

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de biologie



MÉMOIRE

Présenté par

ATTAR Imane & MAKHOUKHI Fatima Zahra

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En sciences biologiques

Option : Physiologie cellulaire et Physiopathologie

Thème

Les Biomarqueurs Salivaires comme diagnostic Sanitaire

Soutenu le 22/06/2022, devant le jury composé de :

Présidente	SAKER Meriem	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	MERZOUK Amel Z	MCA	Université de Tlemcen
Promotrice	MERZOUK Hafida	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا ^{صَلِّ} إِنَّكَ
أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ"

"سورة البقرة الآية : 32"

Résumé

Titre : Les Biomarqueurs Salivaires comme diagnostic Sanitaire

L'objectif de ce travail est d'évaluer si la salive peut être utilisée pour détecter le niveau de stress oxydatif de l'organisme. On mesure les marqueurs suivants du statut redox salivaire : malondialdéhyde, protéines carbonylées, peroxydant, glutathion réduit, superoxyde dismutase.

Nos résultats montrent une augmentation des teneurs salivaires en MDA, protéines carbonylées et peroxydant chez les personnes diabétiques et les personnes âgées comparées aux témoins jeunes. Les teneurs salivaires en GSH ne varient pas entre les groupes étudiés. De plus, l'activité de la superoxyde dismutase est réduite chez les personnes diabétiques et les personnes âgées.

En conclusion : les changements dans les marqueurs pro-oxydants et les enzymes antioxydants dans la salive justifient que ce fluide biologique peut convenir à l'évaluation du stress oxydatif lors des pathologies.

Mots clés : salive, stress oxydant, diabète, marqueurs de statut redox, vieillissement.

Abstract

Title: Salivary Biomarkers as Health Diagnosis

The objective of this work is to evaluate whether saliva can be used to detect the level of oxidative stress in the body. The following markers of salivary redox status are measured: malondialdehyde, carbonyl proteins, peroxydant, reduced glutathione, superoxide dismutase. Our results show an increase in salivary MDA, carbonyl protein and peroxydant levels in diabetic patients and elderly people compared to young controls. Salivary GSH levels do not vary between the groups studied. Moreover, superoxide dismutase activity is reduced in diabetic patients and elderly people.

In conclusion: the changes in pro-oxidant markers and in antioxidant enzymes in saliva justify that this biological fluid can be suitable for the evaluation of oxidative stress associated to pathologies.

Key words: aging, saliva, oxidative stress, diabetes, redox status markers.

المخلص

العنوان: المؤشرات الحيوية اللعابية كتشخيص صحي

الغرض من هذا العمل هو تقييم ما إذا كان يمكن استخدام اللعاب للكشف عن مستوى الإجهاد التأكسدي في الجسم. يتم قياس العلامات التالية لحالة الأوكسدة اللعابية: Malondialdehyde، peroxydant، protéines carbonylées، Glutathion المختزل، superoxyde dismutase الفائت.

تظهر نتائجنا زيادة في مستويات اللعاب من MDA، Protéines carbonylées، peroxydant في مرضى السكر وكبار السن مقارنة بمستويات اللعاب من GSH لا تختلف بين المجموعات المدروسة بالإضافة إلى ذلك، تنخفض مستويات superoxyde dismutase الفائت في مرضى السكر. وكبار السن.

في الختام: التغييرات في إنزيمات مضادات الأوكسدة في اللعاب تبرر أن هذا السائل البيولوجي قد يكون مناسبًا لتقييم الأمراض. **الكلمات المفتاحية:** اللعاب، الإجهاد التأكسدي، السكري، علامات حالة الأوكسدة والاختزال.



Remerciements

Avant tout nous remercions « Allah » qui nous a permis d'atteindre ce jour pour faire ce travail.

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profond respect et nos remerciements à notre promotrice **Pr MERZOUK HAFIDA**, d'avoir encadré ce travail. Un grand merci pour ses directives, ses conseils, ses encouragements, son bon honneur et surtout sa disponibilité et son suivi pour la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements au **Pr SAKER MERIEM**, d'avoir accepté de présider le jury de ce soutenance.

Nous offrons aussi nos sincères remerciements au Dr **MERZOUK AMEL Z**, Maître en conférence au département de Biologie de l'université de Tlemcen, d'avoir bien voulu examiner notre travail.

Nous tenons aussi à exprimer nos plus profonds remerciements à **Mlle BENYELLES MERIEM**, pour ses efforts et son soutien qui était un bon guide afin de réaliser la partie expérimentale de notre travail.

Enfin, Nous profitons de ces quelques lignes pour remercier toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin au bon déroulement de ce travail, en particulier les donneurs d'échantillons pour la réussite de partie pratique.

Fatima-Imane

Dédicaces

Je dédie ce Modeste Travail :

*A ma chère mère que j'adore à en mourir qui m'a toujours
poussé et motivé dans mes études.*

*A mon adorable et gentil père pour son soutien, son
affection et la confiance qu'il m'a accordé.*

*A mes frères : LAHCEN, MOURAD, HOCINE, SID AHMED,
et mes neveux FIRASSE et SOUHANE.*

*A ma proche amie YOUSRA, MERIEM. Merci pour ton aide et
soutien et de me motiver lorsque j'en ai besoin.*

A mon binôme FATIMA, merci pour ton soutien.

Imane



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mon père, mon support dans ma vie, qui m'a dirigé vers la gloire.

A ma chère Mère, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour pour les sacrifices que vous avez fait pour mon instruction.

*A mes sœurs « **FATNA, HANANE, FADIA** » pour leur dévouement, et leur grande tendresse, en plus de m'avoir encouragé dans ma vie*

*A mes chers frères « **KHALED, YUCEF** » Merci d'être à mes côtés quand j'en ai eu besoin.*

*A mes proches « **SABRINA, YOUSRA** », Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection, vous*

Etes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.

