en sont les principales productrice même si les cellules endothéliales, les fibroblastes et les chondrocytes peuvent également produire des ROS. De plus, il a été montré que les ROS interviennent dans la régulation de l'inflammation par la stimulation de la synthèse de molécules d'adhérence et de médiateurs de l'inflammation. Cette surproduction d'ROS est directement lié au phénomène d'explosion oxydative et permet la destruction des agents pathogènes phagocytés. Rappelons la MPO est au centre des processus inflammatoires dans lesquels interviennent les neutrophiles. Cependant, elle peut être délétère pour les cellules phagocytaires et le tissu environnant lorsque les ROS traversent les membranes ou sont relâchés avec les déchets de la phagocytose **(Jung-bluth, 2008).**

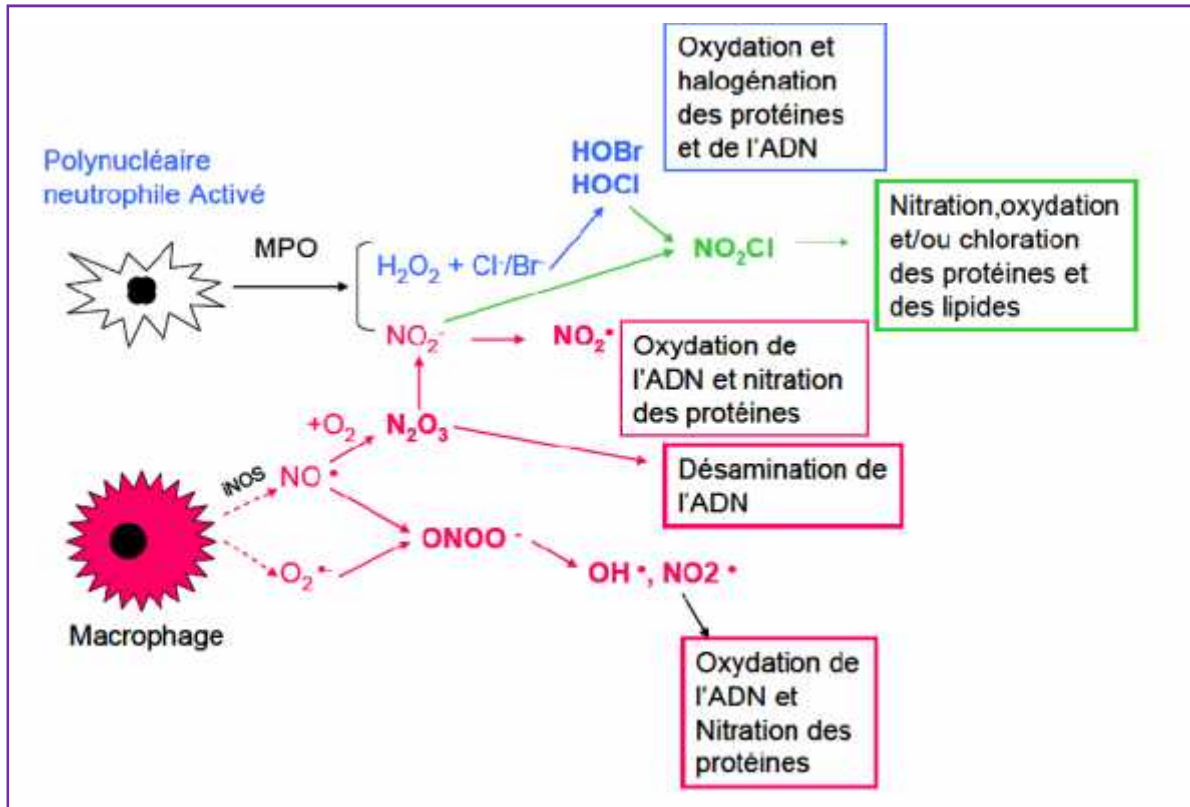


Figure 10 : ROSs et ERNs produits lors de l'inflammation (Jung-bluth, 2008).

II- Stress oxydatif et maladies cardiovasculaires

Le stress oxydatif joue un rôle important dans les maladies cardiovasculaires comme l'hypertension artérielle, le diabète, les accidents cérébro-vasculaires et l'insuffisance cardiaque, l'athérosclérose.

II-1- Hypertension artérielle (HTA)

L'augmentation du stress oxydatif pourrait jouer un rôle important dans l'élévation de la pression artérielle (Meng *et al.*, 2003; Meng *et al.*, 2002; Tian *et al.*, 2005) et l'installation de l'HTA dans diverses situations pathologiques comme l'insuffisance rénale chronique (IRC), le diabète et le syndrome métabolique. Elle peut également être associée à l'HTA induite par l'inhibition de la NOS (Vaziri *et al.* 2005). Inversement, l'élévation de la pression artérielle provoque un stress oxydatif (Barton *et al.* 2001; Griendling *et al.* 2000). Ces observations suggèrent que le stress oxydatif est impliqué dans un cercle vicieux dans la pathogénèse de l'HTA (Vaziri, 2008).

II-2- L'insuffisance cardiaque

Des études ont montré que le stress oxydatif était accru lors de pathologies cardiaques et plus précisément lors d'insuffisance cardiaque. Une production chronique d'ROS au sein de la mitochondrie des cellules cardiaques provoque des dégâts sur l'ADN mitochondrial et l'accumulation de mutations induit des dommages cellulaires aboutissant à des remodelages cardiaques importants. Ces processus interviendraient dans certaines pathologies cardiaques comme les cardiomyopathies hypertrophiques, les cardiomyopathies dilatées, les blocs de conduction (Tsutsui, 2001).

II- 3- diabète

Les complications du diabète sont fortement liées à certain nombre de facteurs. A coté de l'hyperglycémie chronique et la glycation non enzymatique des protéines, un facteur très important impliqué dans la genèse de ces complications est le stress oxydatif (Guerci *et al.*,2001 ;Punitha *et al.* ,2005). En effet, le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités d'espèces oxygénées activées dont font partie les radicaux libres ($O_2\cdot$, $OH\cdot$... le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet). Le patient diabétique présente une surproduction des ROS d'une part et d'autre part, une diminution des antioxydants, ce qui génère un état de stress oxydatif (Huang *et al.*, 2004; Pincemail *et al.*, 1999).

II-4- L'athérosclérose

Le processus de stress oxydatif sont directement impliqués dans la pathogénie de cette maladie une surproduction d'ROS (due à une hypertension, une hypercholestérolémie, un diabète, au tabagisme, etc) intervient dans l'activation des cellules impliquées dans l'athérosclérose, dans la formation et dans la progression de la lésion (on pourra citer l'intervention de la NADPH oxydase vasculaire par exemple) (Beaudeau *et al.*, 2006).

III- Stress oxydatif et maladies nerveux

Le système nerveux central est particulièrement vulnérable au stress oxydatif dans la mesure où il consomme un tiers de l'oxygène. La production de radicaux libres par les cellules du système immunitaire permet de lutter contre les agents pathogènes. La microglie, une fois activée, synthétise du monoxyde d'azote (NO°), des anions suroxydes ($O_2^{\circ-}$) et du prosoxynitrite ($ONOO^{\circ-}$) qui peuvent entraîner la mort des cellules saines avoisinantes par

apoptose. La contribution de ces radicaux dans la mort neurale au cours des pathologies dégénératives du SNC semble considérable (**Godbout., et al 2004**).

III-1- La sclérose en plaques

Les radicaux libres peuvent être importants dans la pathogénie dans la sclérose en plaque. Les ROS produits par les macrophages ont été impliqués comme les médiateurs. De plus, les radicaux libres peuvent activer des certains facteurs de transcription, qui régule l'expression de beaucoup de gènes impliqués dans la sclérose en plaque. (**Leppert et al., 1995 ; Merrill, et al., 1997 ; Romanic , et al., 1994**).

IV - Stress oxydatif et maladies respiratoires

IV -1- Asthme

Le stress oxydatif est augmenté dans les voies aériennes chez les asthmatiques Des études ont montré que les ROS sont associé à la pathogénie d'asthme par évoquer une hyper réactivité bronchiale (**Cortijo et al., 1999; Sadeghi-Hashjin et al., 1996**). Ainsi des infections virales, l'ozone et la fumée de cigarette qui sont des déclencheurs potentiels de l'asthme, peuvent servir des sources de qui déclenchent l'inflammation et les symptômes d'asthme. D'autres études sur des animaux suggèrent que ROS peuvent contribuer à l'hyperactivité des voies aériennes en augmentant la tension vagale, due à l'inhibition de récepteurs adrénergiques , et diminuant le balayage mucociliaire (**Adam et al., 1999 ; Owen ,S et al. ,1991**). Les ROS sont capables de provoquer plusieurs caractéristiques patho-physiologiques de l'asthme, y compris :

-]Une libération élevée d'acide arachidonique.
-]La contraction de muscle lisse des voies aériennes.
-]L'augmentation de la réactivité et des sécrétions des voies aériennes.
-]L'augmentation de la perméabilité vasculaire.
-]L'augmentation de la synthèse de chimioattractants.
-]L'inhibition de récepteurs adrénergiques (**Adam.L et al.,1991**).

V- Stress oxydatif et maladies hépatique

L'expression des différentes protéines virales et l'infection chronique des hépatocytes par HCV ne sont pas sans conséquences sur la physiologie hépatique, contribuant ainsi au

développement d'une hépatite et à son évolution vers la fibrose, la cirrhose. Ces altérations de la physiologie hépatique incluent une augmentation du stress oxydatif, un stress du réticulum endoplasmique, des dysfonctions mitochondriales, une induction de l'autophagie et des dérégulations du métabolisme gluco-lipidique (Koike *et al.*, 2010; Sheikh *et al.*, 2008; Woodhouse *et al.*, 2010). Toutes ces altérations sont interdépendantes et participent à la pathogenèse virale, conduisant notamment au développement d'une stéatose, d'une fibrose (Levrros, 2006).

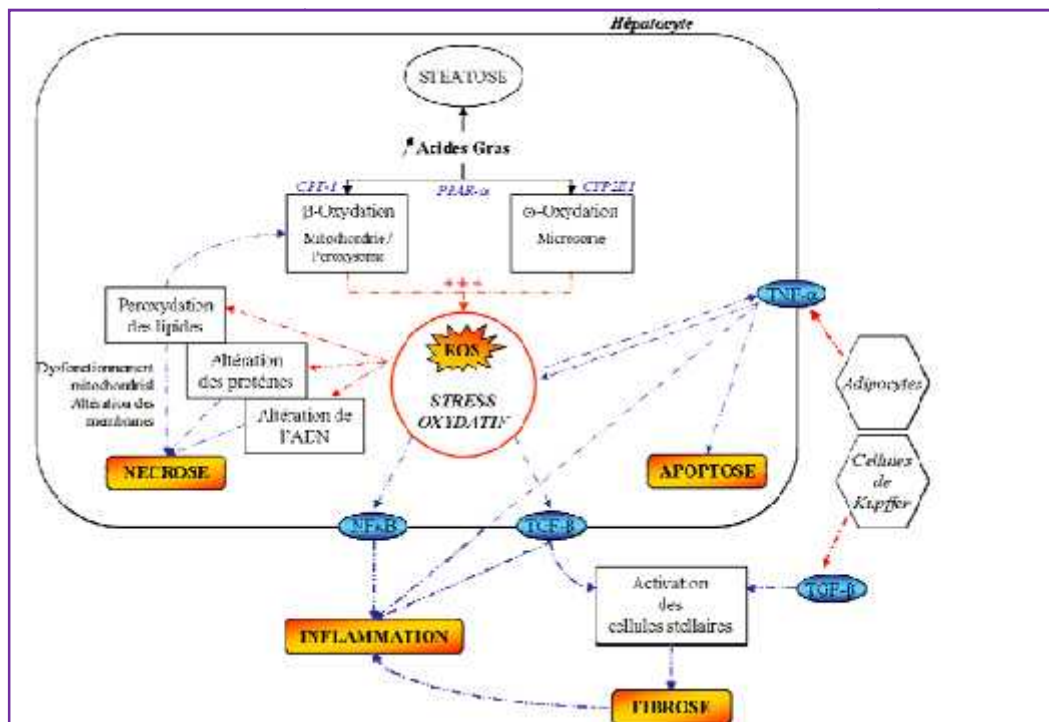


Figure 11 : Les conséquences secondaires d'un stress oxydatif (flèches bleues) sont pour la cellule : la nécrose, l'apoptose, l'inflammation et la fibrose. Les adipocytes et les cellules de Kupffer réagissent à l'état des hépatocytes en sécrétant des facteurs pro-inflammatoires (Levrros, 2006).

*MATERIELS ET
METHODES*

Matériels et méthodes

I. Matériels

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Population d'étude

Notre étude a été réalisée sur une période de 5 mois (de novembre 2015 à fin d'avril 2016). Nous avons travaillé sur 242 patients atteints de différentes maladies chroniques ainsi que 30 sujets sains (groupe témoin). Les deux sexes sont inclus. L'échantillon est constitué de manière aléatoire à partir des malades venu de régions différentes de la wilaya de Tébessa consultant au niveau des services de l'établissement hospitalière Bouguerra Boulaaress (Bakkaria). Les 242 patients étudiés ont été subdivisés en :

Type de maladies	AVC	Diabète type 01	Cardiopathies	Diabète type 02	HTA	Asthme	Tuberculose	HCV	Cirrhose de foie	Sclérose en plaque
Nbr de patients	43	41	36	34	43	14	13	09	06	06

I.1.2. Prélèvement sanguin

Pour réaliser un dosage des paramètres biochimique et sérique des patients, nous avons réalisé des prélèvements sanguins à partir des patients. Pour chaque patient, le prélèvement a été réalisé par ponction veineuse au pli du coude et à jeun sur tube sec utilisé pour le dosage. Le prélèvement sanguin a été centrifugé (Presvac DCS-16 RTV) pendant 5min à 3000 tours/min.

L'acide urique, la bilirubine totale et directe, ainsi que l'albumine, ont été dosés pour tous les 272 sujets au niveau du laboratoire d'analyses médicales de l'établissement hospitalière Bouguerra Boulaaras à l'aide d'une automate mindry BC.5300. Nous avons récupérés et ramenés au laboratoire de faculté des sciences de la nature et de la vie 102 sérums pour le dosage de nitrite, protéines totaux, et les protéines oxydées.

I.2. Réactifs

Nous avons utilisés les produits de « Sigma » pour le dosage des paramètres au niveau de laboratoire de la faculté.

Pour les paramètres dosés au niveau de laboratoire d'analyses médicales de l'établissement hospitalière Bouguerra Boulaaras, les réactifs sont des coffrets commercialisés de « Biomagreb » et nous avons suivi les instructions données par le fabricant. Ils contiennent en général les réactifs suivants :

I.2.1. Réactifs de dosage de l'acide urique

- Réactif 01 : Tampon phosphate pH 7,5 : 50 mmol/l, Acide 3-5-dichloro- 2-hydroxybenzène sulfonique : 2 mmol/l
- Réactif 02 : Amino4 antipyrine 0,23 mmol/l, Peroxydase > 660 U/l, Uricase > 60 U/l
- Etalon : n = 60 mg/l = (357 µmol/l)

I.2.2. Réactifs de dosage de la bilirubine

- Réactif 01 : Acide sulfanilique 5 g/l
- Réactif 02 : Nitrite de sodium 1 g/l
- Réactif révélateur 3 : Caféine 50 g/l, Acétate de sodium 125 g/l, Benzoate de sodium 75 g/l
- Réactif 04 : Tartrate de sodium et de potassium 1 75 g/l
- Etalon : titre donné par le fabricant n = X x mg/l

I.2.3. Réactifs de dosage de l'albumine

- Réactif 01 : Vert de Bromo-crésol 0,14 g/l, Tampon succinate 75 mmol/l, Bri 7 ml /l.
- Etalon : Albumine bovine 50 g/l.

II. Méthodes

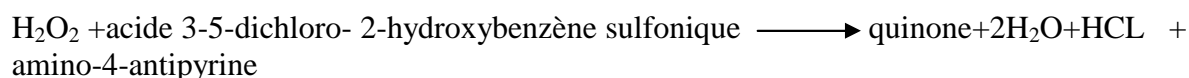
II.1. Dosage sérique de l'acide urique

➤ Principe

La détermination de l'acide urique par la méthode enzymatique se fait selon les réactions suivantes :



peroxydase



➤ **Mode opératoire**

Il faut s'assurer avant emploi que les réactifs et les échantillons sont à la température ambiante pendant 10 à 20 minutes.

- Longueur d'onde : 510nm (490à550 nm)
- Température d'incubation 37°C
- Zéro de l'appareil : blanc réactif
- Domaine de linéarité : jusqu'à 250mg/l
- Stabilité de la coloration : 30 minutes à 20°C-25°C ou 10 minutes à 37°C

Dissoudre le réactif 2 dans le réactif 1 pour obtenir la solution de travail.

	Blanc de reactif	Etalon de réactif	Echantillon
Echantillon	---	---	20µl
Etalon	---	20µl	---
Solution de travail	1 ml	1ml	1 ml

➤ **Calcul**

Résultat = (Abs de dosage * concentration de l'étalon)/ Abs de l'étalon

➤ **Valeurs normales**

Elles varient selon l'âge et le sexe.

Femme : 25 - 60 mg/l

Homme : 34-70 mg/l

II.2. Dosage sérique de la bilirubine totale et directe

➤ **Principe**

La bilirubine totale est dosée en présence de caféine selon une réaction de diazotation avec l'acide sulfanilique diazoté. Par ailleurs, le dosage de la bilirubine conjuguée (directe) se fait en absence de caféine.

➤ **Mode opératoire**

Il faut s'assurer avant emploi que les réactifs et les échantillons sont à la température ambiante pendant 10 à 20 minutes.

- Longueur d'onde ; 600 nm (Bilirubine totale) 530 nm (Bilirubine directe)
- Zéro de l'appareil : blanc échantillon
- Domaine de linéarité : jusqu'à 100 mg/l
- Stabilité de la coloration : 60 minutes à 20°C-25°C

Solution du travail (BT) : Mélange 20 volume de réactif 1 avec 1 volume de réactif 3, et la solution du travail (BD) : Mélange 20 volume de réactif 2 avec 1 volume de réactif 3.

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon R4	---	20 µl	---
Echantillon	---	---	20 µl
Réactif R1 pour la BT et réactif R2 pour la BD	1 ml	1 ml	1 ml
Réactif 03	50 µl	50 µl	50 µl

➤ **Calcul**

Résultat = (Abs de dosage * concentration de l'étalon) / Abs de l'étalon

➤ **Valeurs normales**

Bilirubine totale : 2-10 mg/l

Bilirubine directe : 0-2 mg/l

II.3. Dosage sérique de l'albumine

➤ **Principe**

Dosage colorimétrique de l'albumine sérique avec le vert de bromo-crésol, un complexe coloré se forme lorsque le vert de bromo-crésol réagit avec l'albumine.

➤ **Mode opératoire**

Le réactif est prêt à l'emploi et peut être placé directement sur l'appareil.

- Longueur d'onde 628 nm
- Température 20-25°C
- Zéro de l'appareil : blanc échantillon
- Stabilité de la coloration : 30mn

	Blanc	Etalon	Echantillon
Echantillon	---	---	10µl
Etalon (R2)	---	10µl	---
Réactif (R1)	2 ml	2 ml	2 ml

➤ **Calcul**

Résultat = (Abs de dosage * concentration de l'étalon) / Abs de l'étalon

➤ **Valeurs normales**

Albumine : 35-50 g/ml

II.4. Dosage de nitrite

➤ **Principe**

Le dosage des nitrites est basé sur la réaction de Griess qui à l'origine faisait réagir une première amine aromatique pour former un diazoïque, qui se couplait à une seconde amine aromatique pour former un colorant rose.

La sulfanilamide réagit avec les ions nitrites en milieu acide, pour former un diazoïque qui réagit alors avec le N-naphtyl-éthylénediamine, le composé formé absorbe à 543 nm.

➤ **Mode opératoire**

-)] On met 100 µl de sérum dans un tube puis on ajoute 50 µl de Griess 1 et 50 µl de Griess 2.
-)] Les tubes sont incubés pendant 10 minutes à 37 °C
-)] Centrifugation 10 minutes.
-)] La densité optique est mesurée au spectrophotomètre à 543 nm.

➤ **Calcul de la concentration de nitrite**

La concentration de nitrite dans les échantillons est déterminée par comparaison aux valeurs obtenues pour une courbe standard réalisée en parallèle.