*A mon binôme **IMENE** pour son soutien et sa patience.*

*A mes chers amis **HANAA, DONIA, SABRINA**.*

*A toute la famille « **MAKHOUKHI Et HABENE** ».*

Fatima



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des Tableaux

Introduction	1
I. Les glandes salivaires et la salive	2
1. Les glandes salivaires	2
1.1. Anatomie des glandes salivaires	2
1.1.1. Les glandes salivaires principales.....	2
1.1.2. Les glandes salivaires accessoires	3
1.2. Développement et histologie des glandes salivaires	4
1.3. Vascularisation des glandes salivaires	5
1.4. Innervation des glandes salivaires	5
II. Salive	6
2.1. Définition de la salive	6
2.2. Principale caractéristique physico-chimiques de la salive	7
2.3. Composition de la salive	8
2.3.1. Constituants organiques.....	9
2.3.2. Les constituants inorganiques.....	13
2.4. Organisation macromoléculaire.....	14
2.5. Rôle de la salive	14
2.6. Mécanismes de formation de la salive	17
2.7. Mécanismes de contrôle de la sécrétion salivaire	18
2.7.1. Couplage Excitation-sécrétion et salive stimulée	18
2.7.2. Sécrétion salivaire réflex	19
2.7.3. Contrôle hormonal.....	19
III Les biomarqueurs salivaires	20
1. Biomarqueur.....	20
1.1. Définition	20
1.2. Les différents types de biomarqueurs	20
2. Utilisation potentielle des diagnostics salivaires	20

3. Variétés de biomarqueurs pour le diagnostic dans la salive	21
3.1. Les champs d'investigation salivaires: les Salivaomics	21
3.1.1. Le protéome.....	21
3.1.2. Le transcriptome	22
3.1.3. Le génome	22
3.1.4. Le métabolome	22
3.1.5. Le microbiome.....	22
3.1.6. L'épigénomique	23
4. Les techniques d'identification et de quantification des biomarqueurs.....	23
5. Biomarqueurs salivaires pertinents.....	23
5.1. Biomarqueurs endocriniens	25
5.2. Biomarqueurs du stress oxydatif.....	26
5.3. Biomarqueurs communs	27
1. Objectifs	28
2. Matériel biologique	28
2.1. Prélèvements	28
3. Méthodes utilisées.....	30
3.1. Dosage de Malondialdéhyde (MDA) (Draper et Hadley, 1990).....	30
3.2. Dosage de l'enzyme super oxyde dismutase (SOD) (Martin et al., 1987)	30
3.3. Dosage du glutathion réduit (GSH) (Ellman,1959)	30
3.4. Dosage des protéines carbonylées	31
3.5. Dosage du Peroxynitrite.....	31
4. Traitement statistique	31
Résultats	32
1. Caractéristiques de la population étudiée	32
2. Marqueurs salivaires du stress oxydatif.....	32
Discussion :.....	35
Conclusion :.....	39
Références bibliographiques	40
Annexe :	47

Liste des Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribo Nucléique

Art : Artères

CgA : chromogranine A

CRP : Protéine C-réactive (salivaire)

CTn : Troponine cardiaque

DTNB : Réactif d'Ellman

DNTP : 2-nitro-5-mercaptopbenzoïque

EDTA : Acide éthyène diamine tétra-acétique

ELISA : Dosage immunoabsorption par enzyme liée (Enzyme-Linked immunoabsorbent assay)

EOR : Espèce oxygénées réactives

ERN : Espèce Réactives de l'Azote

ERO : Espèce Réactives d'Oxygène

GGT : Gamma glutamyl transférase

GRO- α : Facteur lié à la croissance oncogène-alpha.

GSH : Glutathion réduit

GSTNB : Complexe glutathion -6 acide nitrobenzoïque

h-FABP : Protéine de liaison des acides gras de type cardiaque

Ig : Immunoglobuline

IGF : Facteur de croissance ressemblant à l'insuline

IMC : Indice de la masse corporelle

Lp-PLA2 : Phospholipase A2 associée aux lipoprotéines

MCV : Maladies cardiovasculaires

MDA : Malondialdéhyde

MMP : Métalloprotéinase matricielle

MOP: Myéloperoxydase

MP: Maladies parodontale

MR-proADM: Midregional-proadrenomedullin

NGF : Facteur de croissance du tissu nerveux

NP : Peptide natriuritique

PEA : Pellicule exogène acquise

PH : Potentiel d'hydrogène

PNA : Peptide natriurétique auriculaire

PRG : Protéine riche glycosylées

PRP : Protéine Riche en Proline

SAA : Alpha-amylase salivaire

SiCAM-1 : Molécule d'adhésion intercellulaire soluble-1

SLOX : Récepteur-1 des lipoprotéines oxydé de basse densité, de type lectine soluble

SOD : Superoxyde Dismutase

TBA : Acide thiobarbiturique

TCA : Acide trichloracétique

TNB : Acide thionitrobenzoïque

TNF- α : Facteur alpha de nécrose tumorale

V : Veine

Liste des figures

Figures	Titre	Page
Figure 1	Localisation anatomique des principales glandes salivaires humaines et leur contribution salivaire.	2
Figure 2	(A) : Structure et développement des glandes salivaires. (B et C) : Structure histologique des différents types d'acini et canaux glandulaires.	4
Figure 3	Innervation des glandes salivaires.	6
Figure 4	Constitution de la salive totale ou fluide orale.	7
Figure 5	structure des mucines gélifiantes.	11
Figure 6	Fonctions de la salive.	14
Figure 7	Mécanisme de transport des ions du sérum vers le canal salivaire	18
Figure 8	Régulation de la sécrétion salivaire avec illustration des réflex impliqués dans la sécrétion salivaire.	19
Figure 9	Champs d'investigation des salivaomics.	22
Figure 10	Comparaison des biomarqueurs plasmatique et salivaires.	25
Figure 11	Les biomarqueurs salivaires sélectionnés dans divers domaines de la médecine.	25
Figure 12	Les applications médicales potentielles des biomarqueurs salivaires.	26
Figure 13	Les principaux biomarqueurs du stress oxydatif.	27
Figure 14	Schéma du protocole expérimental.	29
Figure 15	Marqueurs du statut oxydant salivaire (peroxynitrite, MDA, Protéines carbonylées).	33
Figure 16	Marqueurs antioxydants salivaires (SOD et GSH).	34

Liste des Tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau 1	Volume moyen de sécrétions des glandes salivaires mineures.	4
Tableau 2	Organisation de la circulation artérielle, veineuse et lymphatique des glandes salivaires principales.	5
Tableau 3	Tableau récapitulatif de la viscosité salivaire.	8
Tableau 4	Techniques d'identification et de quantification des biomarqueurs.	24
Tableau 5	Biomarqueurs communs et pathologies associées.	28
Tableau 6	Caractéristiques de la population étudiée.	32
Tableau A 1	Marqueurs salivaires du stress oxydatif.	47
Tableau A 2	Matériel non biologique (réactif et appareillage).	47



Introduction

Introduction :

L'intérêt du monde scientifique vis à-vis de la salive a augmenté dans les 50 dernières années avec l'avènement de nouvelles techniques d'analyse (**Devoize et al., 2010**). La salive est un liquide épais et incolore, inodore et très légèrement alcalin sécrété en continu par les glandes salivaires. Elle remplit un certain nombre de fonctions importantes qui sont essentielles pour le maintien de la santé bucco-dentaire (**Abdelrazik et al., 2013**).

La salive peut être considérée comme bonne alternative aux éventuels bio-fluides de diagnostic à partir de sa richesse en biomarqueur, tels que le matériel génétique et les protéines et en raison de sa facilité d'utilisation en tant que méthode pratique de collecte (**Mortha et al., 2018; Cui et al., 2022**).

De plus, la salive en tant que « miroir de l'être humain », peut refléter l'état physiologique et pathologique du corps (**Cui et al., 2022**). Par conséquent, il sert d'outil de diagnostic et de surveillance de certaines maladies particulièrement les maladies auto-immunes (syndrome de Sjögren, mucoviscidose), les maladies neurologiques (l'Alzheimer et de Parkinson), les maladies cardiovasculaires, les maladies cancéreuses, les caries, les deux types de diabète, l'ischémie de reperfusion et le vieillissement (**Naire et al., 2012**).

L'objet de ce mémoire, dans le cadre du master Physiopathologie cellulaire, est d'évaluer et d'analyser des études précédentes portant sur l'utilisation de la salive comme milieu de recherche des biomarqueurs de différentes pathologies et aussi de rechercher quelques marqueurs du stress oxydatif au niveau de la salive. Ce travail est structuré en trois parties :

- ✓ La première partie est théorique. Elle est consacrée aux rappels bibliographiques comportant des généralités sur l'anatomie, l'histologie et l'embryologie des glandes salivaires, et sur les biomarqueurs salivaires.
- ✓ La deuxième partie expérimentale permet d'explorer les marqueurs salivaires du stress oxydatif (MDA, Protéines carbonylées, Peroxynitrite, Superoxyde Dismutase, Glutathion réduit) chez les personnes diabétiques et les personnes témoins, jeunes ou âgés.
- ✓ La dernière partie est consacrée à l'interprétation des résultats obtenus avec une discussion et une conclusion générale.



Revue bibliographique

I. Les glandes salivaires et la salive

1. Les glandes salivaires

1.1. Anatomie des glandes salivaires

La production et la sécrétion salivaire se fait à partir des processus physiologiques de la cavité buccale, elle est élaborée par deux catégories de glandes exocrines (les glandes salivaires principales qui dites majeures et les glandes salivaires accessoires dites mineurs) (Figure 1) (Trigui., 2018).

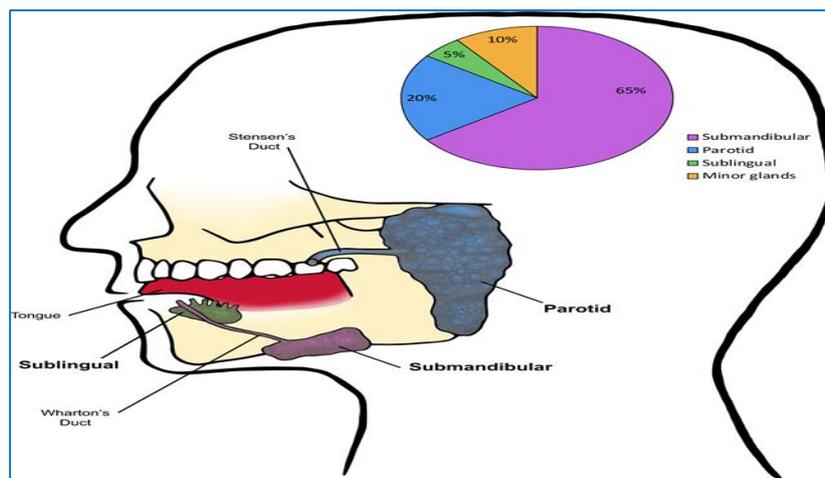


Figure 1. Localisation anatomique des principales glandes salivaires humaines et leur contribution salivaire (Vila et al., 2019).

1.1.1. Les glandes salivaires principales

Les glandes salivaires majeures sont situées dans des loges anatomiques bien délimitées. Il existe trois paires symétriques dans chaque côté de la cavité buccale (glandes parotides, glandes sub-mandibulaire, glandes sublinguales) (Pellestor., 2007).

➤ **Glande parotide :**

Elle représente la plus grande glande salivaire et la plus postérieure avec une forme prismatique et bilobée. Le poids est de 25 à 30 grammes. Elle est située sur les parois de la loge parotidienne entre le muscle masséter et la peau, en avant et en dessous de méat acoustique externe, en arrière de la branche montante de la mandibule (Gasperment., 2018).