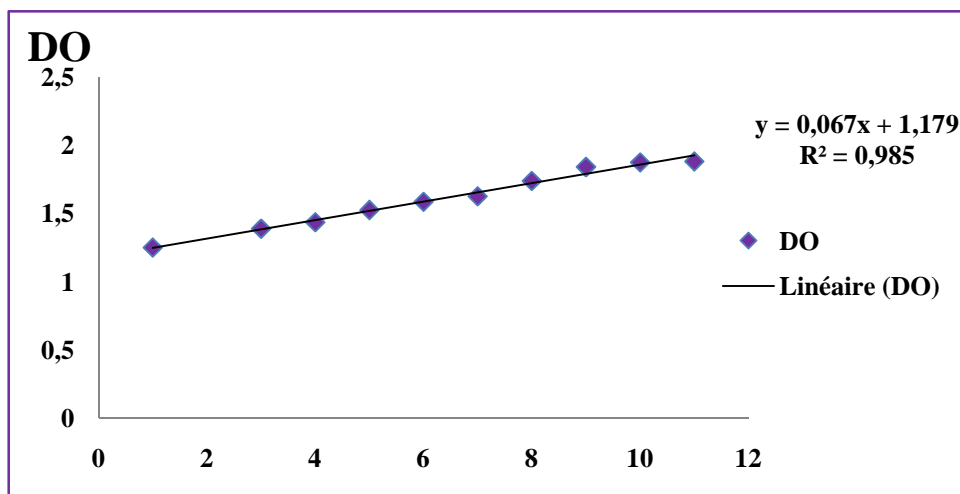


Figure 12: courbe d'étalonnage des nitrites

II.5. Dosage de protéines totales

➤ Principe

La concentration de protéines totales est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Cette méthode est basée sur un dosage colorimétrique.

Une gamme étalon a été préparée à partir d'une solution de BSA à 0.1% un volume de 3ml de réactif de Bradford est ajoutée dans chaque tube. La lecture des DO se fait à $\lambda = 595\text{nm}$. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA) (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions.

➤ Mode opératoire

-)] On met 100 μl de sérum dans un tube puis on ajoute 3 ml du réactif de Bradford
-)] Les tubes sont incubés pendant 10 minutes à 37 °C
-)] La densité optique est mesurée au spectrophotomètre à 595 nm.

➤ Calcul de la concentration des protéines

La concentration des protéines dans les échantillons est déterminée par comparaison aux valeurs obtenues pour une courbe standard réalisée en parallèle.

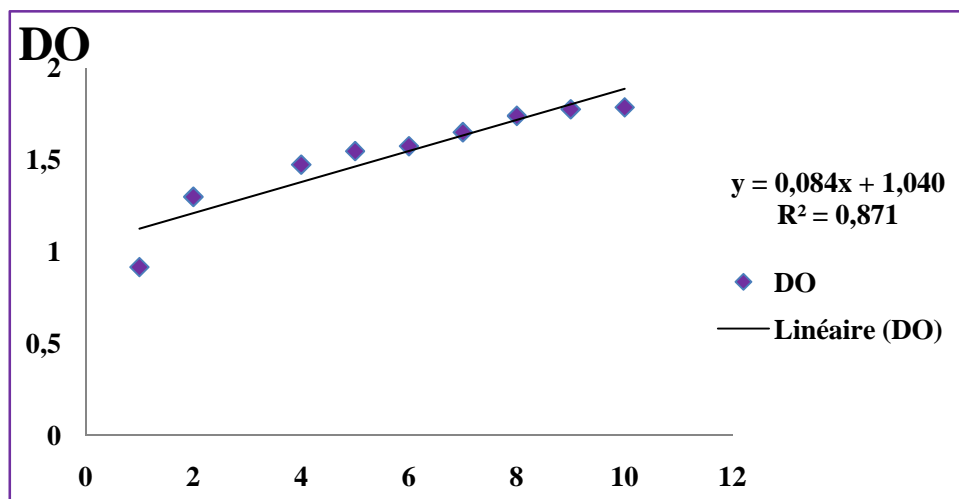


Figure 13: courbe d'étalonnage de protéines totales

II.6. Dosage de protéines oxydées

➤ Principe

Les AOPP ont la capacité d'absorber à 340nm en condition acide. La chloramine-T utilisée comme standard absorbe aussi à 340nm en présence d'iodide de potassium.

➤ Mode opératoire

-)] Dans un tube de 1,5 ml ajouter 80 µL de plasma dans 400 µL de PBS 1X et mixer 6 min dans l'obscurité.
-)] Ajouter 20µL de KI dans les tubes.
-)] Ajouter 40µL d'acide acétique dans les tubes et mixer 6 min dans l'obscurité
-)] Lire immédiatement à 340nm.

➤ Calcul de la concentration des protéines

La concentration des protéines dans les échantillons est déterminée par comparaison aux valeurs obtenues pour une courbe standard réalisée en parallèle.

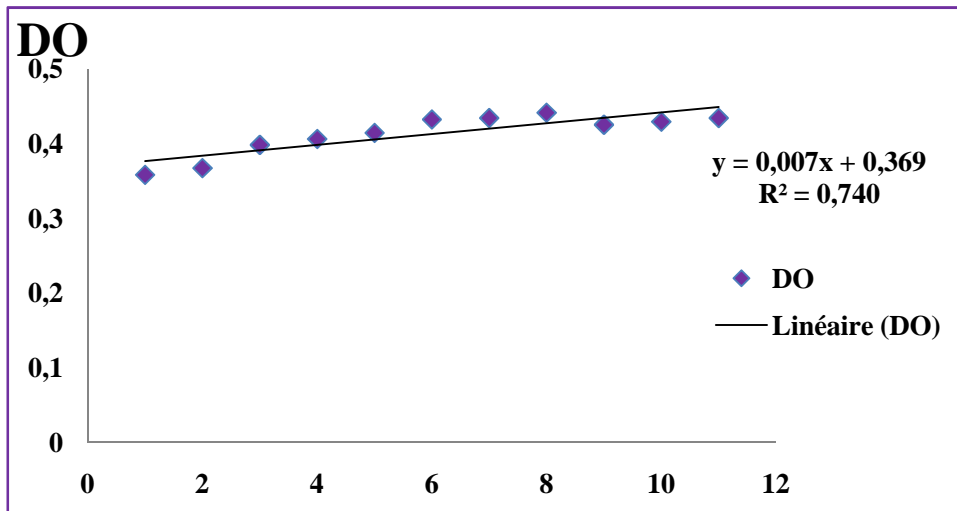


Figure 14: courbe d'étalonnage des protéines oxydées

II.7. Analyse statistique des résultats

La saisie des données a été réalisée à l'aide de logiciel Excel 2007. Pour la comparaison entre deux moyennes, nous avons utilisées un test non paramétrique de Mann-Whitney y grâce au logiciel Minitab. Le de signification a été fixé à 5%.

RESULTATS

Résultat

1. Dosage de l'acide urique

L'analyse des taux d'acide urique montre la présence d'une différence significative entre les témoins et les patients atteints de diabète type 2 ($P=0.000$), de l'HTA ($P=0.000$), de l'AVC ($P=0.013$), d'asthme ($P=0.019$) ainsi que ceux atteints de cardiopathies ($P=0.044$).

Par contre, aucune différence significative n'a été observé entre les taux d'acide urique des témoins comparée à celle des patients atteints de tuberculose ($P=0.098$), de l'hépatite C virale ($P=0.217$), de diabète type 1 ($P=0.289$), de sclérose en plaque ($P=0.407$) ainsi que ceux atteints de cirrhose de foie ($P=0.815$).

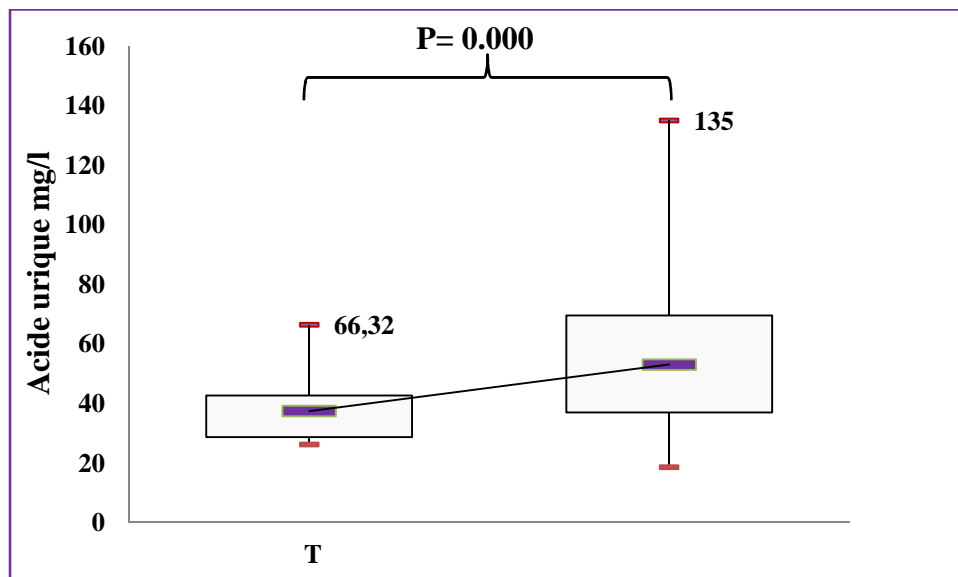


Figure 15 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de diabète type 2 et des témoins

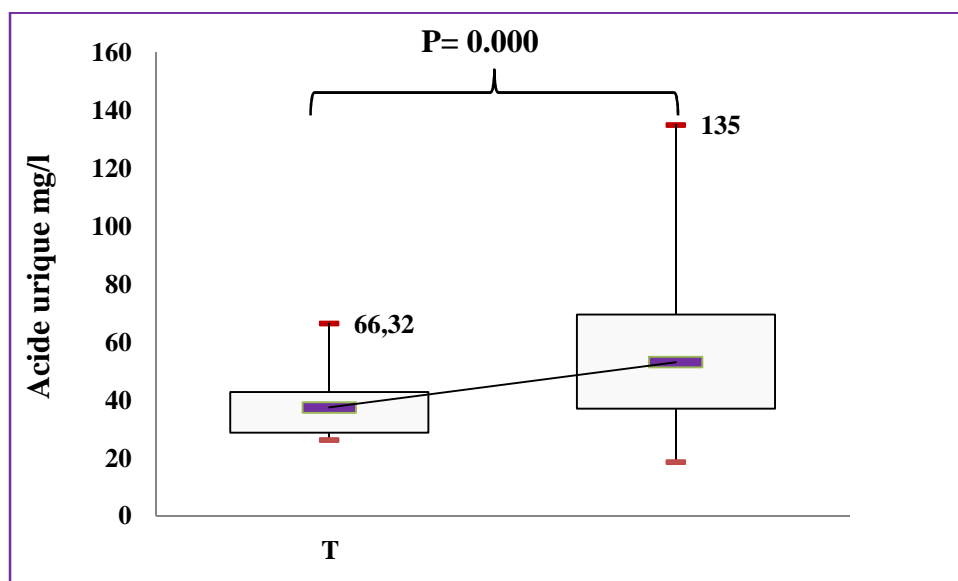


Figure 16 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints d'HTA et des témoins

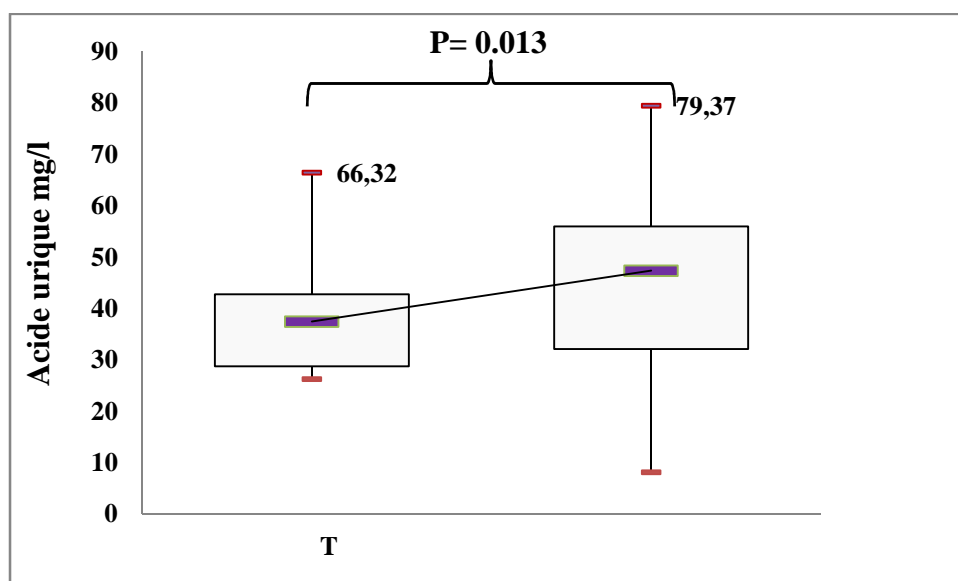


Figure 17 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints d'AVC et des témoins

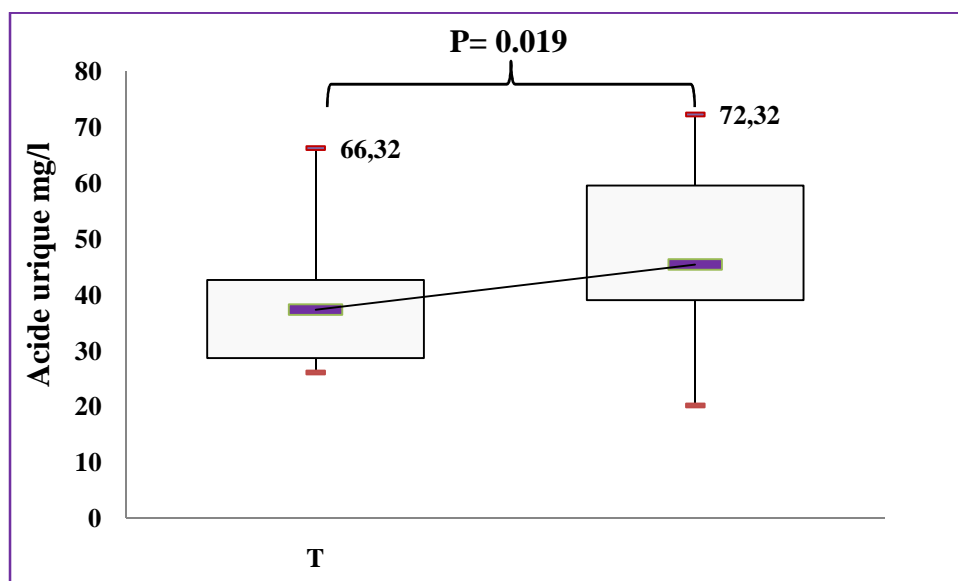


Figure 18 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints d'asthme et des témoins

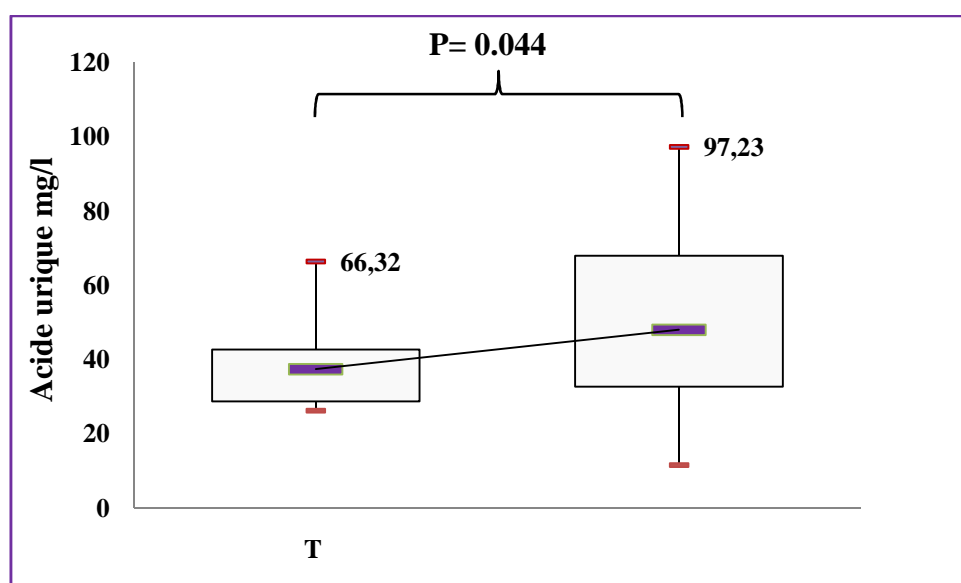


Figure 19 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de cardiopathies et des témoins

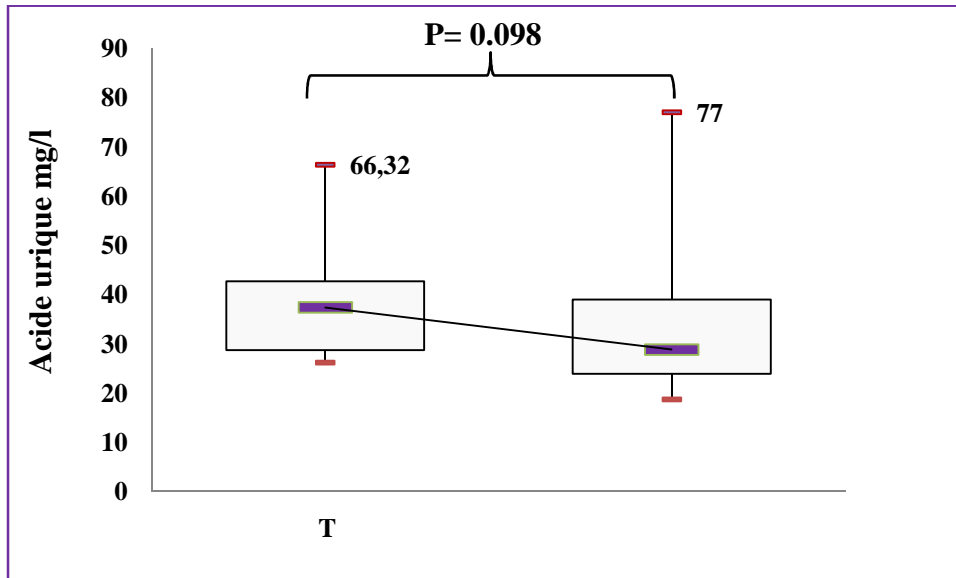


Figure 20 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de tuberculose et des témoins

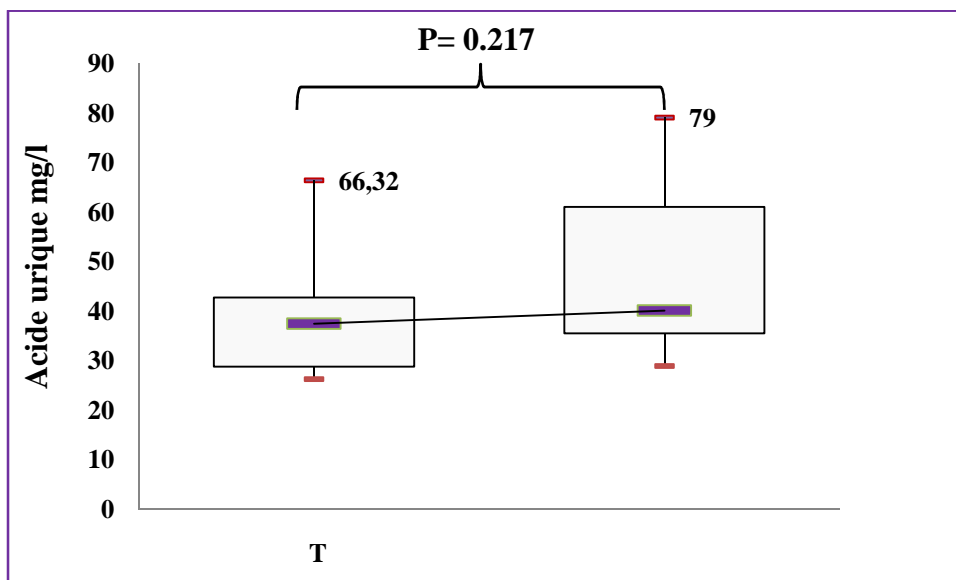


Figure 21 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints d'HCV et des témoins

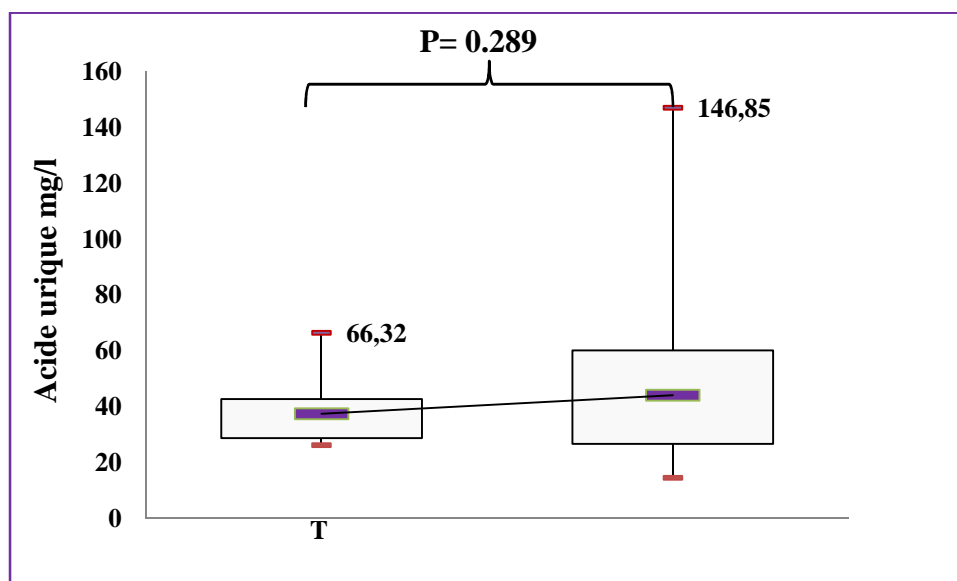


Figure 22 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de diabète type 01 et des témoins

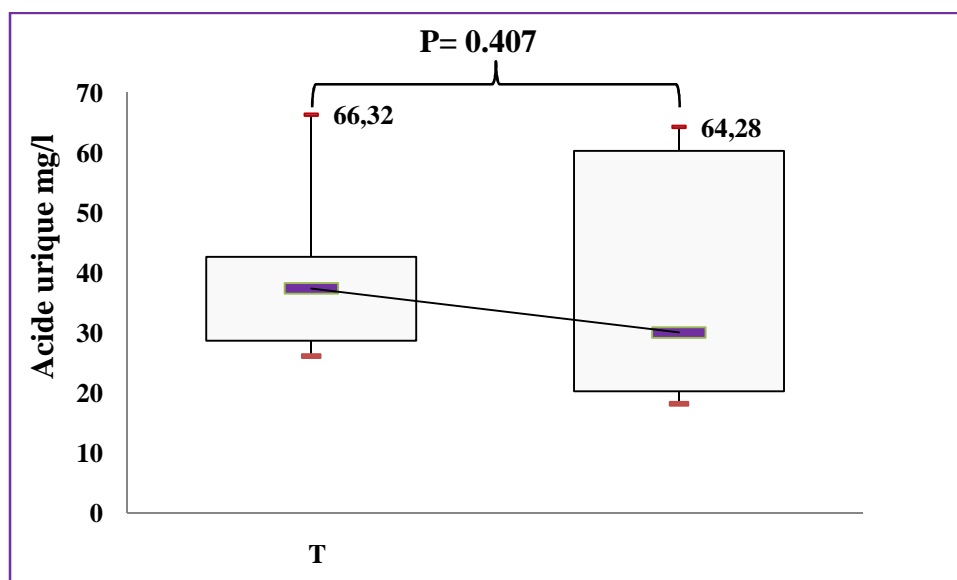


Figure 23 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de sclérose en plaque et des témoins

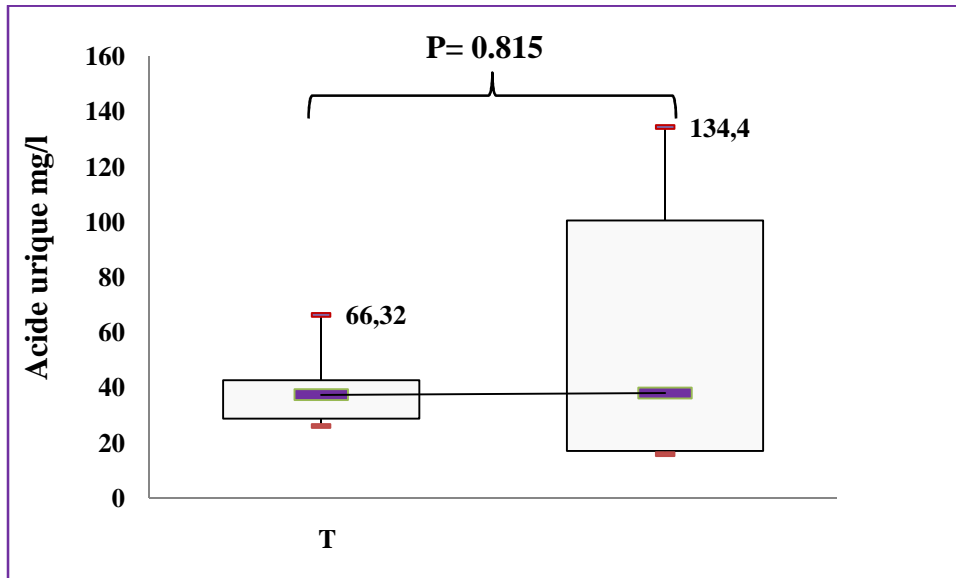


Figure 24 : Variation de taux de l'acide urique des patients atteints de cirrhose de foie et des témoins

2. Dosage de la bilirubine Totale

L'analyse des taux de bilirubine totale montre la présence d'une différence significative entre les témoins et les patients atteints de diabète type 1 ($P=0.000$), d'AVC ($P=0.000$), de cardiopathies ($P=0.000$), d'HCV ($P=0.000$), d'HTA ($P=0.000$), de cirrhose de foie ($P=0.001$) ainsi que ceux atteints de tuberculose ($P=0.016$).

Par contre, aucune différence significative n'a été observé entre les taux de bilirubine totale des témoins comparée à celle des patients atteints de diabète type 02 ($P=0.224$) ainsi que ceux atteints d'asthme ($P=0.351$).

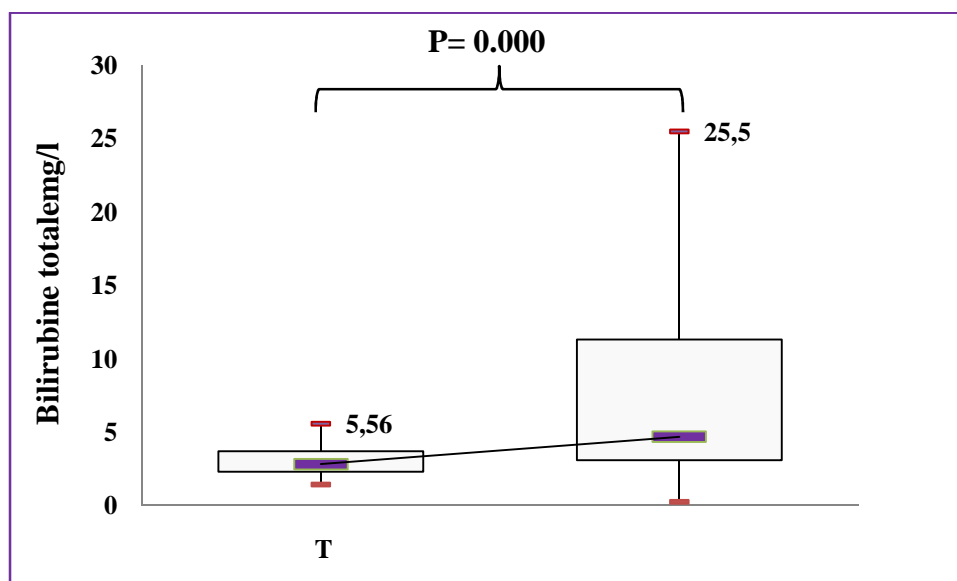


Figure 25 : Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète type 01 et des témoins

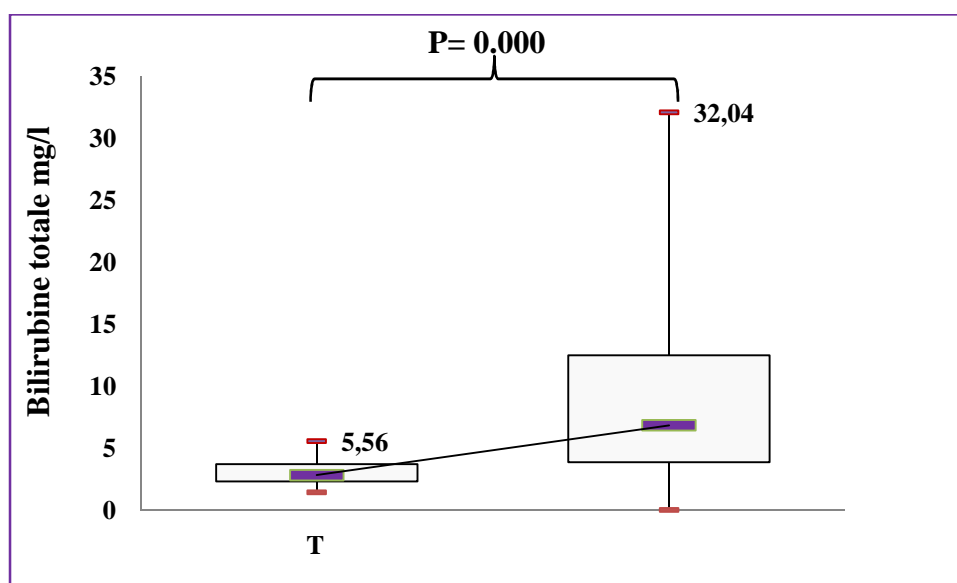


Figure 26 : Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints d'AVC et des témoins

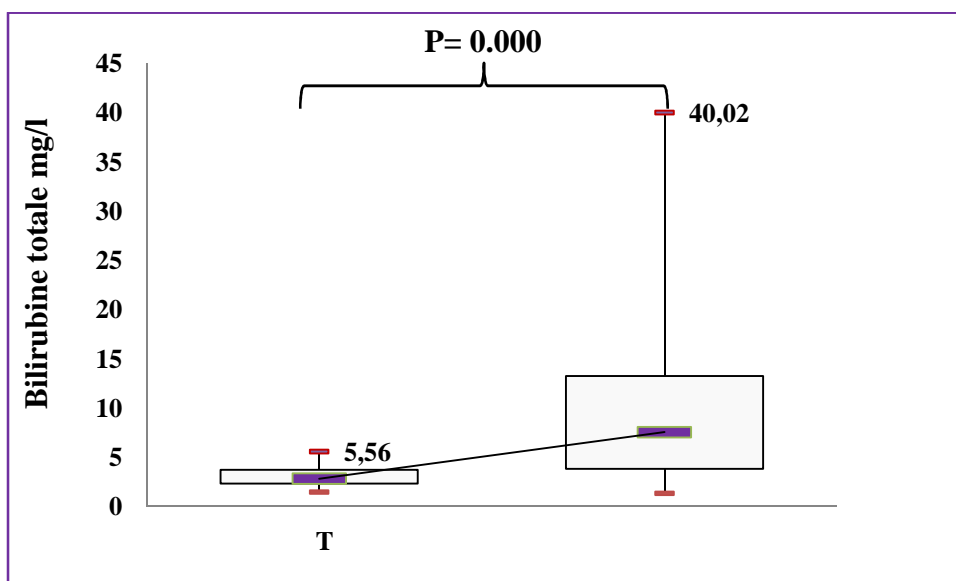


Figure 27 : Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de cardiopathies et des témoins

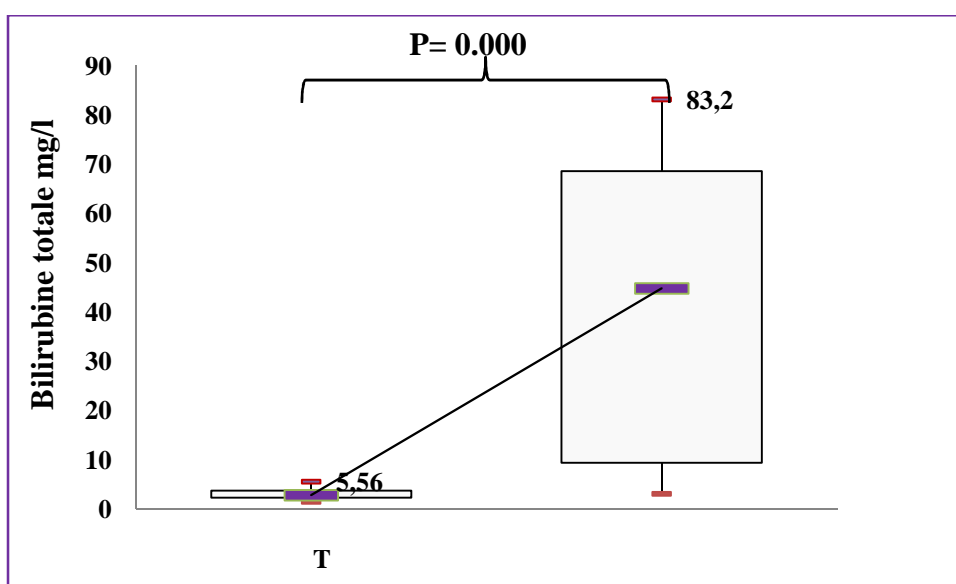


Figure 28 : Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints d'HCV et des témoins

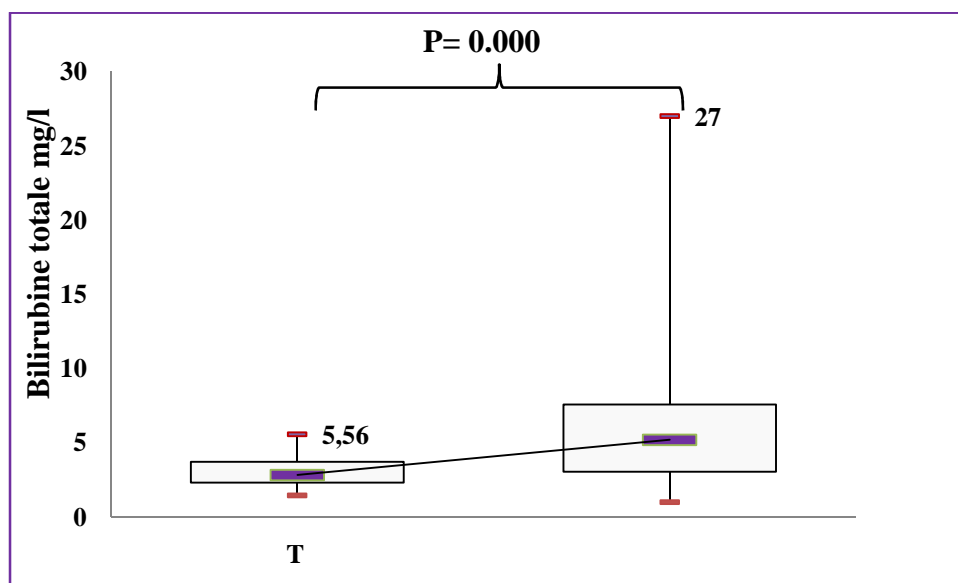


Figure 29 : Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints d'HTA et des témoins

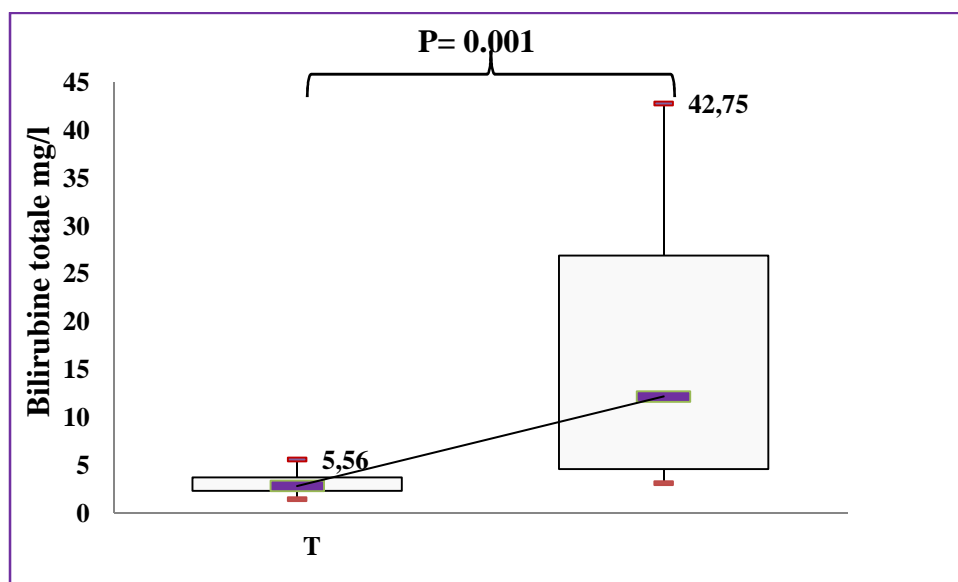


Figure 30 : Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de cirrhose de foie et des témoins

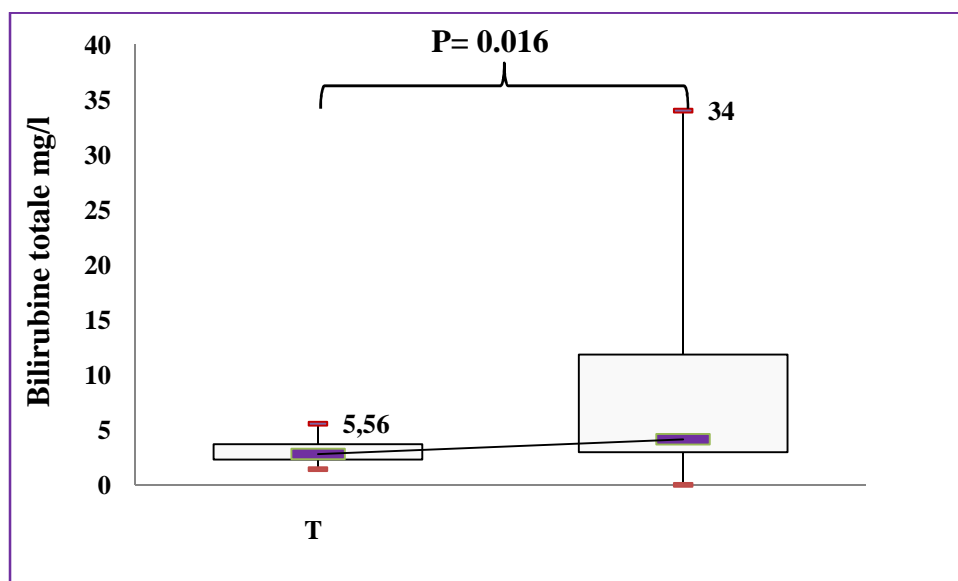


Figure 31 : Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de tuberculose et des témoins

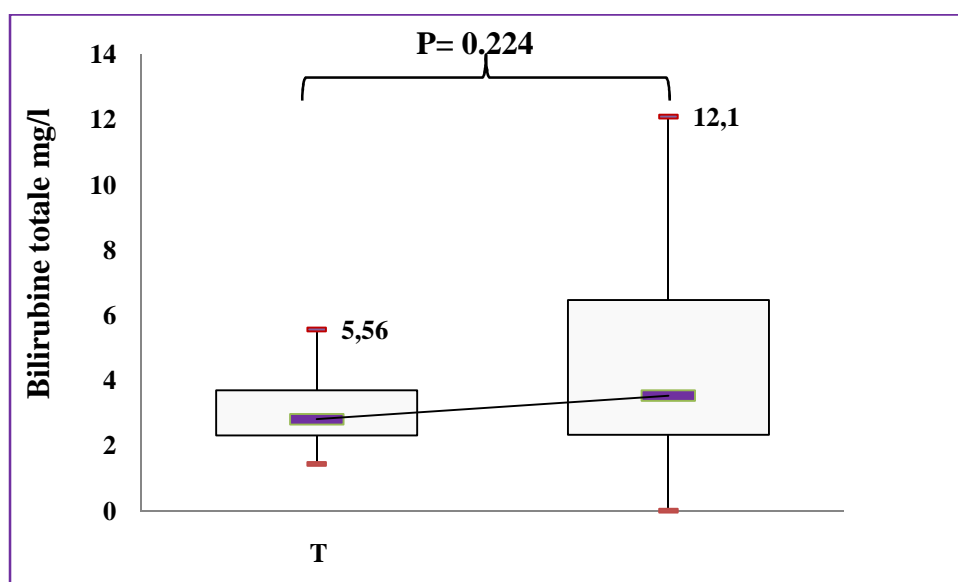


Figure 32 : Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète type 02 et des témoins

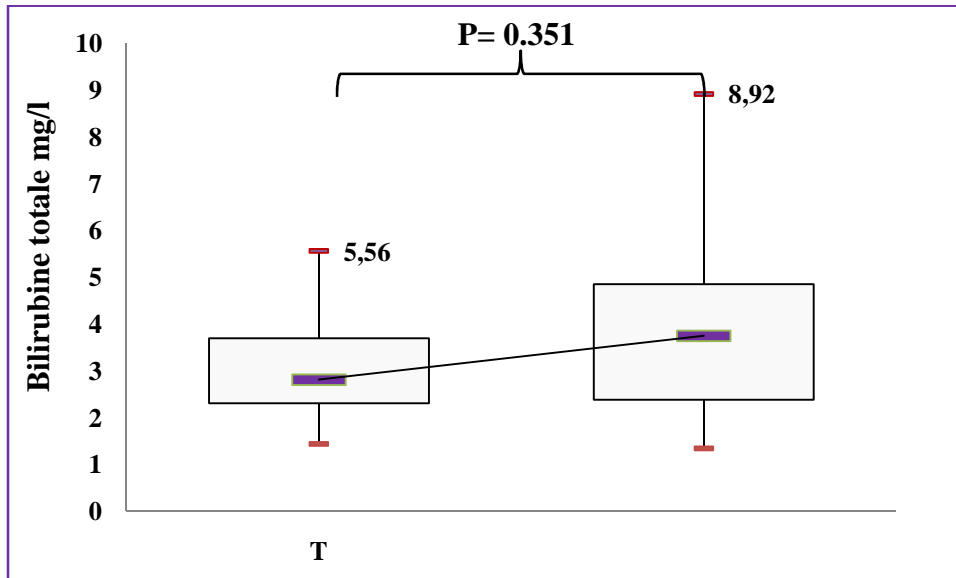


Figure 33 : Variation de taux de la bilirubine totale des patients atteints d’asthme et des témoins

3. Dosage de la bilirubine directe

L’analyse des taux de bilirubine directe montre la présence d’une différence significative entre les témoins et les patients atteints de diabète type 1 (P=0.000), d’AVC (P=0.000), de cardiopathies (P= 0.000), d’HCV (P=0.000), d’HTA (P=0.000), de cirrhose de foie (P=0.001), de sclérose en plaque (P=0.001), de diabète type 02 (P=0.005), ceux atteints de tuberculose (P=0.035) ainsi que d’asthme (P=0.044).