La glande parotidienne est composée de deux lobes : l'un superficiel et un autre plus profond; entre ces deux lobes circule un paquet vasculo-nerveux comprenant les éléments anatomiques tels l'artère carotide externe et ses branches, la veine jugulaire et la veine

communicante infra parotidienne, les voies lymphatiques, et les nœuds parotidiens, le nerf facial (Jocelyn., 2018).

En période digestive, la glande salivaire produit environ 60% de débit salivaires. La salive sécrétée est fluide, séreuse, sans mucine. Elle se propage dans la cavité buccale par l'intermédiaire du canal de Sténon (Dany., 2012).

➤ **Glande sub-mandibulaire:**

La glande sub-mandibulaire appelée aussi sous maxillaire, est située dans la partie latérale de la région sus-hyoïdienne et se dispose dans une loge sub-mandibulaire du plancher de la bouche.

Cette glande est moins volumineuse que la glande parotide, elle pèse environ de 7 grammes, et se déverse la plancher buccal par leurs canaux excréteur ou canaux de Wharton dongs, ce canal se chemine entre les glandes sublinguales et le muscle génioglosse (Devoize et al., 2010).

Les glandes sous maxillaire produisent en moyenne 20 % de la salive visqueuse qui favorise la déglutition (Jocelyn., 2018).

➤ **La glande sublinguale :**

C'est la plus petite des trois grandes glandes salivaires majeures, elle pèse en moyenne 3 grammes avec une forme allongée et aplatie transversalement (Dany., 2012).

Elle est située dans la plancher buccal entre la mandibule et le muscle génioglosse. Les glandes sublinguales droites et gauches s'unissent en fer à cheval autour du frein de la langue. Elles constituent une agglomération de petites glandes et de nombreux canaux excréteurs entre 15 et 30, les canaux Walther et un canal sublingual majeur, le canal de Revinus s'abouche directement au niveau de la papille sublingual en dehors de la caroncule linguale (Devoize et al., 2010).

1.1.2. Les glandes salivaires accessoires

Les glandes accessoires ou mineurs sont de petites tailles et très nombreuses dispersées dans la muqueuse buccale. Elles sont situées plus précisément aux niveaux de la partie antérieure du palais osseux et de vermillons des lèvres, très nombreux sur la face interne de la lèvre inférieure et la face interne de la joue.

La sécrétion salivaire de ces glandes est relativement plus faible que les glandes majeures environ 5% qui assure l'humidification de la cavité buccale (Tableau 1) (Jocelyn., 2018).

On distingue les glandes labiales, jugales, palatines et vélares, des trigones rétro molaires, linguales dorsales et marginales, et du plancher buccal.

Tableau 1. Volume moyen de sécrétions des glandes salivaires mineures (Vidaillet et al., 2000).

Volume moyen des sécrétions des glandes mineures En ul/min/cm ² d'épithélium	
Glandes palatines	0.70
Glande labiales	1
Glandes jugales	2.5

1.2. Développement et histologie des glandes salivaires

Au début de la vie fœtale, les glandes salivaires majeures et mineures se développent dans la cavité orale à partir de proliférations ectodermiques envahissant le mésenchyme sous-jacent. (A) Grâce à un processus soigneusement régulé, ces proliférations initialement solides se développent pour former des unités tubuloacinaires composées de cellules canalaire, de cellules myoépithéliales et de cellules acineuses. Le système de canaux est divisé en segments : canaux excréteurs, canaux striés et canaux intercalaires. Il existe 3 types d'acinus : acini séreux, tubules muqueux et acini mixte (B et C) (Figure 2) (Andreasen., 2018).

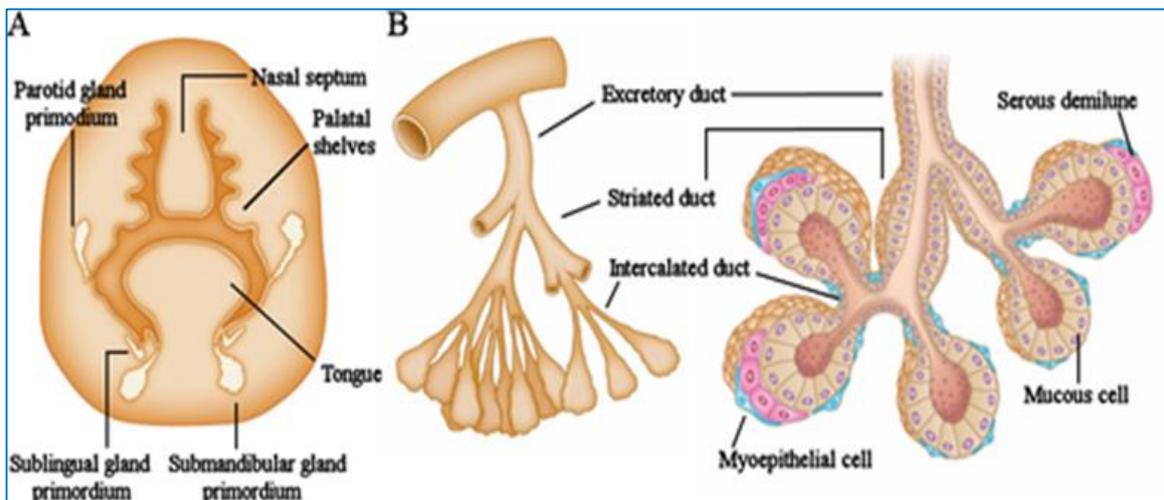


Figure 2. (A) : Structure et développement des glandes salivaires. (B et C) : Structure histologique des différents types d'acini et canaux glandulaires (Andreasen., 2018).

1.3. Vascularisation des glandes salivaires

Les vaisseaux sanguins des glandes sont alimentés par des fibres vasodilatatrices parasympathiques (Tableau 2). L'innervation sympathique alimente les vaisseaux en fibres vasoconstrictrices. Il est important de noter que ces fibres vasoconstrictrice sont distinctes des fibres sécrétomotrices sympathique des cellules glandulaires, de plus elles sont activées en relation avec une baisse de la pression artérielle (Yoshizawa., 2013).