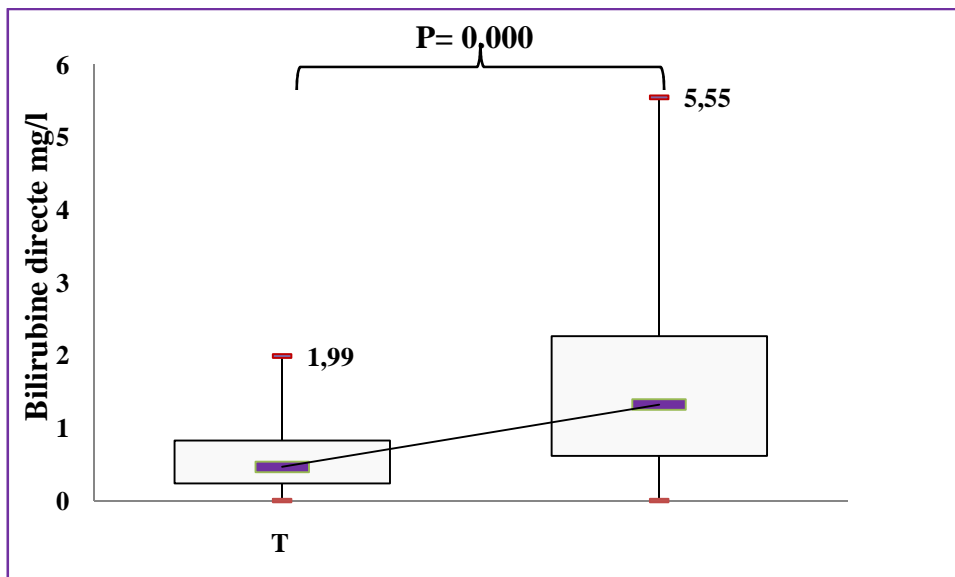


Figure 34 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de diabète type 01 et des témoins

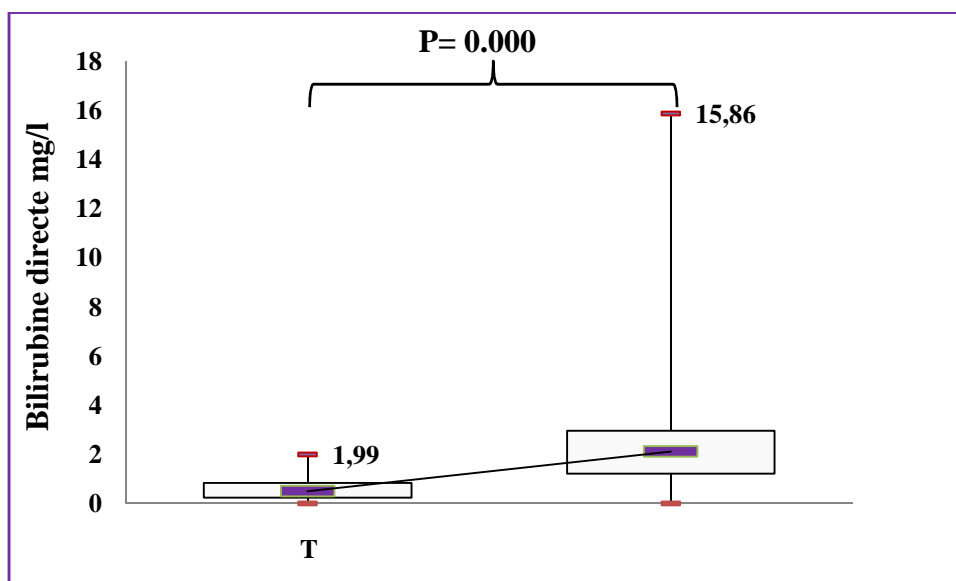


Figure 35 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints d'AVC et des témoins

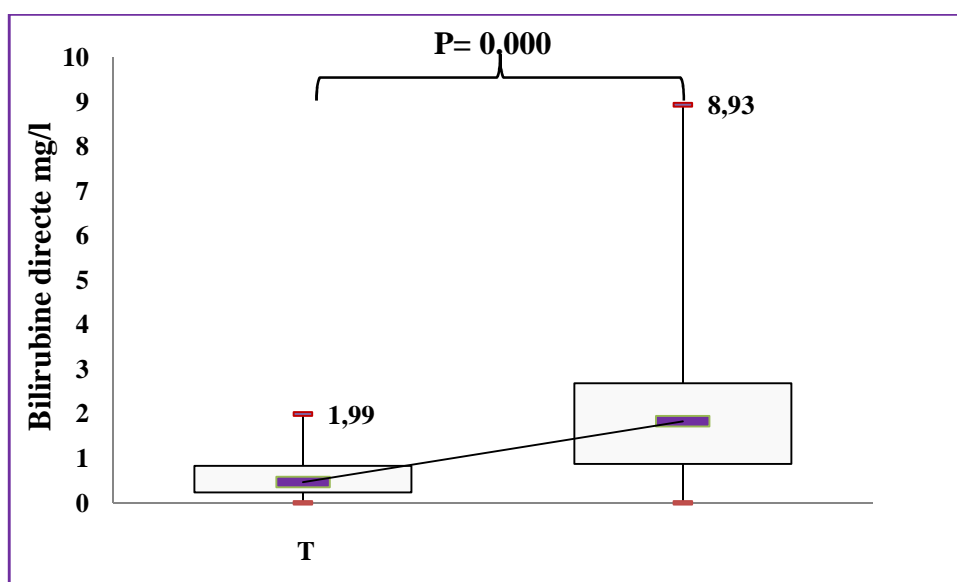


Figure 36 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de cardiopathies et des témoins

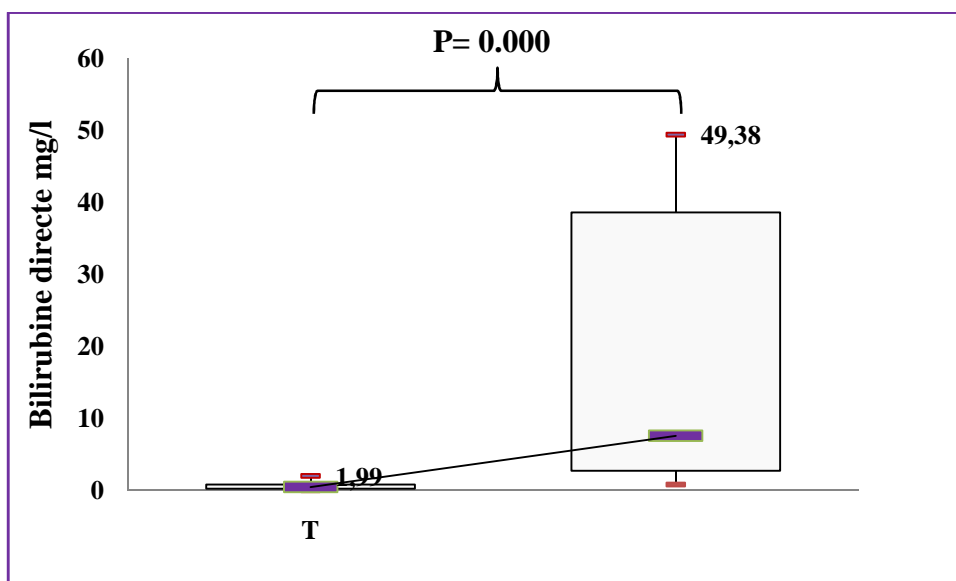


Figure 37 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints d'HCV et des témoins

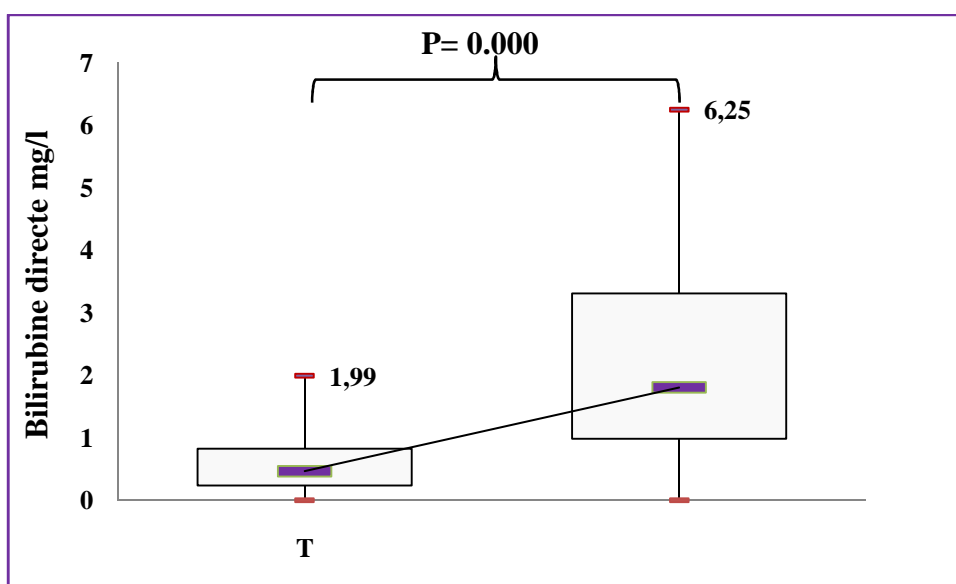


Figure 38 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints d'HTA et des témoins

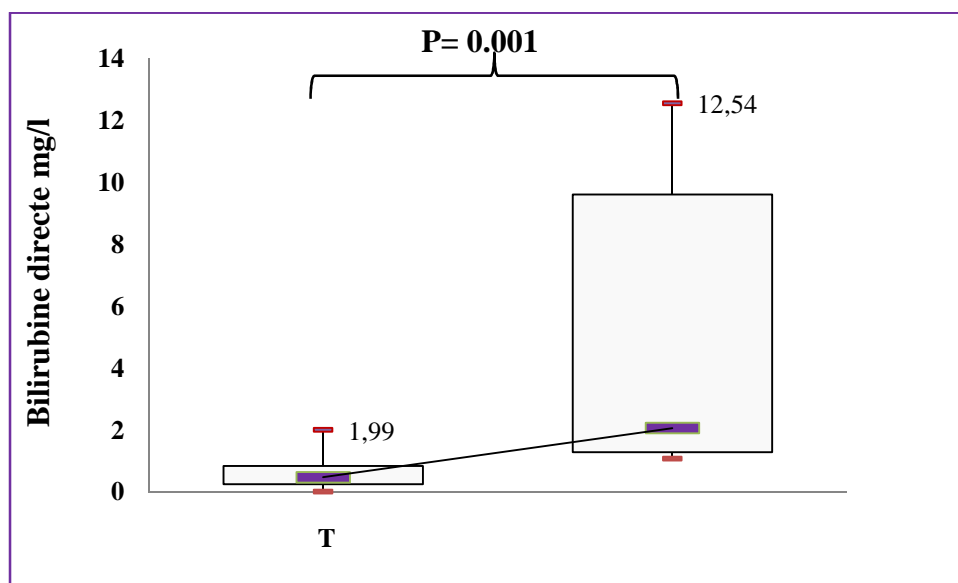


Figure 39 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de cirrhose de foie et des témoins

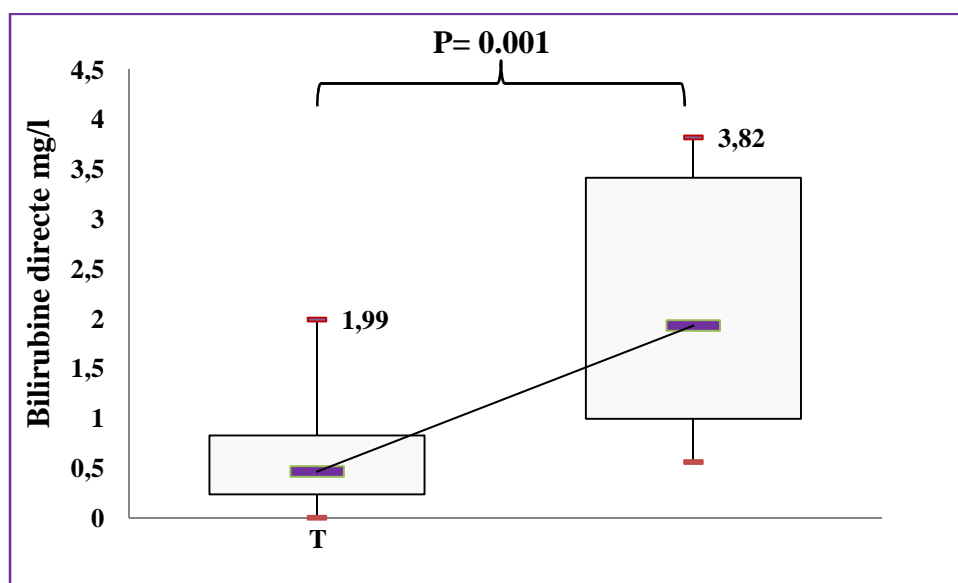


Figure 40 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de sclérose en plaque et des témoins

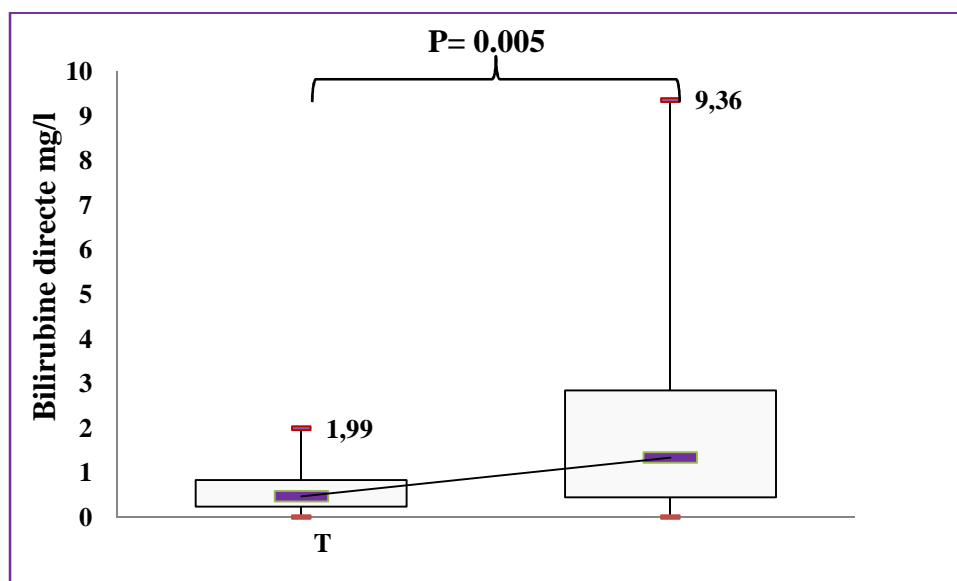


Figure 41 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de diabète type 02 et des témoins

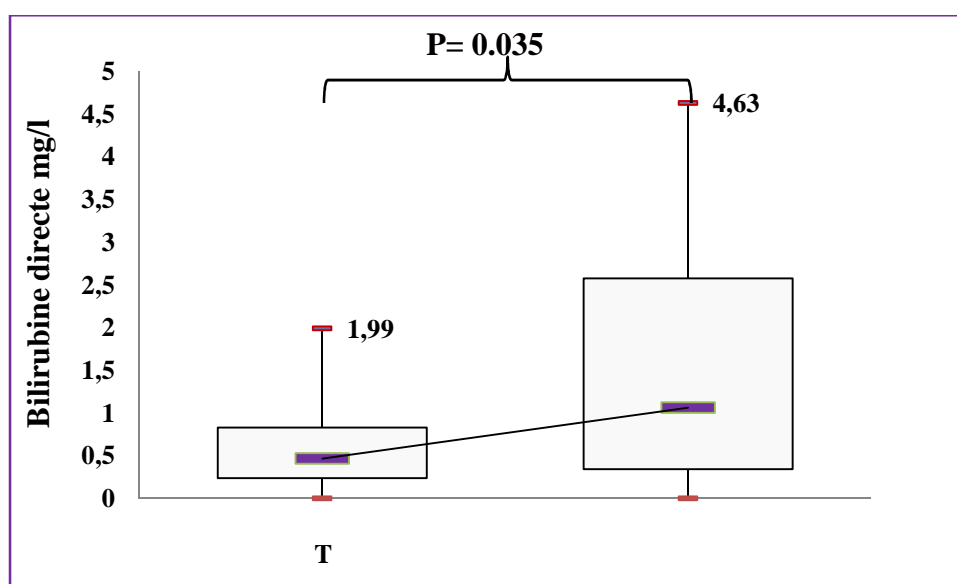


Figure 42 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints de tuberculose par rapport aux témoins

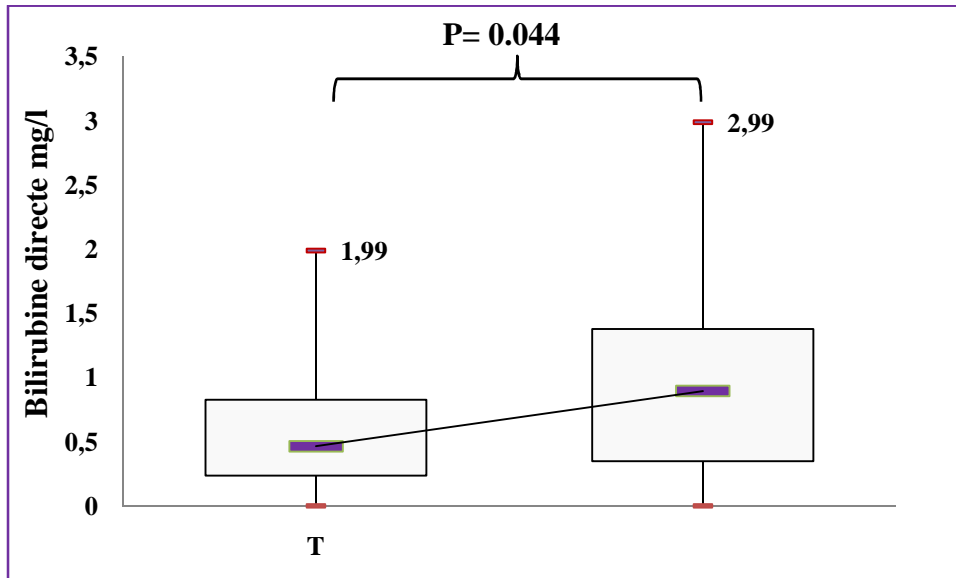


Figure 43 : Variation de taux de la bilirubine directe des patients atteints d’asthme par rapport aux témoins

4. Dosage de l’albumine

Les résultats obtenus montrent qu’ils n’y a pas une différence significative chez la majorité des patients par rapport au témoin sauf les patients qui atteint l’HCV ($P=0.007$) et la cirrhose de foie ($P=0.008$)

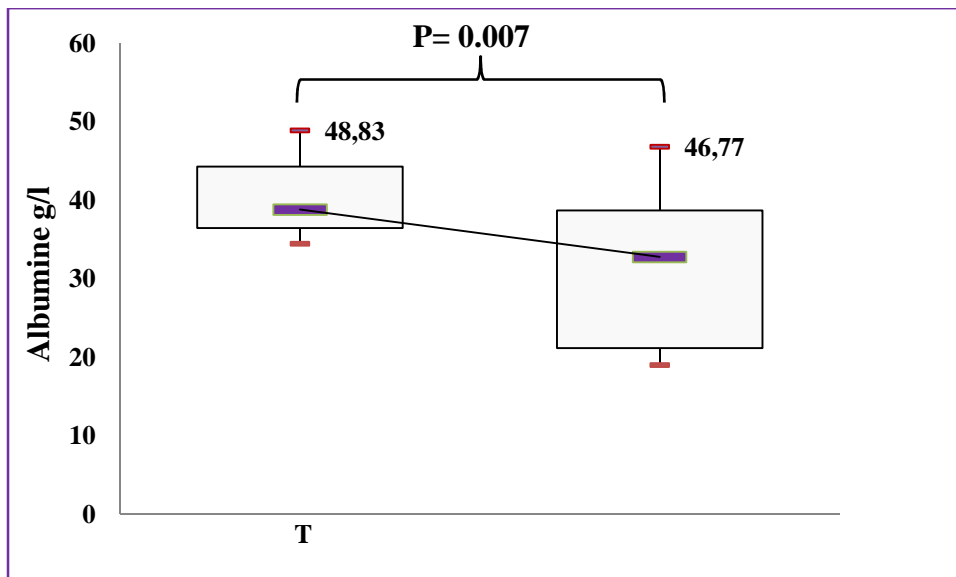


Figure 44 : Variation de taux de l’albumine des patients atteints l’HCV par rapport aux témoins

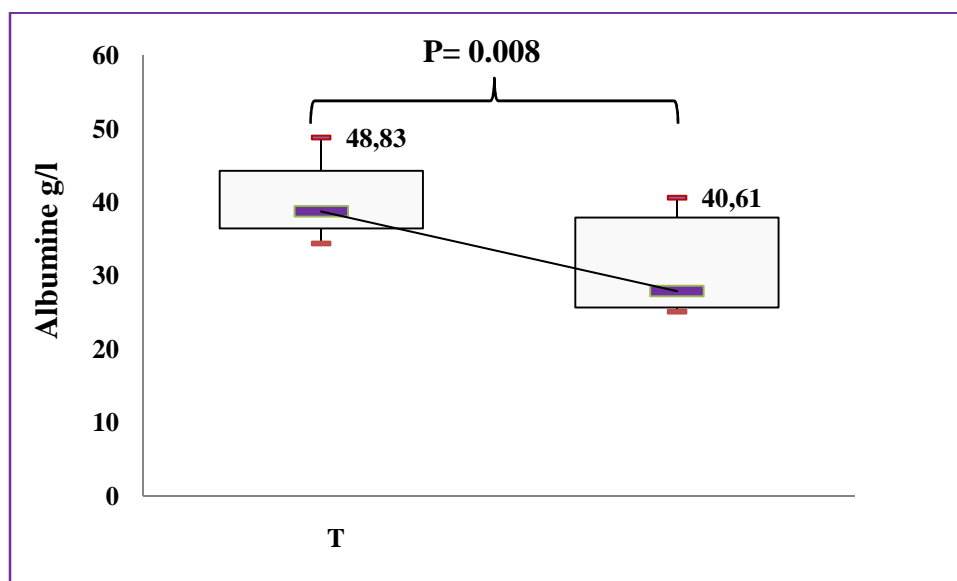


Figure 45 : Variation de taux de l'albumine des patients atteints de cirrhose de foie par rapport aux témoins

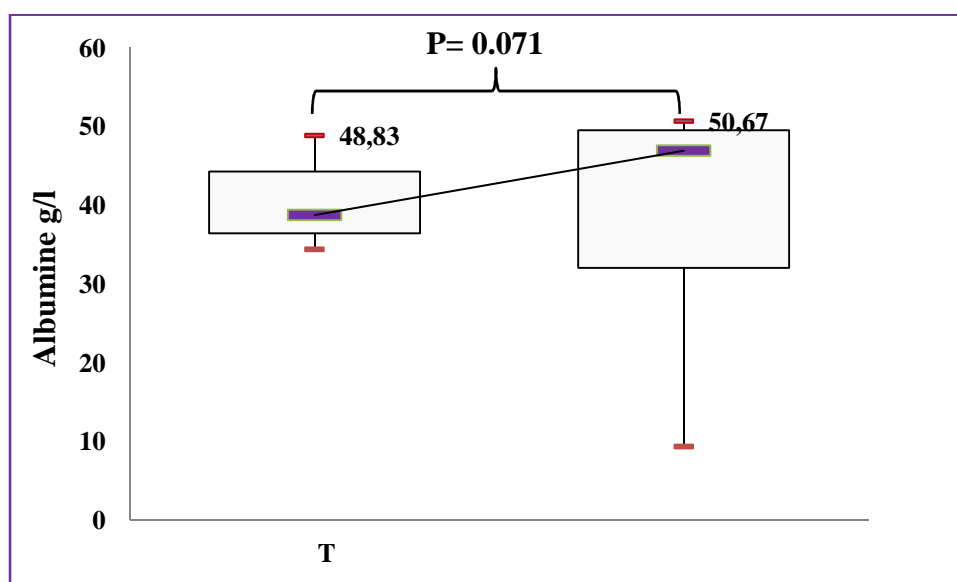


Figure 46 : Variation de taux de l'albumine des patients atteints de sclérose en plaque par rapport aux témoins

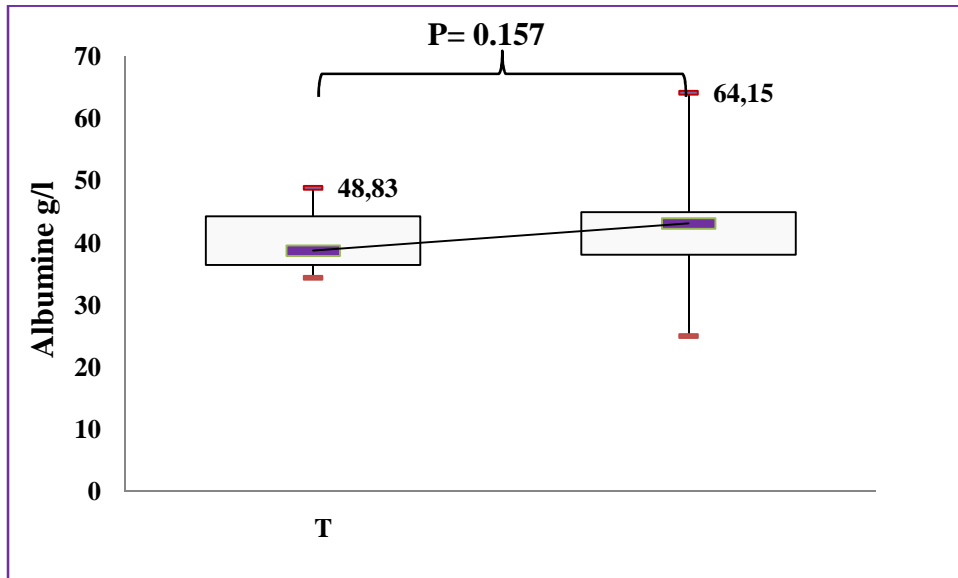
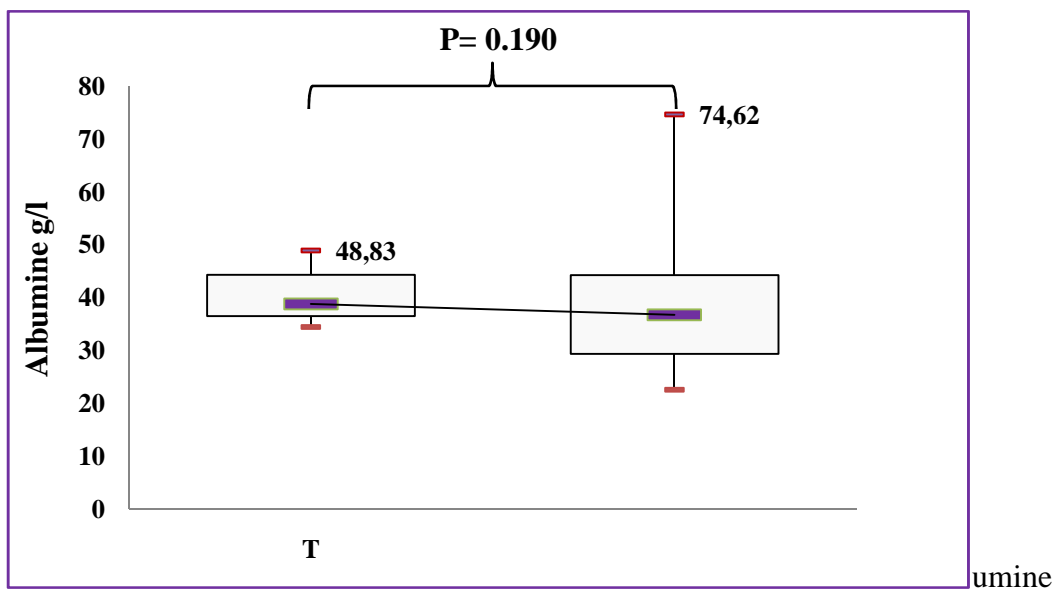


Figure 47 : Variation de taux de l'albumine des patients atteints de cardiopathies par rapport aux témoins

Figure 48 : Variation de taux de l'albumine



des patients atteints d'asthme par rapport aux témoins

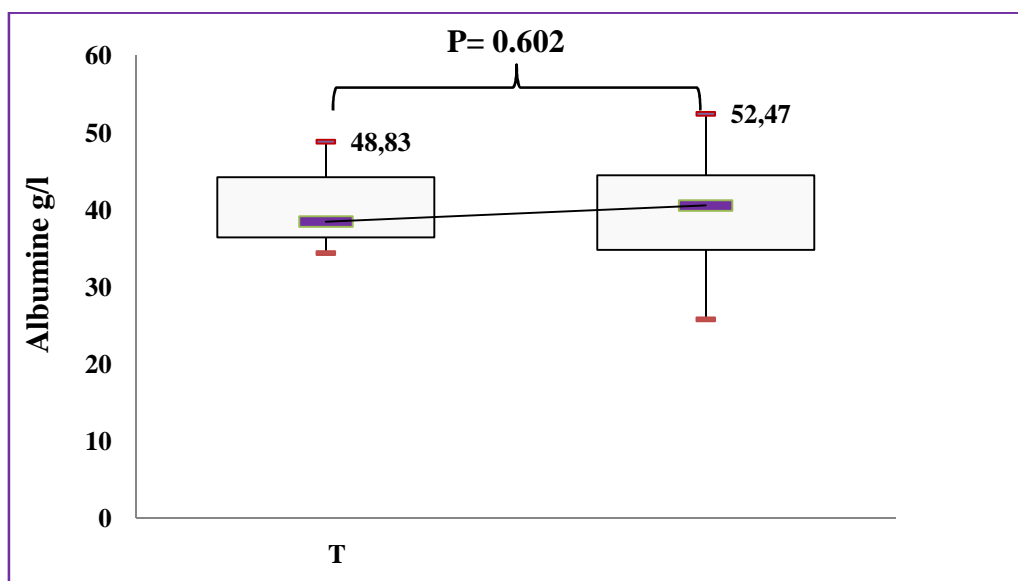


Figure 49 : Variation de taux de l'albumine des patients atteints d'AVC par rapport aux témoins

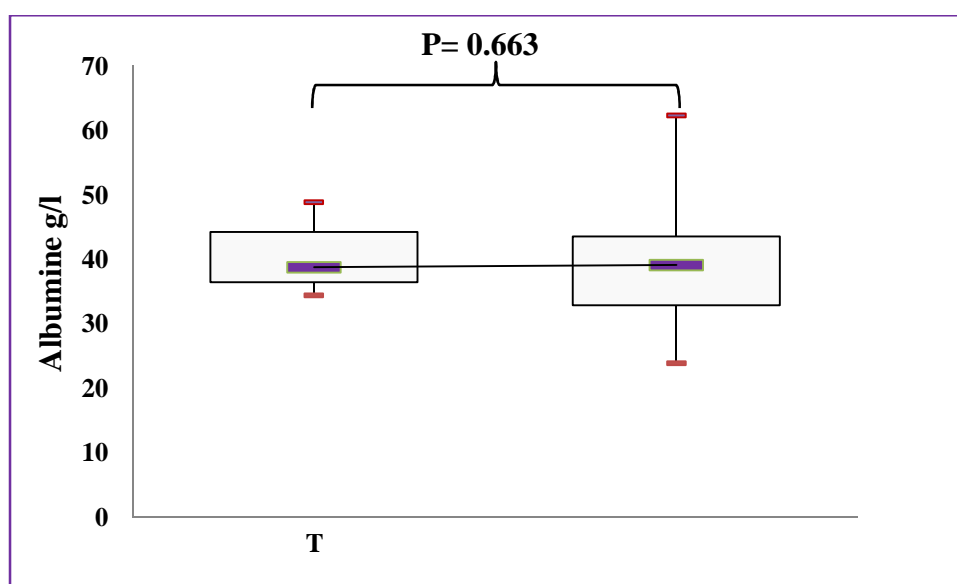


Figure 50 : Variation de taux de l'albumine des patients atteints d'HTA par rapport aux témoins

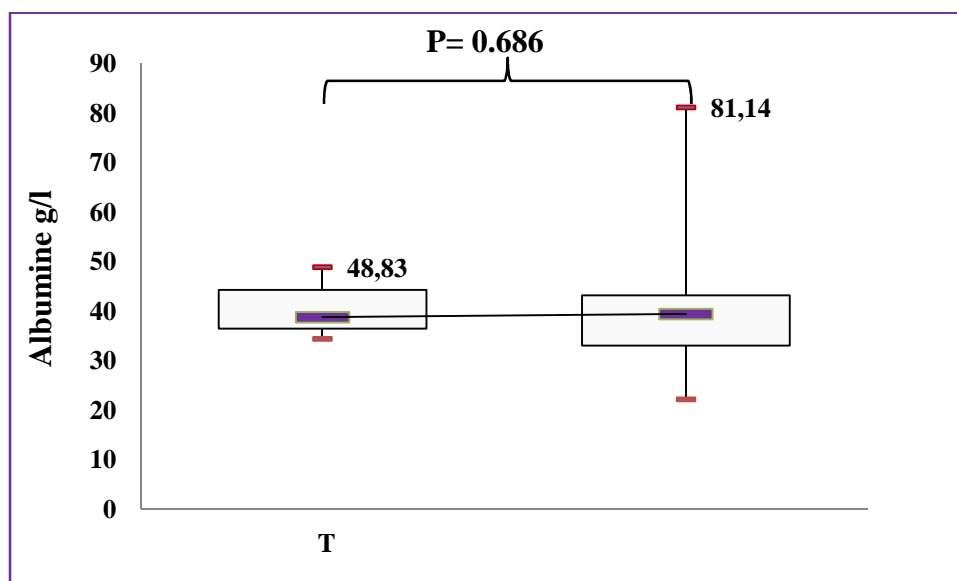


Figure 51 : Variation de taux de l'albumine des patients atteints de diabète type 02 par rapport aux témoins

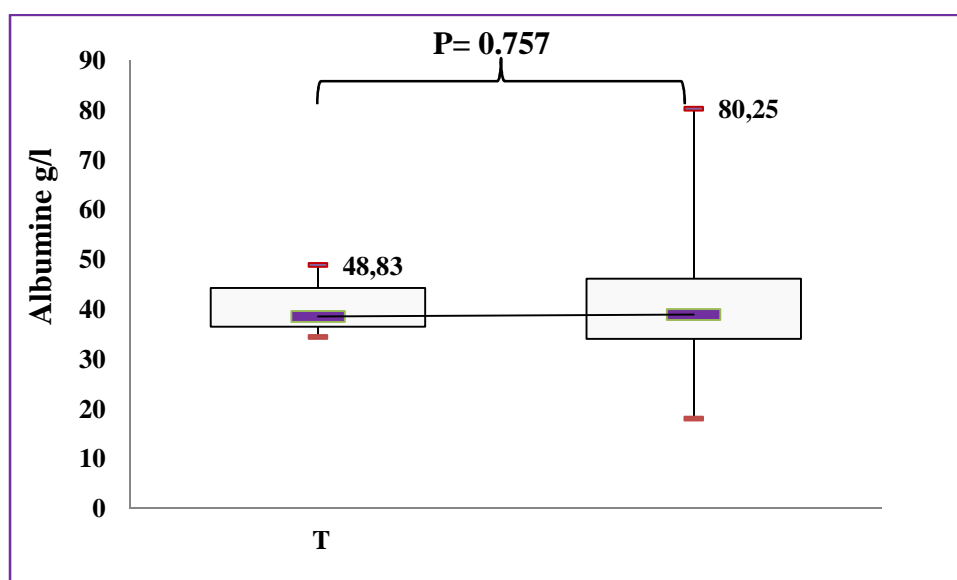


Figure 52 : Variation de taux de l'albumine des patients atteints de diabète type 01 par rapport aux témoins

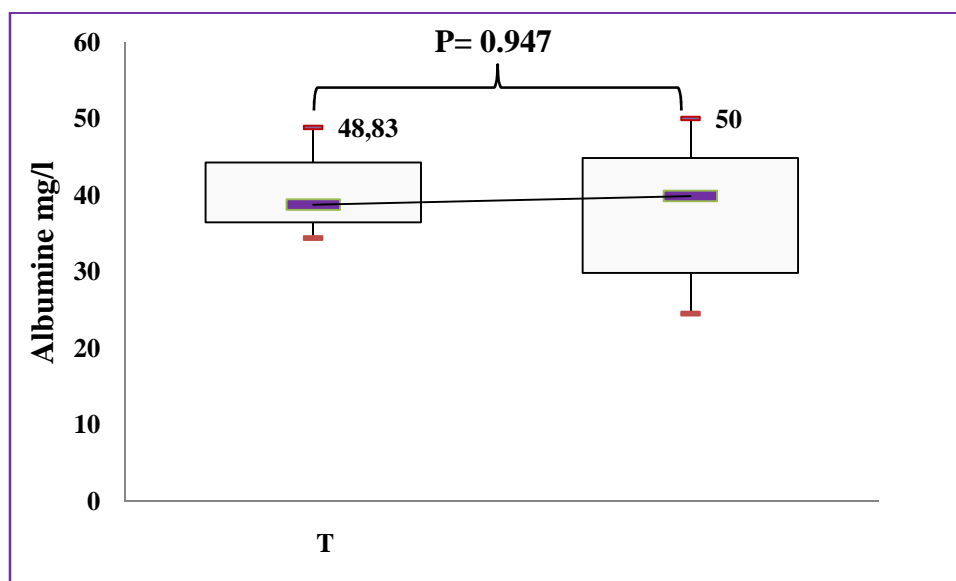


Figure 53 : Variation de taux de l'albumine des patients atteints de tuberculose par rapport aux témoins

5. Dosage des nitrites

Le dosage des nitrites indique une augmentation significative dans son taux par rapport au témoin ($P=0.000$) dans toutes les maladies chroniques étudiés.

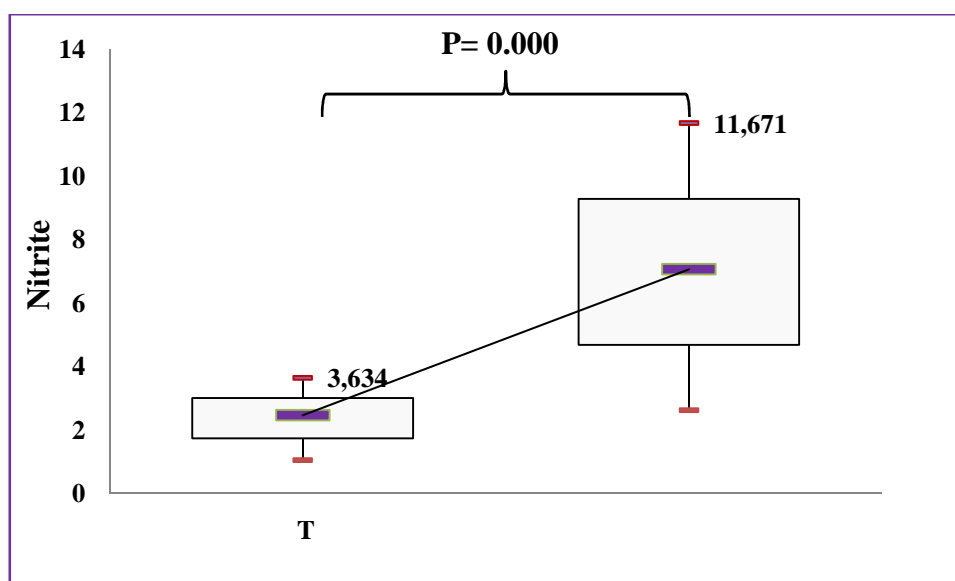


Figure 54 : Variation des taux de nitrites des patients atteints de diabète type 01 par rapport aux témoins

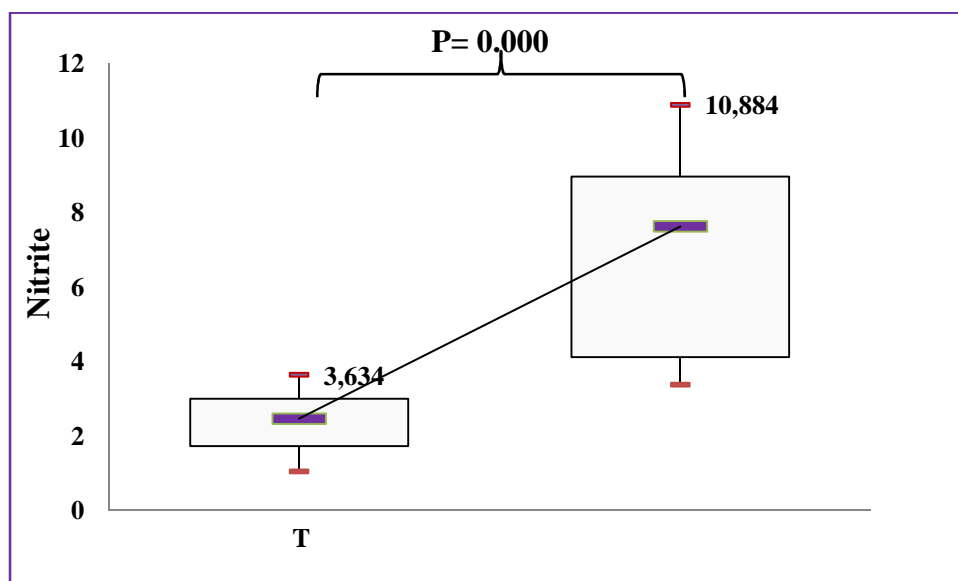


Figure 55 : Variation de taux des nitrites des patients atteints de diabète type 02 par rapport aux témoins