Tableau 2. Organisation de la circulation artérielle, veineuse et lymphatique des glandes salivaires principales (Vidailhet al., 2000).

	Parotide	Sub-mandibulaire	Sublinguale
Vascularisation	Art. Carotide externe art. auriculaire post. art. temporale superficielle. art. maxillaire	Art. Faciale. art. Sous- mentale	Art. sublinguale
Drainage veineux	V. jugulaire ext. v.temporale superficielle. V.maxillaire	V. faciale v.submentonnaire	V.linguales profondes v. satellite du nerf hypoglosse
Drainage lymphatique	Nœud parotidiens superficiels, intra- glandulaires et extra- glandulaires	Nœuds sub- mandibulaire nœuds de la chaine jugulaire interne	Nœuds sub- mandibulaire; nœuds supérieurs du lymphocentre jugulaire interne

1.4. Innervation des glandes salivaires

La sécrétion du salivaire est uniquement régulée par le système nerveux autonome (SNA), par les voies sympathiques et parasympathiques.

Les fibres parasympathiques proviennent des noyaux salivaires supérieurs situés dans la partie supérieure du bulbe rachidien. Elles contrôlent la sécrétion de la glande parotide par le nerf auriculo-temporal, branche du glossopharyngien et pour les glande sublinguales et sub-mandibulaires par la corde du tympan.

Les fibres sympathiques proviennent des premiers et quatrièmes segments thoraciques. Ces deux systèmes agissent de façon complémentaire et synergique (Figure 3) (Champatyray et al., 2015).

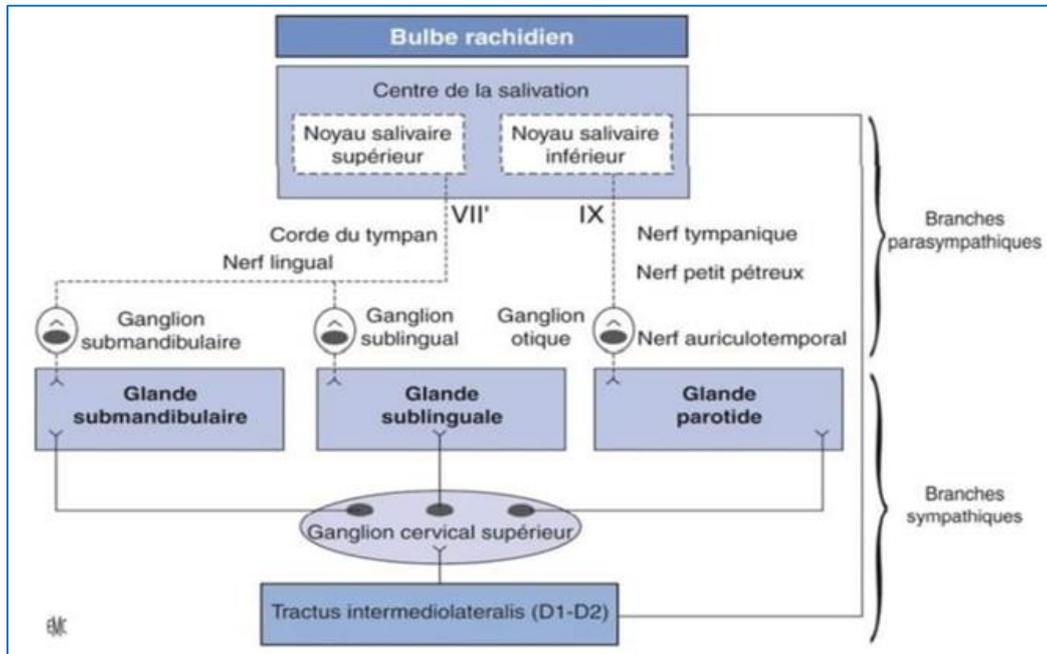


Figure 3. Innervation des glandes salivaires (Devoize et al., 2010).

II. Salive

2.1. Définition de la salive

La salive est un liquide biologique produite par trois grandes glandes (Parotide, submandibulaire, sublinguale) et environ 450 à 750 glandes salivaires mineures. La salive est sécrété dans l'espace creux de la bouche pour lubrifier la muqueuse buccale, la digestion des aliments et possède des propriétés anti bactériennes. Elle joue aussi un rôle dans les fonctions primaires de la bouche (Phonation, mastication, déglutition) (Al Qassar., 2021).

La salive pourrait se définir comme la sécrétion des glandes salivaires majeures et mineures mais cette définition est très réductrice, on préférera parler de salive totale qui est un mélange de tous les fluides sécrétés par les glandes salivaires, des transductions de la muqueuse, du sérum et du sang, du fluide crévicaire gingival, des cellules épithéliales desquamées, du mucus provenant des fosses nasales et du pharynx, des bactéries et leurs produits, des virus et champignons et des débris alimentaires. C'est un fluide complexe contenant une bibliothèque entière d'hormone, d'enzymes, d'anticorps et cytokines (Arunkumar et al., 2014). La figure 4 illustre les différents constituants de la salive.