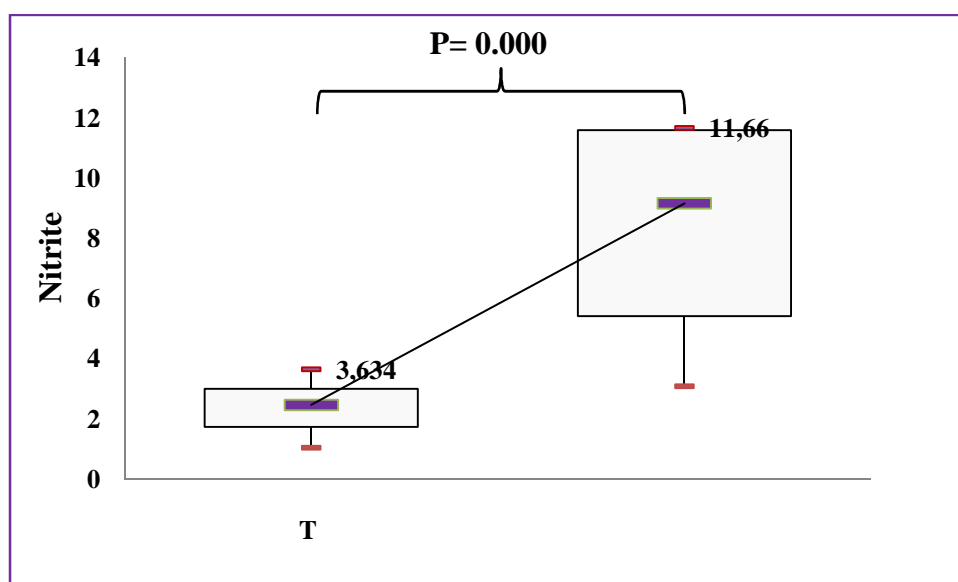


Figure 56 : Variation de taux des nitrites des patients atteints de cardiopathies par rapport aux témoins

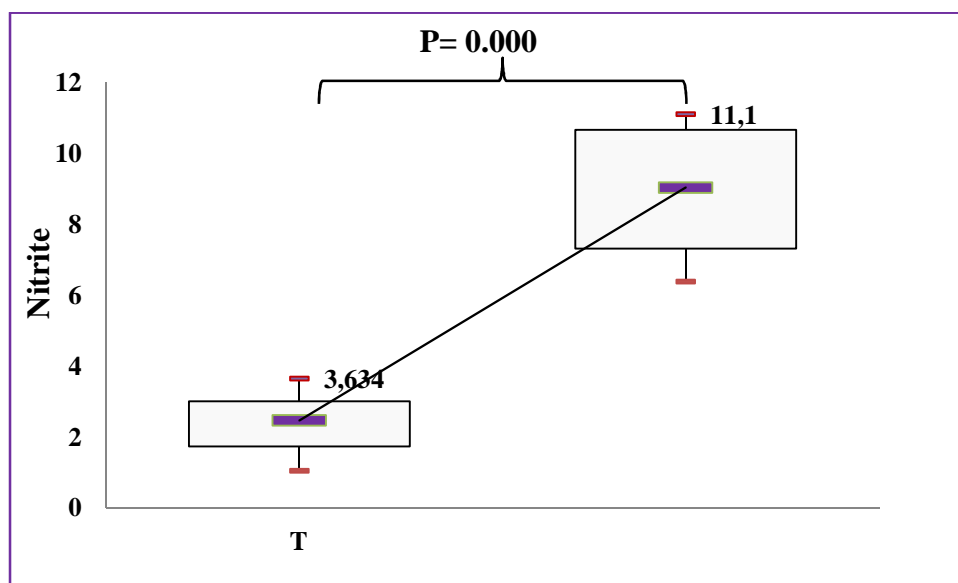


Figure 57 : Variation de taux de nitrites des patients atteints d'asthme par rapport aux témoins

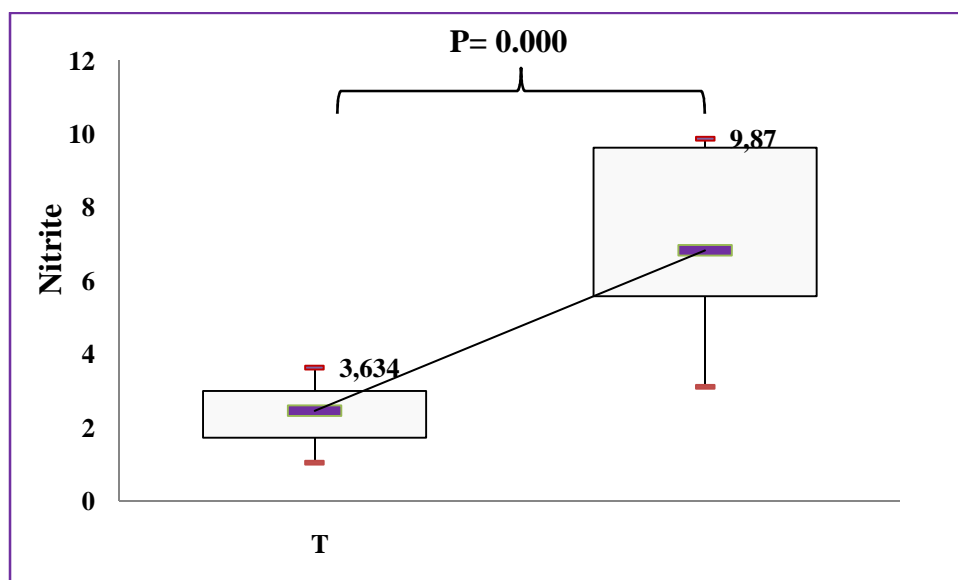


Figure 58 : Variation de taux des nitrites des patients atteints d'AVC par rapport aux témoins

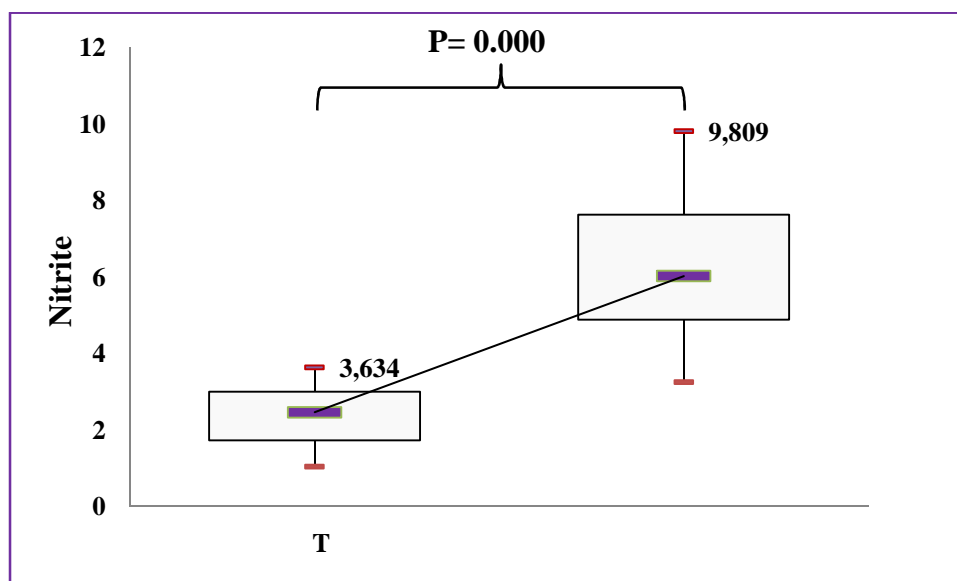


Figure 59 : Variation des taux des nitrite des patients atteints d'HTA par rapport aux témoins

6. Dosage des Protéines

L'analyse des taux des protéines montre la présence d'une différence significative entre les témoins et les patients atteints de diabète type 2 ($P=0.003$), de cardiopathies ($P=0.005$), ainsi que ceux atteints de diabète type 1 ($P=0.015$).

Par contre, aucune différence significative n'a été observé entre les taux des protéines des témoins comparée à celle des patients atteints d'AVC ($P=0.093$), d'asthme ($P=0.325$), ainsi que ceux atteints d'HTA ($P=0.453$).

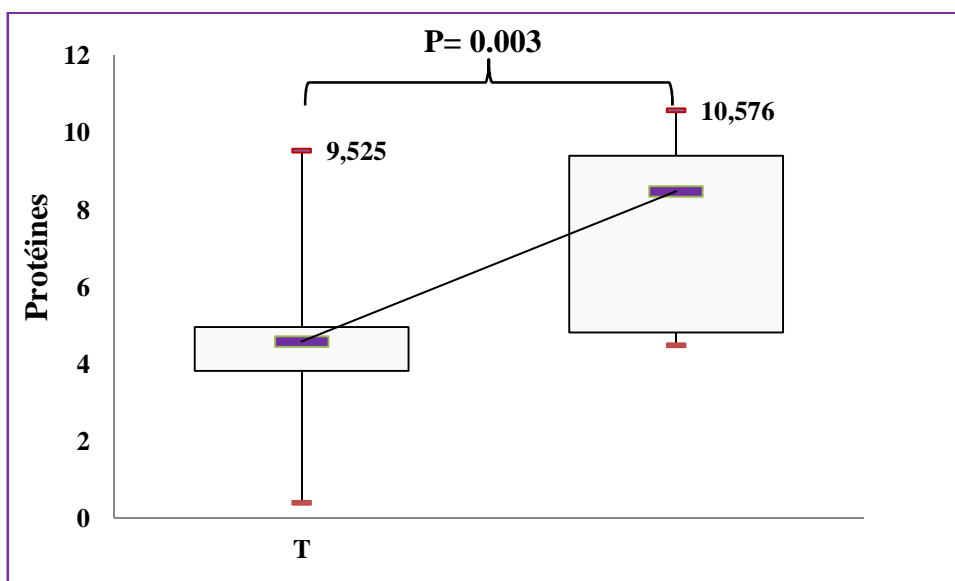


Figure 60 : Variation de taux des protéines des patients atteints de diabète type 02 par rapport aux témoins

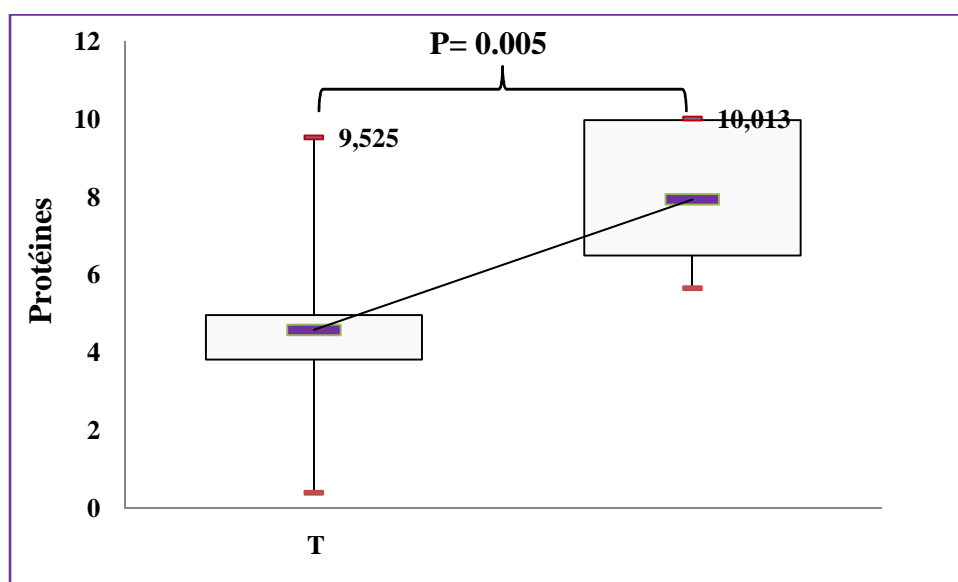


Figure 61 : Variation de taux des protéines des patients atteints de cardiopathies par rapport aux témoins

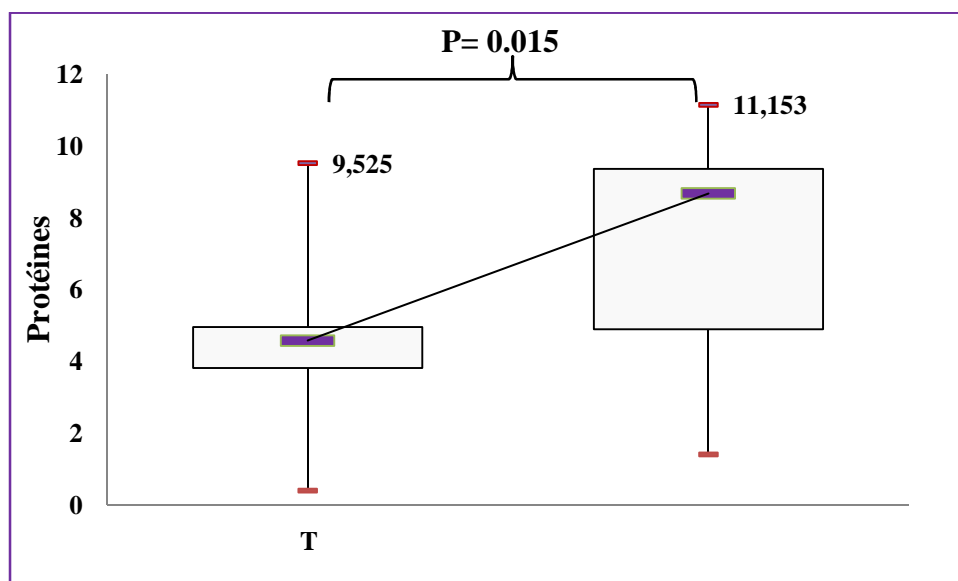


Figure 62 : Variation de taux des protéines des patients atteints de diabète type 01 par rapport aux témoins

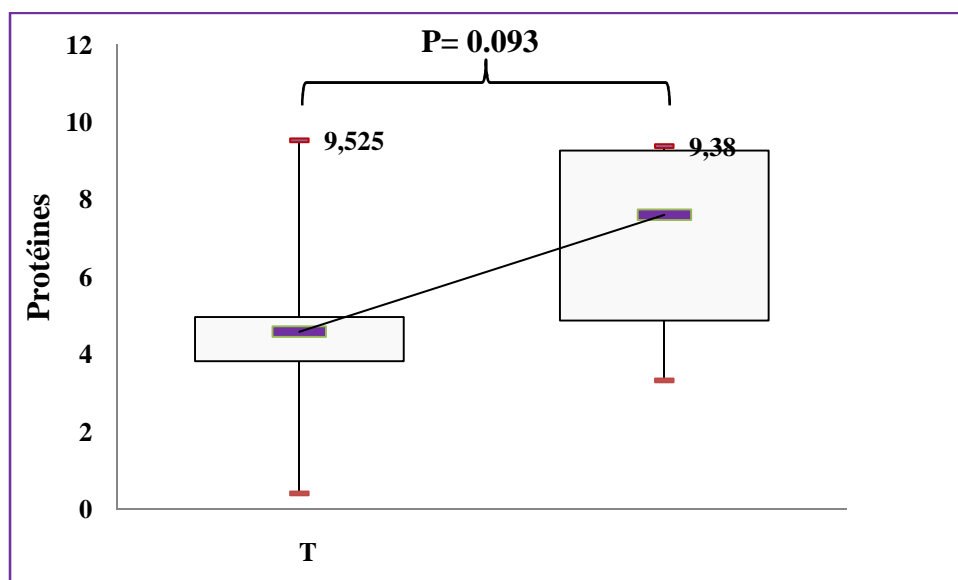


Figure 63 : Variation de taux des protéines des patients atteints d'AVC par rapport aux témoins

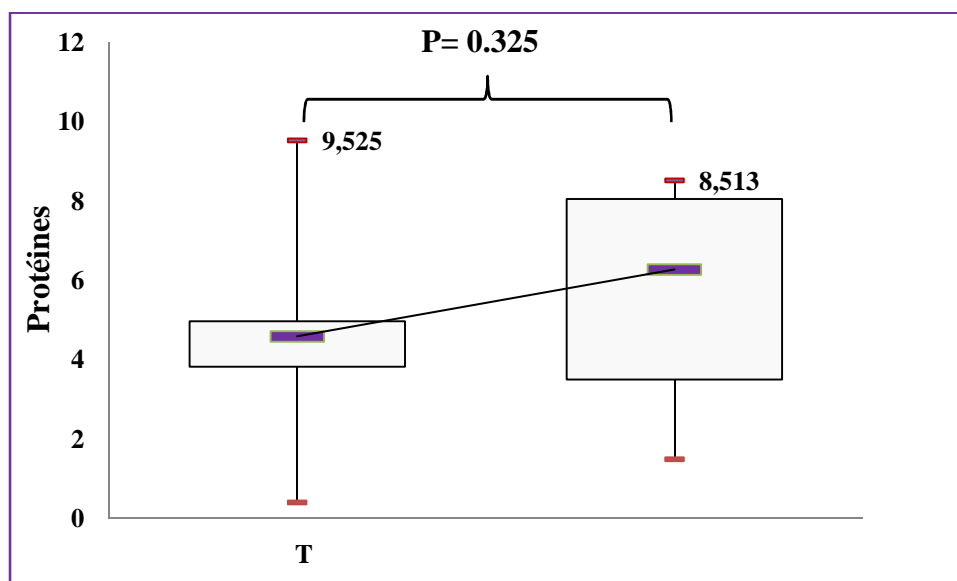


Figure 64 : Variation de taux des protéines des patients atteints d'asthme par rapport aux témoins

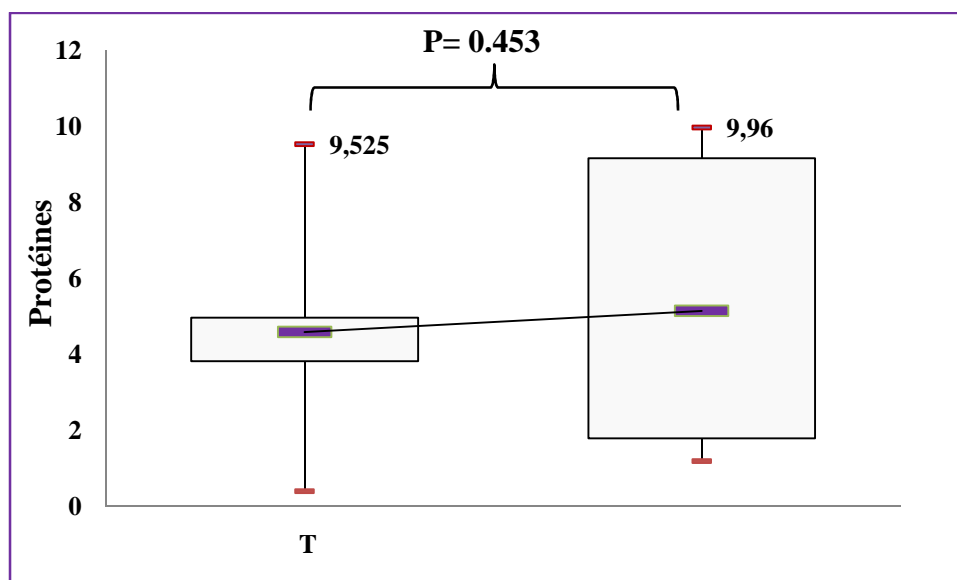


Figure 65 : Variation de taux des protéines des patients atteints d'HTA par rapport aux témoins

7. Dosage des protéines oxydées

Aucune différence significative n'a été observé entre les taux des protéines oxydées des témoins comparée à celle des patients atteints des différentes maladies.

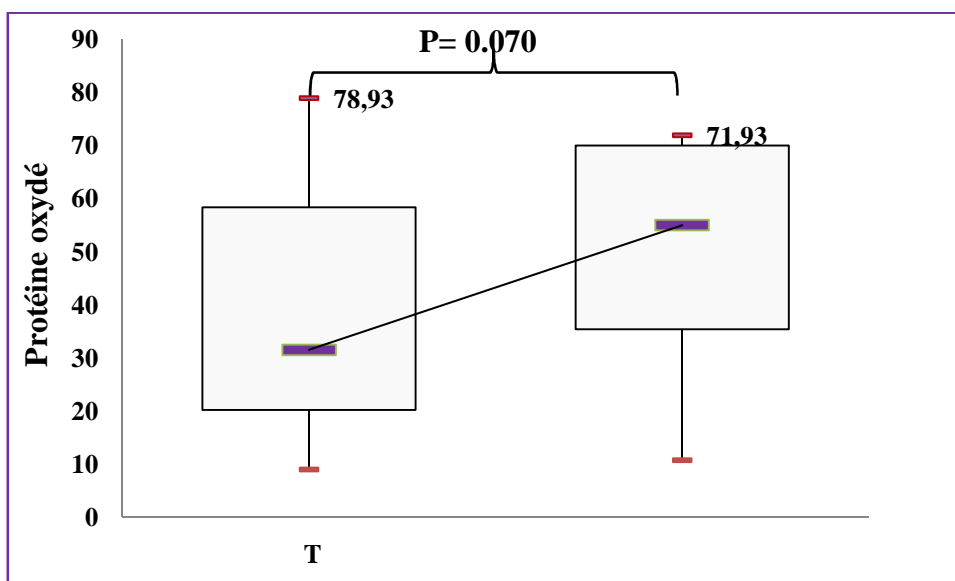


Figure 66 : Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints d'HTA par rapport aux témoins

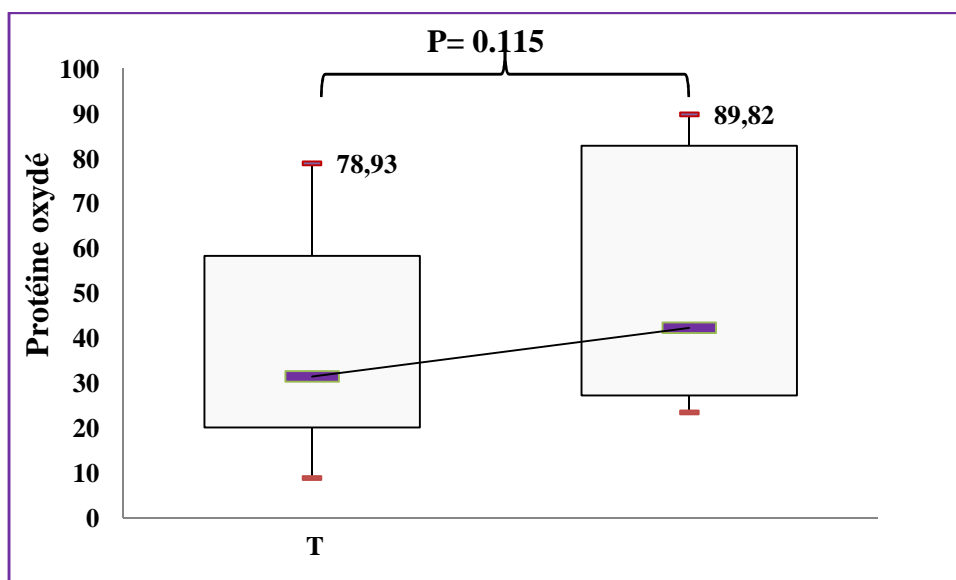


Figure 67 : Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints de diabète type 02 par rapport aux témoins

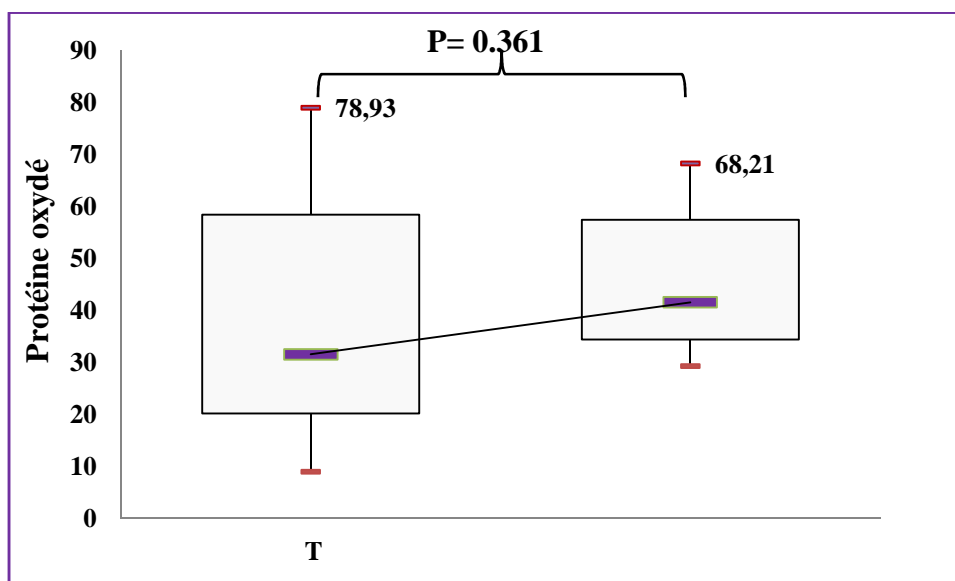


Figure 68 : Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints de cardiopathies par rapport aux témoins

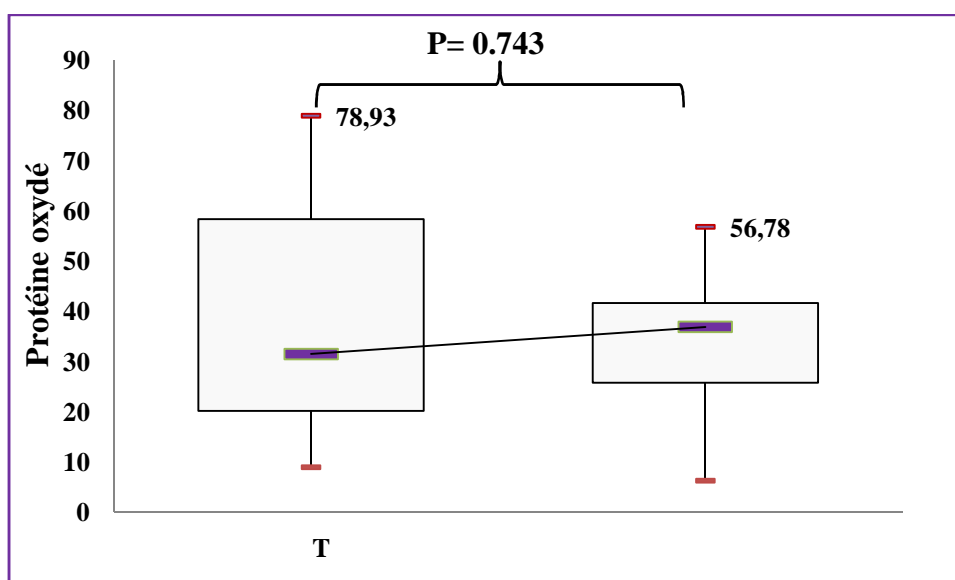


Figure 69 : Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints de diabète type 01 par rapport aux témoins

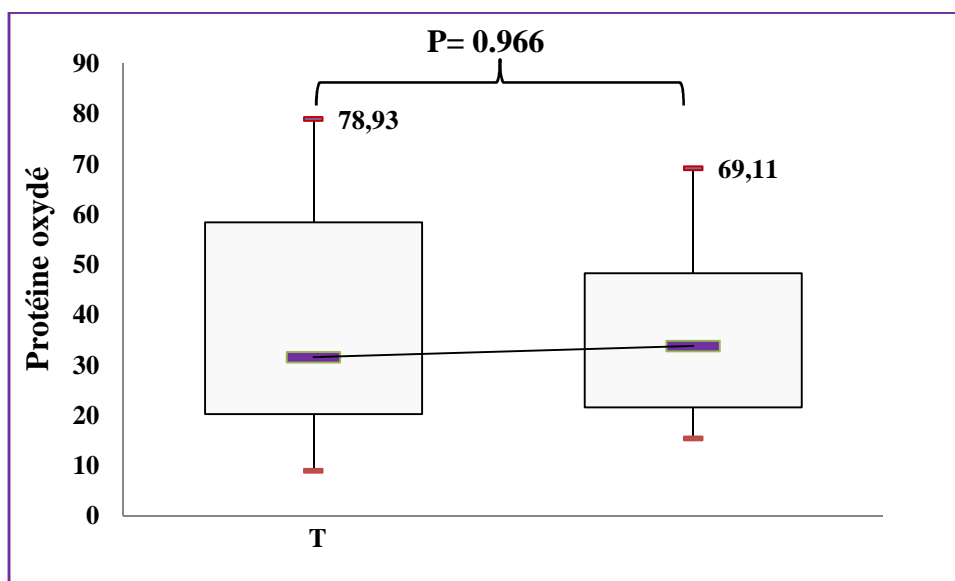


Figure 70 : Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints d'AVC par rapport aux témoins

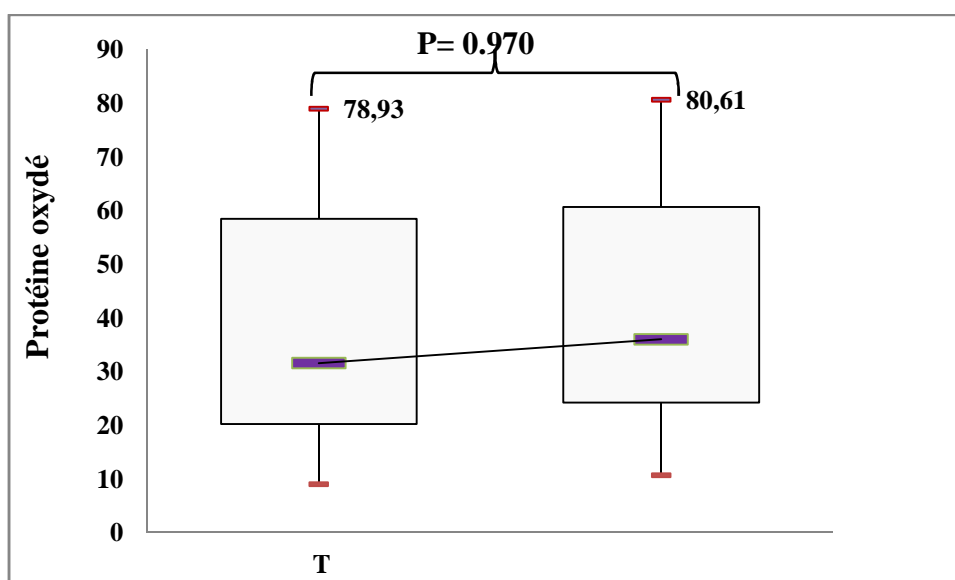


Figure 71 : Variation de taux des protéines oxydées des patients atteints d'asthme par rapport aux témoins

DISCUSSION

Discussion

Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur élimination (**Dalle-Donne et al., 2006; Dhalla et al., 2000**). L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression des produits oxydants grâce à divers mécanismes de défense tant enzymatiques que non enzymatiques.

Le stress oxydatif contribue à l'initiation et à la progression de plusieurs maladies inflammatoires aussi bien cardiovasculaires, neurologiques que métaboliques (**Dalle-Donne et al., 2006; Dhalla et al., 2000**). Son action pro-inflammatoire serait due à son effet direct sur l'activation des gènes codant pour les cytokines d'où une augmentation de la production des cytokines. Les dérivés de l'oxygène, agissant comme seconds messagers, activent les facteurs de transcription tels que le facteur nucléaire kappa B (NF B) et l'activateur de la protéine-1 (AP-1) conduisant à la transcription des gènes codant pour des cytokines et des facteurs de croissance (**Meyer et al., 1993 ; Nath et al., 1998**). Au cours de l'inflammation, la libération des cytokines par les macrophages stimulerait en outre la production des ROS (**Hohmeier et al., 2003 ; Ziyadeh et al., 2008**); par conséquent, la production des cytokines induite par le stress est susceptible d'augmenter encore le niveau de stress oxydatif mise en place d'un cercle vicieux. (**Elmarakby et al., 2010**).

L'objectif de notre étude a été d'évaluer les capacités antioxydantes sériques chez des patients atteints de différentes maladies chroniques.

Notre travail a été réalisé sur des patients atteints de maladies d'étiologies différentes aboutissant toutes à un état inflammatoire. En effet, des taux élevés de nitrites ont été retrouvés chez tous les patients étudiés par rapport aux témoins. Cette augmentation serait due à une expression accrue de l'interleukine -1-b (IL-1-b), de TNF-a, et de l'interferon (IFN) dans les cellules inflammatoires lors des pathologies induisant la production de la iNOS (**Federico et al ., 2007**).

Dans notre travail, le dosage de l'albumine a montré clairement que, par rapport au témoin, l'albuminémie est assez équilibrée chez les patients atteints de diabète (01 et 02), de l'HTA, la cardiopathie, la sclérose en plaque, l'asthme, l'AVC et la tuberculose. Nos résultat sont en accord avec des travaux antécédents ayant montré que l'albumine reste dans les normes chez les patients atteints d'AVC (**Bhatia et al., 2004**), d'HTA (**Chin et al., 2008**), et des cardiopathies d'origine

ischémique (**Krijgsman et al., 2002**). Cependant, d'autres travaux ont montré une diminution des taux de l'albumine chez les patients atteints de diabète (**Blackburn et al., 2005**), de sclérose en plaque (**Fuhua et al., 2011**) ainsi que ceux atteints d'asthme (**Vural et al., 2000**).

En parallèle, les patients atteints de l'HCV et de la cirrhose ont montré une diminution de la concentration sérique en albumine. Nos résultats sont en accord avec l'équipe de **Pradeep (2012)** et **Fizanne (2010)** qui ont été trouvés une hypoalbuminémie chez les patients atteints des mêmes maladies.

L'albumine représente l'antioxydant majoritaire du plasma, un compartiment du corps fortement sollicité par le stress oxydatif. La plupart de ses propriétés antioxydantes est attribuée à sa capacité de fixation de nombreux ligands, par l'adaptabilité de sa structure. De plus le seul groupement thiol libre au niveau du résidu Cys34 de l'albumine lui confère des capacités supplémentaires de fixation et la possibilité de piéger des radicaux libres (**Rondeau, 2010**). Au niveau plasmatique, du fait de ses propriétés antioxydantes, l'albumine est particulièrement exposée en présence d'une augmentation du stress oxydatif. Celui-ci est en partie responsable de l'altération fonctionnelle de l'albumine au cours des atteintes hépatiques sévères. Les ROS et les ERN, ainsi que les produits issus de leur dégradation (peroxydation lipidique), modifient la conformation et les propriétés électrostatiques de l'albumine, réduisant ses capacités de liaison (avec les acides gras ou les xénobiotiques, par exemple) ainsi que ses effets antioxydants. L'oxydation de l'albumine induit un changement de pharmacocinétique responsable d'une accélération de l'élimination de la molécule facteur participant probablement à l'hypoalbuminémie (**Fizanne et Oberti, 2010**).

Le foie étant le seul site de synthèse de l'albumine, lors des maladies hépatiques telles que la HCV et la cirrhose, la concentration plasmatique en albumine se voit diminuée en raison d'une altération de la fonction de synthèse hépatique ou peut être également par un défaut d'excrétion hépatocytaire (**Fizanne et Oberti, 2010**). Ainsi, au cours de ces pathologies, les capacités de liaison et de transport de l'albumine sont diminuées et sont corrélées avec la sévérité de la maladie (**Klammt et al., 2007 ; Jalan et al., 2009**). Cette altération fonctionnelle globale est due en partie à l'hypoalbuminémie, mais aussi à des modifications conformationnelles. Les propriétés de liaison de l'albumine dépendent en effet de la structure tridimensionnelle des sites de liaison répartis sur la molécule. En principe, toute modification de la protéine peut entraîner une modification de sa conformation et donc de ses propriétés de liaison.

Nos résultats concernant les protéines totaux et ceux des protéines oxydées montrent des taux légèrement augmentés par rapport aux témoins mais statistiquement non significatif. Les protéines oxydées sériques représentent en majorité l'oxydation de l'albumine, cependant nos résultats ne montrent pas d'altération dans les taux d'albumine ; ce qui se répercuterait sur les taux de protéines oxydants et expliquerait ces résultats. Les résultats des protéines oxydées associés à ceux de l'albumine et des protéines totaux montreraient que les protéines ne seraient pas affectées par le stress oxydant et ne seraient pas altérés par ce dernier dans les pathologies étudiées.

Nos résultats montrent une augmentation significative des taux de la bilirubine directe dans toutes les maladies étudiées, nous avons constaté aussi des taux élevés de la bilirubine totale chez nos patients à l'exception de ceux qui atteints de diabète type 02 et d'asthme. Les travaux antérieurs des équipes de **Cheriyath 2010 ; Chin (2008) ; Dohi (2003) ; Jing-Ping (2010) ; Pradeep (2012)** ont été montrés une augmentation des taux de la bilirubine dans le diabète, l'HTA, l'AVC, les cardiopathies, l'HCV et ainsi que la cirrhose hépatiques respectivement. Contrairement l'équipe de **Blackburn (2005)** ont été montrés une diminution de taux de bilirubine au cours de diabète type 02.

Plusieurs études ont montré que les différentes formes circulantes de bilirubine sont des antioxydants puissants. La bilirubine synthétisée lors du métabolisme de l'hème par l'action successive de différentes enzymes. L'une d'elle, l'hème oxygénase (HOX-1) enzyme microsomale présente dans les deux tissus centraux et périphériques, limite la vitesse de production de la bilirubine et convertit l'hème à la biliverdine (**Maines, 1988**). La biliverdine est ensuite réduite en bilirubine par une enzyme cytosolique la biliverdine réductase (**Yamaguchi, et al., 1994**). De plus, les dérivés de NO tels que les nitrites induisent l'activation de l'hème oxygénase (HOX-1) (**Cavicchi,et al., 2000**). Cette activation augmente la formation de la bilirubine dans les états pathologiques (**Maines., 1988**).

L'activité antioxydante de la bilirubine aussi bien conjuguée que non conjuguée est liée à son efficacité à piéger les radicaux peroxyde et d'être en mesure de protéger contre la peroxydation lipidique (**Siow et al.,1999 ; Yamaguchi et al.,1996**). La bilirubine se lie avec l'albumine pour nettoyer les acides gras liés aux radicaux libres (**Sharma et al., 2006**). Au cours des maladies inflammatoire, une diminution importante de l'affinité de la bilirubine pour l'albumine a été observée, suggérant le rôle clé de la Lys525 dans la capacité de fixation de ligands par l'albumine (**Shaklai et al., 1984**).

L'acide urique est un produit final du métabolisme des purines l'un des principaux antioxydants endogènes solubles dans le corps (**Becker., 1993**).

Nos résultats ne montrent aucune différence significative des taux d'acide urique chez les patients atteints de tuberculose, d'HCV, de cirrhose, de diabète type 01, ainsi que ceux atteints de sclérose en plaque par rapport aux témoins alors que les études de l'équipe de **Afzali (2010)** ; **Fuhua (2007)** ; **Marra (2001)** ; **Papastavros (2002)** montrent une augmentation significative des taux d'acide urique dans les mêmes pathologies respectivement. Egalement, notre travail montre des taux élevés d'acide urique chez les patients atteints de diabète type 02, l'HTA, l'AVC, les cardiopathies et d'asthme. Nos résultats sont en accord avec les études de l'équipe de **Cherubini (2000)** ; **Johnson (2003)** ; **Perlstein (2006)** ; **Yamada (2011)** qui ont été trouvés que les taux d'acide urique ont été élevé chez les patients atteints d'AVC, des cardiopathies, d'HTA ainsi que de diabète type 2 respectivement. Contrairement à ces travaux, l'équipe de **Misso (2005)** ont été trouvé que l'acide urique reste équilibré chez les patients atteint de l'asthme.

Les niveaux élevés d'acide urique sérique sont dus à une augmentation de leur production ou une diminution de son excrétion. L'ATP est dégradée en adénine et en xanthine, et il augmente également la production de la xanthine oxydase. La disponibilité accrue de substrat (xanthine) et de l'enzyme (la xanthine oxydase) entraîne la production accrue d'acide urique (**Johnson et al., 2003**).

En outre, tandis que l'acide urique est considéré comme un antioxydant, il joue un rôle neuroprotecteur dans les accidents cérébraux-vasculaire (**Yu et al., 1998**), il est considéré comme un oxydant dans d'autres conditions, et il est impliqué dans le développement de certaines maladies (**Abuja, 1999** ; **Santos et al., 1999**).

Certains auteurs ont trouvé que les niveaux élevées de l'acide urique dans l'HTA peuvent provoquer des dommages aux organes ciblé par l'HTA (telles que les reins et les yeux) (**Viazzi et al., 2005**) en exerçant un effet délétère sur la fonction endothéliale (**Johnson et al., 2003**).

Yamada (2011) et son équipe montrent que l'hyperuricémie est un prédicteur de la survenue d'accidents vasculaires cérébraux chez patients atteint de diabète type 02 (**Lehto et al. 1998**).

CONCLUSION

Le stress oxydatif et ses effets sur les cellules de l'organisme est un phénomène très étudié, car il est responsable des conséquences multiples touchant les acides nucléiques, les protéines ou les lipides et l'induction de plusieurs maladies.

L'évaluation de stress oxydatif chez les individus atteints de différentes maladies chroniques consiste à mesurer la concentration en produits résultant de l'attaque radicalaire ainsi que des composés participant à la protection anti radicalaire.

Notre travail a porté sur l'évaluation des capacités antioxydants sérique chez les patients atteints de différentes maladies chroniques inflammatoires.

Les résultats du dosage montrent une perturbation du métabolisme révélée par:

❖ la présence d'une différence significative du taux d'acide urique entre les témoins et les patients atteints de diabète type 2, l'HTA, l'AVC, d'asthme ainsi les cardiopathies, par contre, aucune différence significative chez les patients atteints de tuberculose, l'hépatite C virale, diabète type 1, sclérose en plaque ainsi que ceux atteints de cirrhose de foie .

❖ une différence significative des taux sériques en bilirubine totale chez les patients atteints de diabète type 1, d'AVC, cardiopathies, d'HCV, d'HTA, de cirrhose de foie ainsi que ceux atteints de tuberculose alors qu'aucune différence significative n'a été observée entre les taux de bilirubine totale des témoins comparée à celle des patients atteints de diabète type 02 ainsi que ceux atteints d'asthme.