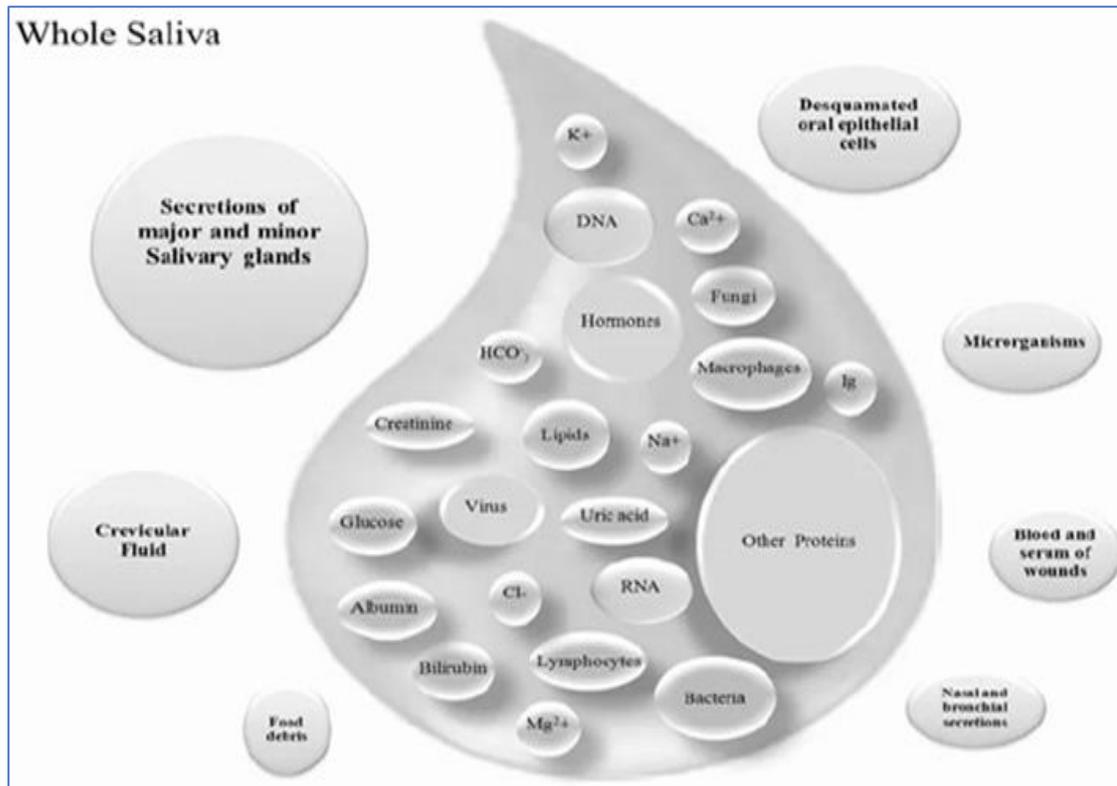


Figure 4. Constitution de la salive totale ou fluide orale
(Cuevas-Cordoba et Santiago-Garcia., 2014).

2.2. Principale caractéristique physico-chimiques de la salive

Le PH :

Le Potentiel d'hydrogène (ou PH) mesure l'acidité ou la basicité d'une solution .le PH de la cavité buccale est proche de la neutralité (6,7 à 7,3).Il varie en fonction de l'âge, du débit salivaire et certaines pathologies comme le diabète et l'insuffisance rénale qui entraine une diminution du PH (Gasperment., 2018).

Potentiel d'oxydoréduction :

La Potentiel d'oxydoréduction ou potentiel redox (Eh) est fortement influencé par la présence ou l'absence d'oxygène moléculaire, qui est l'accepteur d'électrons le plus courant. La cavité buccale se caractérise par une large gamme de potentiel d'oxydoréduction, permettant la croissance de bactéries aérobies, anaérobies. Les bactéries aérobies ont besoins d'un environnement oxydant (Eh positive), tandis que les bactéries anaérobies ont besoin un environnement réducteur (Eh négative) (Marcotte et Lavoie., 1998).

Viscosité :

La viscosité de la salive s'est avérée être inversement proportionnelle au taux de cisaillement, une caractéristique non-newtonienne des fluides biologiques (Devoize et al., 2010). La viscosité est directement liée aux concentrations des protéines, en particulier des mucines et des PRG et de leurs concentrations, du PH et de la teneur en calcium libre (Carpenter., 2013), La salive provenant de différentes sources glandulaires a une viscosité différente en raison de la présence de quantités variable de mucines. Le tableau ci-dessous (Tableau 3) décrit la viscosité de chaque glande (Szpirglas et Ben Salama., 1999).

Tableau 3. Tableau récapitulatif de la viscosité salivaire (Szpirglas et Ben Salama., 1999).

Glande salivaire	La parotide	La sub-mandibulaire	La sublinguale
Viscosité (centpoise)	1,5	3,4	13,4
Salive (consistance)	Aqueuse	Filante	Très visqueuse

Clairance :

C'est la vitesse d'épuration d'une substance (débit × efficacité d'épuration). La salive est capable de diluer, détacher, agglutiner et éliminer les glucides fermentescibles, c'est-à-dire des aliments et boissons acides, du glucose et du saccharose. Le paramètre plus important pour la clairance est le flux non stimulé de la salive qui joue un rôle majeur dans l'élimination de ces résidus (Fatima et al., 2020).

Température :

La température de la cavité buccale est relativement constante (34 à 36°C), et peut être plus variable sur la surface muqueuse et supra gingivale de la dent (Marcotte et Lavoie., 1998).

2.3. Composition de la salive

La salive est un fluide hypertonique et muco-séreux provenant de la cavité buccale. Les composants de la salive sont pertinents pour la santé buccale, le goût et la santé générale (De Almeida., 2008 ; Devoize et al., 2010). Bien qu'il s'agisse d'une solution relativement faible, composée à 98.5% d'eau et de 1% de protéines salivaires, 0.5% d'électrolytes, chacun d'entre eux étant d'une importance vitale pour le bon fonctionnement de la salive (Cui et al., 2022).

2.3.1. Constituants organiques

Les protéines représentent l'élément majoritaire du matériel organique des sécrétions salivaires (**Pellat., 2010**). La salive de toute la bouche contient en moyenne 1.5 à 2mg de protéines par ml, une concentration de protéines relativement faible par rapport à d'autres fluides biologiques, tel que le sang et plasma (**Streckfus et Gaujardo-Edwards., 2011**).

Les protéines salivaires sont classées en fonction de leur origine en :

➤ Protéines extrinsèques : comprennent les protéines du système immunitaire (IGA, IGM, IGG et protéine C –réactive) et les hormones (testostérone, cortisol, mélatonine), les albumines et des α et β globulines (**Devoize et al., 2010**).

➤ Protéines intrinsèques : très nombreuses et synthétisées localement par les glandes salivaires.

- **Les enzymes salivaires**: Elles jouent principalement un rôle de la digestion, antibactérien et à la mise en mémoire tampon de la cavité buccale.

Ces enzymes comprennent : amylase, lysozyme, lipase, peroxydase et lactoferrine et contribuent toutes à la protection de la cavité buccale contre les agents pathogènes et font partie du système non- immunologique antibactérien (**Devoize et al., 2010**).

Alpha-amylase salivaire (ou ptyaline) :

L'amylase est la seule vraie enzyme digestive de la salive humaine. Sa masse moléculaire est d'environ 56 KDa. Elle est riche en glycine, asparagine et valine. Cette structure reste stable à PH compris entre 4 et 8 et à température allant de 22 à 37°C (**Rohleder et al., 2009**). Elle équivaut à 40 à50 % des protéines de la salive totale. Elle intervient dans la première étape de la digestion des glucides, en décomposant les molécules d'amidon, les plus grosses en molécules plus petites par hydrolyse des liaisons glucidiques (α 1-4) (**Dave et al.,2021**).

Lysozyme :

Encore appelée muramidase (C36H61N7O19) est une enzyme fortement chargée positivement à Ph physiologique. La quantité de lysozyme retrouvée dans la salive est de 3.5 à 9.5ug/ml (**Dave et al.,2021**). Elle est sécrétée par les glandes parotides et par les leucocytes polynucléaires neutrophiles (**Devoize et al., 2010**). Cette enzyme est capable d'hydrolyser les parois des bactéries. Elle a donc un rôle désinfectant dans la salive (**Lokesh et Jayanthi., 2015**).

Lipase salivaire:

Principalement produite par les glandes linguales et sublinguales, la lipase salivaire est une enzyme qui peut hydrolyser les triglycérides, les phospholipides, les esters de cholestérols et autres esters (**Devoize et al., 2010**).

Peroxydases :

Les peroxydases sont des oxydoréductases qui représentent environ 15 à 20% de la quantité totale de salive (**Dave et al.,2021**). Elles se distinguent en deux types selon leur origine: (**Devoize et al., 2010**).

* *lactoperoxydases salivaires* : synthétisées dans les glandes salivaires elle-même.

* *myéloperoxydases salivaires* : sécrétées par les polynucléaires neutrophiles.

Les peroxydases catalysent l'oxydation du Thio cyanate SCNN par l'H₂O₂, aboutissant à la formation d'hypothiocyanite SNCO-composé fortement oxydant et hyper réactif qui inhibe temporairement la croissance et le métabolisme de la plupart des bactéries (**Dave et al.,2021**).

Autres enzymes :

D'autres enzymes sont présents dans le fluide buccal comme: les hormones de réponse au stress, tel que le cortisol, les stéroïdes et les hormones thyroïdiennes. L'anhydrase carbonique VI ou gustine est une autre hormone salivaire importante. C'est une protéine de liaison au zinc, qui peut être impliquée dans le maintien et la croissance des papilles gustatives ainsi que de l'activité enzymatique (**Padiglia et al., 2010**). On trouve aussi dans la salive des transférases, des Kallicréines, collagénase, gélatinase, élastase, protéases. Toutes ces enzymes possèdent un pouvoir antibactérien (**Devoize et al., 2010**).

- **Mucines :**

Les mucines sont des glycoprotéines extracellulaires de haut poids moléculaires varié de 200KDa à 40 MDa, responsables d'une grande partie des propriétés rhéologiques de la salive. Les mucines peuvent contenir de grandes quantités d'eau et confèrent une viscoélasticité à la salive pour maintenir la lubrification des surfaces muqueuses (**Humphrey et Williamson., 2001**). Il existe trois formes principales de mucine dans la cavité buccale, MUC1, MUC5 et MUC7. Chaque type de mucine possède différentes fonctions (**Pramanik et al., 2010**). Les mucines jouent un rôle important dans la lubrification et la protection des muqueuses contre les agents pathogènes et la déshydratation, car elles sont capables d'agréger les cellules bactériennes/virales et peuvent former des complexes avec d'autres antimicrobiens. L'activité de la mucine est concentrée sur les surfaces de la cavité buccale et facilite l'ingestion du bol alimentaire (**Devoize et al., 2010**).

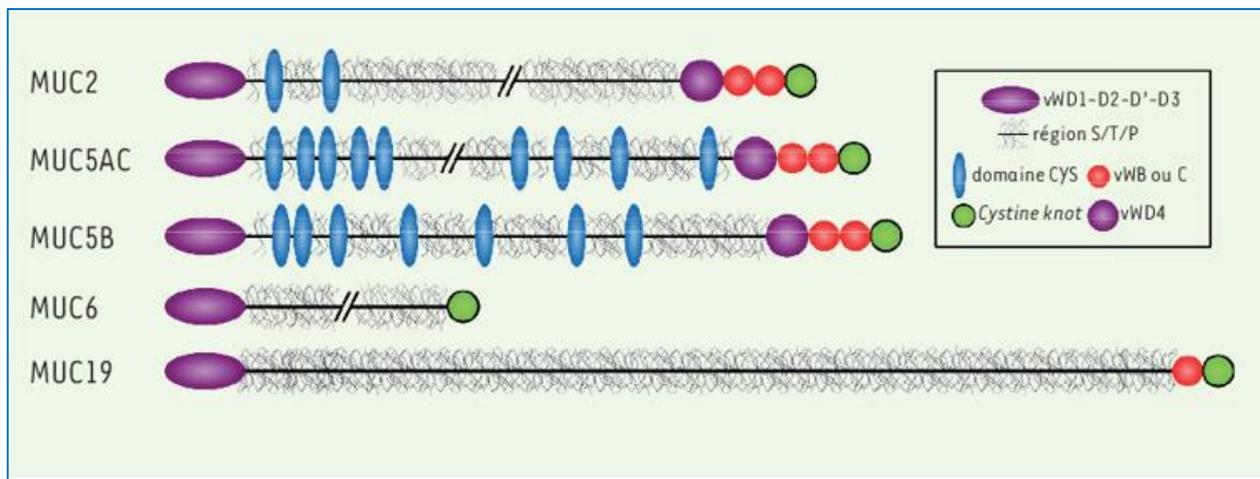


Figure 5. structures des mucines gélifiantes (Demouveau et al.,2018).