❖ Une augmentation de manière significative des taux sériques en bilirubine directe dans toutes les maladies.

❖ Un équilibre des taux de l'albumine chez la majorité des patients par rapport au témoin sauf les patients qui atteint l'HCV et la cirrhose de foie.

Les résultats trouvés chez les patients confirmeraient la présence du stress oxydatif durant toutes les maladies étudiées et leur implication associées à plusieurs facteurs conduisant à son évolution.

BIBLIOGRAPHIE

A

Abuja, PM. (1999).Ascorbate prevents prooxidant effects of urate in oxidation of human low density lipoprotein. *FEBS Lett.* 446:305–308.

Ames, Z. (1996). The roles of free radicals in amyotrophic lateral sclerosis: reactive oxygen species and elevated oxidation of protein, DNA, and membrane phospholipids. *FASEB J.* 13, 2318–2328.

Afzali, A. Noel S, Boyko. J, Ioannou. N. (2010). Association Between Serum Uric Acid Level and Chronic Liver Disease in the United States. (*HEPATOLOGY*;52:578-589)

B

Bandyopadhyay, M., Chakraborty, R., Raychaudhuri, U.(2007). A process for preparing a natural antioxidant enriched dairy product (Sandesh). *LWT*; 40(5): 842-51.

Barton, C.H., Ni, Z., Vaziri, N.D. (2001). Enhanced nitric oxide inactivation in aortic coarctation-induced hypertension. *Kidney Int.* 60(60): 1083-1087.

Barton, C.H., Ni, Z., Vaziri, N.D. (2001). Enhanced nitric oxide inactivation in aortic and fate of erythropoietin in human milk. *Pediatr. Res.* 48(48): 660-667.

Beaudeau, J.L., Delattre ,J., Therond ,P., Bonnefont-Rousselot ,D., Legrand, A., Peynet J.(2006) . Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose, 21, 144-150.

Beker ,BF.,(2004). Formation of reactive oxygen species by the contracting diaphragm is PLA2 dependent. *J. Appl. Physiol.* 87, (1), 792-800.

Becker, BF., Toward,S. the physiological function of uric acid. (1993).*Free Radic Biol Med.*;14:615–631.

Bhatia R, S., Garg, R. K., Gaur, S. P., Kar ,A. M., Shukla, R., Agarwal ,A., Verma R. (2004).Predictive value of routine hematological and biochemical parameters on 30-day fatality in acute stroke. *52*:220-3

Blackburn, E. Harris, MD. (2005). Elevated Liver Function Tests in Type 2 Diabetes. *Clinical diabetes* Volume 23, (3).

Boldyrev, A.A. (1993). Does carnosine possess direct antioxidant activity, *Int. J. Biochem.* 25(8), pp : 1101-1107.

C

Cavicchi, M., Gibbs, L., Whittle, BJR., (2000). Inhibition of inducible nitric oxide synthase in the human intestinal epithelial cell line, DLD1, by the inducers of heme-oxygenase-1, bismuth salts, heme and nitric oxide donors. 47 : 771-8.

Cortijo, J., Marti-Cabrera, M., Asuncion, J.G., Pallardo, F.V., Esteras, A., Bruseghini L., Vina J., Morcillo E.J. (1999). Contraction of human airways by oxidative stress protection by N-acetylcysteine. *Free Radical Biol. Med.* 27, (3-4), 392-400.

D

Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin. Chem.*, 52, 601–623.

De Robertis, E.D.P., De Robertis, E.M.F. (1983). *Biologie cellulaire et moléculaire.* Presses Université Laval, pp : 287.

Dhalla, N. S., Temsah, R. M., & Netticadan, T. (2000). Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J. Hypertens.*, 18, 655–673.

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 82, 47-95.

E

Edeas, M., (2005). *Les secrets de santé du thé : c'est naturel, c'est ma santé.* Alpen Editions s.a.m., pp : 18.

Elmarakby, A, Sullivan, C. (2012). Relationship between Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. *Cardiovascular Therapeutics* 30 49–59

F

Fanuel-Barret, ., Collignon, C. (1990). Les ictères du chat. *Med. Vét. Spécial chat* 166, 611-618.

Favier ,A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel dans la compréhension des mécanismes et potentiel thérapeutique. *Act. Chim.*, novembre-décembre 2003, 108-115.

Favier, A., (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* pp : 108-115.

Favier, A., (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Biol Clin*, 64(6) : 390-6.

Fizanne, Lionel., Oberti, Frédéric.(2010).Effets bénéfiques del'albumine sur la dysfonction vasculaire au cours de la cirrhose : rôle antioxydant. *Hepato-gastro et oncologie digestive.*, 1254-1261.

Fuhua, Peng., Bin, Zhang., Xiufeng ,Zhong., Jin, Li., Guihong, Xu., Xueqiang Hu,Wei, Qiu., Zhong, Pei. (2007). Serum uric acid levels of patients with multiple sclerosis and other neurological diseases. *cardiovascular biology and disease. Circ. Res.* 86(86): 494-501.

Fuhua, Peng., Xuhui, Deng., Yang, Yu., Xiaohong ,Chen., Liping Shen., Xiufeng Zhong., Wei Qiu., Ying Jiang., Jie Zhang., Xueqiang Hu.(2011).Serum bilirubin concentrations and multiple sclerosis. *Journal of Clinical Neuroscience* , Issue 10, October, Pages 1355–1359.

G

Gammoudia, A., Dandanaa, H., Chaheda ,S., Ferchichia ,S., Ernezb A. (2013). Évaluation des paramètres du stress oxydant chez des patients coronariens. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* : 28, pp : 39–42.

Godbout, J. P., Berg, B. M., Kelly, K., W., Johnson, R. W. (2004). -Tocopherol reduces lipopolysaccharide-induced peroxide radical formation and interleukin-6 secretion in primary murine microglia and in brain,101-109.

Griendling, K.K., Sorescu, D., Ushio-Fukai, M.(2000). NAD(P)H oxidase: role in coarctation-induced hypertension. *Kidney Int.* 60(60): 1083-1087.

Guerci B., Bohme P., Kearney-Schwartz A., Zannad F., Drouin P.(2001). Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 27: 436-447.

Guidot,P.(1995). Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol Scand*;151:149–58.

Grandjean,S. (2005).Recapitulation of premature ageing with iPSCs from Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 472, 221–225.

H

Haling,R. (2007). Arachidonic acid interaction with the mitochondrial electron transport chain promotes reactive oxygen species generation. 27, (1), 66–85.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Arnoma O.L. (1987). The deoxyribose method: A simple test tube assay for the determination of rate constant for reaction of hydroxyl radical. *Anal Biochem*, 165, pp : 215-219.

Halliwell, B., Gutteridge ,J. M. C. (2008). *Free Radicals in Biology and Medicine.* Fourth Edition. Oxford University Press.

Hansford, R., Hogue B., Mildaziene., (1997). Dependence of H₂O₂ formation by rat heart mitochondria on substrate availability and donor age. *J Bioenerg Biomembr* 29: 89-95

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul ,F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér.*1. pp : 3-6.

Hohmeier HE, Tran VV, Chen G, Gasa R, Newgard CB. (2003).Inflammatory mechanisms in diabetes: Lessons from the beta-cell. *Int J Obes Relat Metab Disord*,27(Suppl 3):S12–S16.

Huang, A., Vaziri, N.D., Xu, Z.G., Shahkarami , K.T., Rodriguez-Iturbe, B., Natarajan, R.(2004). Role of AT1 receptor in regulation of vascular MCP-1, IL-6, PAI-1, MAP
Dysfunctional renal nitric oxide synthase as a determinant of salt-sensitive hypertension: mechanisms of renal artery endothelial dysfunction and role of endothelin for vascular

hypertrophy and Glomerulosclerosis. J. Am. Soc. Nephrol. 11(11): 835-845

I

Ichai, C., Quintard, H. et Orban J.C. (2011). Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement, Edition Springer, pp : 427.

J

Jacotot ,B. (1997). Vitamine E et athérosclérose. Rev Méd Interne 15; pp : 627-629.

Jacques, B., André, R., (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp:217-225.

Jadot, G. (1994). Antioxydants et vieillissement, Edition John Libbey Eurotext, pp : 35.

Jean-Pierre, B., Johannes, B., Neil ,M., Mario ,R., Juan ,R., (2002). Hépatologie clinique. 2ème édition. Médecine-Sciences Flammarion. Paris, p.2148

Jeyalakshmi ,S. R., Kumar ,S. S., Mathiyarasu J., Phani K. L. N.,. Yegnaraman, V. (2007). Simultaneous determination of ascorbic acid, 46 ,957-961.

Jing-Ping Lin, Libor Vitek, Harvey A. Schwertner. (2010). Serum Bilirubin and Genes Controlling Bilirubin Concentrations as Biomarkers for Cardiovascular Disease. Clinical Chemistry 1535–1543

Johson, R.J., Kang ,D.H., Feig, D., Kivlighn, S., Kanellis ,J., Watanabe, S., Tuttle, KR., Rodriguez-Iturbe ,B., Herrera-Acosta ,J., Mazzali M. (2003). Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? Hypertension.416:1183–1190.

Jung-bluth G.(2008). Les espèces réactives de l'oxygène et leurs principales implications dans la physiopathologie canine. Thèse Méd. Vét., Lyon, , n°14.

K

Karp ,G. (2010). Biologie cellulaire et moléculaire : Concepts and experiments. Edition De Boeck Supérieur, pp : 35.

Kioke ,R., Jackel-Cram, C., Babiuk ,L.A., Q. Liu. (2010). Hepatitis C Virus Induces Proteolytic Cleavage of Sterol Regulatory Element Binding Proteins and Stimulates Their Phosphorylation via Oxidative Stress. *J Virol.*, 81(15): p. 8122-30.

Koechlin-Ramonatxo,C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* 20, pp : 165–177.

Krinsky,N.(1989) oxidative stress, and endothelial dysfunction : the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/ Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. *Clin Chem*, **54**, 1-10.

Krijgsman, B ., Papadakis ,JA., Ganotakis ,ES., Mikhailidis, DP., Hamilton, G., (2002).The effect of peripheral vascular disease on the serum levels of natural anti-oxidants: bilirubin and albumin. *Mar.21(1):44-52.*

Krippeit-Drews, P., Lang, F., Haussinger, D., Drews G. (1994). H₂O₂ induced hyperpolarization of pancreatic B-cells .*Pflugers Arch.* 426, pp : 552-554.

ℒ

Lacolley ,P. (2007). Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux. Edition John Libbey Eurotext, pp : 312.

Lehto, Seppo., MD; Leo Niskanen, MD; Tapani Roïnnemaa, MD; Markku Laakso, MD. (1998).Serum Uric Acid Is a Strong Predictor of Stroke in Patients With Non–Insulin-Dependent Diabetes Mellitus.;29:635-639.

Leppert,k., Rodrigo, R., Bosco, C. (1995). Amyotrophic lateral sclerosis models and human neuropathology:similarities and differences. *Acta Neuropathologica* 115, 97–114.

Leverve ,Xavier. (2009). Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* Volume 44, Issue 5, pp : 219–224.

Levrros, M. (2006).Viral hepatitis and liver cancer: the case of hepatitis C. *Oncogene*, **25(27):p.** 3834-47.

M

Maines, MD. (1988).Heme oxygenase: function, multiplicity, regulatory mechanisms, and clinical application . 2: 2557–68.

Mang, N, . Quiroz, Y., Vaziri, N., Rodriguez-Iturbe, B.(2003). Melatonin reduces renal interstitial inflammation and improves hypertension in spontaneously hypertensive rats. 284(284): 447-454.

Marra, Giampiero., Patrizia, Cotroneo., Dario, Pitocco., Andrea, Manto., Mauro, A.S., Di leo, Valeria Ruotolo., Salvatore ,Caputo., Bruno, Giardina., Giovanni, Ghirlanda., Stefano, A. Santini.(2002).Early Increase of Oxidative Stress and Reduced Antioxidant Defenses in Patients With Uncomplicated Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 25:370–375.

Martinez-Cayuela M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.*77.

Mates ,JM., Perez-Gomez ,C., Nunez de Castro I. (1999).Antioxidant enzymes and human diseases.*Clin Biochem,* ; 32(8) : 595-603.

Mates ,JM., (2000).Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology,* ; 153(1-3) : 83-104.

Meng, S., Cason, G.W., Gannon, A.W., Racusen, L.C., Manning, R.D., Jr. (2003). kinase, and matrix expressions in obesity. *Kidney Int.* 68(68): 2787-2793

Meng, S., Roberts, L.J., Cason, G.W., Curry, T.S., Manning, R.D., Jr. (2002). Superoxide dismutase and oxidative stress in Dahl salt-sensitive and -resistant rats. *Am. J.Physiol Regul. Integr. Comp Physiol* 283(283).

Merrill, K.J., Grierson, A.J., Ackerley, S., and Miller, C.C.J. (1997). Role of axonal transport in neurodegenerative diseases. *Annu. Rev. Neurosci.* 31, 151–173.

Meyer,M., Schreck, R., Baeuerle, PA., (1993).H₂O₂ and antioxidants have opposite effects on activation of NF-kappa B and AP-1 in intact cells: AP-1 as secondary antioxidant-responsive factor. 12:2005–2015.

Moussard ,C., (2006). Biochimie structurale et métabolique, Edition De Boeck Supérieur, pp : 336.

N

Nath, KA., Grande J, Croatt A, Haugen J, Kim Y, Rosenberg, ME. (1998).Redox regulation of renal DNA synthesis, transforming growth factor-beta1 and collagen gene expression.53:367–381.

O

Owens, k.(1991).Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Biol Clin*, ; 676 : 450-6.

P

Packer, L., Kraemer, K. and Rimbach G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition* 17(10), pp : 888-895.

Papastavros ,Tina., Dolovich, Lisa R., Holbrook, Anne., Whitehead, Lori., Mark, Loeb. (2002).Adverse events associated with pyrazinamide and levofloxacin in the treatment of latent multidrug-resistant tuberculosis. 167 (2) .

Paredi ,P., Kharitonov, S.A., Barnes ,P.J. (2002). Analysis of expired air for oxidation products. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 166, 31–37.

Patterson-Kane, J.C., Firth, E.C. (2009). The pathobiology of exercise-induced superficial digital flexor tendon injury in thoroughbred racehorses. *The Veterinary Journal* 181, (2), 79–89.

Peters, T. Jr. (1985). Serum albumin. *Adv Protein Chem.* vol.37: p. 161-245.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne ,JO. (1999). L'évaluation du stress oxydatif.p.(38).

Piquet, M.A. et Hébuterne, X. (2007). Nutrition en pathologie digestive. Edition Wolters Kluwer France, pp : 93.

Pradeep: Kumar. , Suchitra, M., Madhusudhana, Rao. , Aparna ,R Bitla1., Siva Kumar., Srinivasa Rao. (2012).Evaluation of ischemia modified albumin in hepatitis C

positive hemodialysis patients: p370-398.

Punitha,w.(2005), Diabetic vascular disease : it's all the RAGE. *Antioxid Redox Signal*, **7**, 1588-1600.

R

Roche,M., Fagbemi ,TN., Ifesan ,BT., Badejo ,A.(2008). Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *The FASEB Journal* 13, (9), 1007–1024.

Rehman, A., Nourooz ,J., Moller, W. (1999). Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type 2 diabetes mellitus. *FEBS Lett.* 448. pp : 120-122.

Romanie,H., Iwata, M. Kim, K.H., (1994). Ultrastructural study of synapses in the anterior horn neurons of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci. Lett.* 204, 53–56.

Roy, D., Quiles ,J., Gaze ,DC., Collinson ,P., Kaski, JC., Baxter GF.(2006).Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischemia modified albumin. *Heart*; 92: 113-4.

S

Santos, CXC. Anjos ,EI ., Augusto, O., (1999).Uric acid oxidation by peroxynitrite: multiple reactions, free radical formation, and amplification of lipid oxidation. *Arch Biochem Biophys.*372:285–294.

Sedlak,TW.,Schwartz D.D., Quindry J., Barberio M. D., Foster E. B., Jones K. W., Pascoe D.D. (2009). Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise. *J Appl Physiol* 110, (3), 730–737.

Scheibmeir, HD., Christensen, K., Whitaker, SH., Jegaethesan, J., Clancy ,R., Pierce, JD. (2005)A review offree radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive Crit Care Nurs* ;21(1) : 24-8.

Sharma, R., Gaze ,DC., Pellerin, D., Mehta, RL., Gregson, H., Streather ,CP. (2006) .Ischemiamodified albumin predicts mortality in ESRD. 47:493-502.

Sheikh, A.D. (2008). Effect of vitamin E supplementation on post-exercise plasma lipid peroxidation and blood antioxidant status in smokers. *73*:501–5.

Siow, R.C., Sato, H., Mann, G.E., (1999). Heme oxygenase-carbon monoxide signalling pathway in atherosclerosis: anti-atherogenic actions of bilirubin and carbon monoxide *41*:385–94.

Stocker, R., Yamamoto, Y., McDonagh, A.F., Glazer, A.N., Ames, B.N. (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* *235* (4792), pp : 1043-1046.

T

Tian, N., Thrasher, K.D., Gundy, P.D., Hughson, M.D., Manning, R.D., Jr. (2005). Antioxidant treatment prevents renal damage and dysfunction and reduces arterial pressure in salt-sensitive hypertension. *Hypertension* *45*(45): 934-939.

Tessier and Marconnet V. (1995). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obesity*, 2006, **30**, 400–418.

Tsutsui, H. (2001). Oxidative stress in heart failure: the role of mitochondria. *Internal Med.* *40*, 1177-1182.

Turrens, J. F. (1997). Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Bioscience Reports* *17*(1), pp : 3-8.

V

Vaziri, N.D. (2008). Causal link between oxidative stress, inflammation, and hypertension. *Iran J. Kidney Dis.* *2*(2): 1-10.

Viazzi, F., Parodi, D., Leoncini, G., Parodi, A., Falqui, V., Ratto, E., (2005). Vettoretti S, Bezante GP, Del Sette M, Deferrari G, Pontremoli R. Serum uric acid and target organ damage in primary hypertension. *Hypertension*. *45*:991–996.

Villasante, A., Araneda, O.F., Behn, C., Galleguillos, M., Adames, H. (2010). Antioxidant capacity and oxidative damage determination in synovial fluid of chronically

damaged equine metacarpophalangeal joint. *Veterinary Research Communications* 34, (2), 133141.

Vural ,Hüseyin ., MD, Kürsat Uzun MD. (2000).Serum and red blood cell antioxidant status in patients with bronchial asthma. November/December,p.2583

W

Woodhouse, J. N., Newton, J.R., Chanter, N., Mumford, J.A. (2010). Association between respiratory disease and bacterial and viral infections in british racehorses. *Journal of Clinical Microbiology* 43, (1), 120–126.

Y

Yamada, T., Fukatsu, M., Suzuki, S., Wada, T., Joh T. (2011) . Elevated serum uric acid predicts impaired fasting glucose and type 2 diabetes only among Japanese women undergoing health checkups. *Diabetes & Metabolism* 37, 252–258.

Yamaguchi ,T., Komoda ,Y., Nakajima, H. (2002). Biliverdin IXa-reductase and biliverdin IXb-reductase from human live. 269: 24343–8.

Yu ZF, Bruce-Keller AJ, Goodman Y, Mattson MP. (1994).Uric acid protects neurons against excitotoxic and metabolic insults in cell culture and against focal ischemic brain injury in vivo. *J Neurosci Res.*;53:613–625.

Yu ,ZF., Bruce-Keller, AJ., Goodman, Y., Mattson MP.(1998).Uric acid protects neurons against excitotoxic and metabolic insults in cell culture and against focal ischemic brain injury in vivo. *J Neurosci Res.* 53:613–625.

Z

Zelko, I.N, Mariani T.J, Folz R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family : a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD 2) and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution and expression. *Free radical Biol. Med.*, 33, 337-349.

Zhao, Y., Juul, S.E., Dame, J.B., Du, Y., Hutson, A.D., Christensen, R.D.(2009). Origin Oxidative stress in Dahl salt-sensitive hypertension. *Hypertension* 41(41): 1346-1352.

Ziyadeh, FN, Wolf G.(2008).Pathogenesis of the podocytopathy and proteinuria in diabetic glomerulopathy. *Curr Diabetes Rev*,4:39–45.



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussignée,

Nom, Prénom : Mesnadi Ahlem

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 4012147

Année universitaire : 2015/2016

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie et Biologie Moléculaire

Intitulé du mémoire : Exploration de la Variation des Paramètres Biochimiques Antioxydants Sériques Lors des Différentes Pathologies Chroniques

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni copié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 23/06/2016

Signature de l'étudiant(e) :

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Mesnadi Ahlem', written over a horizontal line.



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom :Merkhi Fatiha

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 4018720

Année universitaire : 2015/2016

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie et Biologie Moléculaire

Intitulé du mémoire : Exploration de la Variation des Paramètres Biochimiques Antioxydants Sériques Lors des Différentes Pathologies Chroniques

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni copié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 23/06/2016

Signature de l'étudiant(e) :