- **Lactoferrine :**

La lactoferrine est une glycoprotéine capable de se lier au fer libre dans la bouche. Elle est synthétisée et sécrétée par les glandes salivaires principales et mineures. On la retrouve aussi dans les granules spécifiques des leucocytes polynucléaires neutrophiles. Elle a un effet antimicrobien (inhibe la croissance bactérienne par bactériostase) (Lokesh et Jayanthi.,2015).

Le fluide buccal contient aussi une transferrine d'origine plasmatique, apportée par le fluide sulculaire qui joue un rôle antibactérien non négligeable. Mais il faut souligner que paradoxalement certains germes anaérobies utilisent la transferrine comme source de fer pour se développer (Pellat., 2010).

- **Cystatines :**

La salive contient aussi des molécules, comme les cystatines qui sont une famille de phosphoprotéines contenant de la cystéine, sécrétées par les glandes salivaires parotides, submandibulaires et sublinguales. Les isoformes SA, S, SN et HSP-12 des cystatines sont les plus actives dans la salive. La forme SA contribue à la formation de la pellicule acquise exogène (Devoize et al., 2010).

Les cystatines agissent principalement comme inhibiteurs naturel des protéases à cystéine, mais aussi à protéger les tissus buccaux par l'inhibition de certains enzymes bactériens libérés dans des circonstances pathologiques (Abdelrazik et al., 2013).

- **Histatines :**

Les histatines font partie des molécules régulatrices des sécrétions salivaires. Elles constituent une famille de petits peptides basiques (3 à 5 KDa), riches en histidine, sécrétées

exclusivement par les glandes parotides et sous mandibulaires. Il existe cinq formes d'histatines (**Abdelrazik et al., 2013**). L'histatine 1 phosphorylée s'adsorbe sélectivement à l'hydroxyapatite et se comporte comme un précurseur majeur de la pellicule acquise exogène. Les histatines sont surtout connues pour leur action antifongique et anti bactérienne (**Pellat., 2010**).

D'autre part, elles sont impliquées dans les effets cicatrisants de la salive, et sont aussi capables de stimuler la libération d'histamine à partir de mastocytes (**Sun et al., 2009**).

- **Protéines riches en proline :**

La famille des protéines riches en proline (PRP) constituent l'équipement protéique majoritaire de la sécrétion parotidienne (70% des protéines totales). Elles sont plus modestement représentées dans la salive sublinguale et sous mandibulaire. Selon leur charge et leur structure, il est possible de différencier trois classes de PRP dans la salive parotidienne : (**Devoize et al., 2010**).

Les PRP à caractère acide : (30%) elles sont fortement chargées négativement du fait de la présence de onze acides aminés di-carboxyles. Ces PRP acide aident au maintien de l'homéostasie du calcium dans la cavité buccale et participent ainsi à la formation de pellicule acquise exogène.

Les PRP à caractère basique : (23%) sont assez mal connues, retrouvées dans les salives sous mandibulaires et sublinguales. Ces PRP semblent jouer un rôle dans l'agrégation bactérienne (**Devoize et al., 2010**).

Les PRP riche en glucides ou PRG : (17%) les PRG glycosylées agissent comme lubrifiant. (**Devoize et al., 2010**).

- **Statherine :**

La statherine est un phospho-peptide sécrété par les glandes parotides. Elle participe à la protection des surfaces orales (**Proctor et al., 2005; Harvey et al., 2011**). La statherine peut jouer un rôle important dans la régulation du taux de calcium dans la bouche, pour la ré-minéralisation de l'émail des dents. Elle possède également des propriétés lubrifiantes et se lie à l'hydroxyapatite pour initier la formation de la couche superficielle protectrice de la salive que l'on trouve sur les dents, connue sous le nom de pellicule d'email (**Li et al., 2004 ; Pink et al., 2009**).

- **Les immunoglobulines sécrétoires:**

Les immunoglobulines sont un autre type de protéines présentes dans la salive (**De Almeida et al., 2008**). L'IGA sécrétoire est la principale immunoglobuline salivaire produite par les plasmocytes adjacents au conduit et aux acini des glandes salivaires. Les plasmocytes qui sécrètent des IGA sont prédominants dans les glandes salivaires majeures et mineures. Les anticorps (S-IGA)

salivaires pourraient favoriser l'immunité orale par l'inhibition de l'adhérence bactérienne et la neutralisation des enzymes, des toxines et des virus (**Humphrey et Williamson., 2001**).

❖ **Autres composants organiques :**

Cholestérol : est un lipide essentiel et le composant le plus crucial pour le fonctionnement du corps humain. La qualité moyenne de cholestérol dans la salive est de 13.56 µg/dl. Le taux élevé de cholestérol peut augmenter de manière significative le risque d'athéroscléroses, hypertension et diabète.

L'urée : représente environ 2 mmol/l en concentration salivaire. La concentration d'urée salivaire peut refléter une atteinte rénale. Elle est utilisée pour surveiller la fonction rénale chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique.

Glucose : est généralement présent dans la salive en quantités comprises entre 0.5 et 1mg/dl. Une concentration élevée de glucose peut affaiblir le système immunitaire et le corps humain. La mesure du taux de glucose dans la salive est intéressante pour surveiller et contrôler le diabète (**Dave et al., 2021**).

2.3.2. Les constituants inorganiques

Les ingrédients inorganiques de la salive proviennent principalement du sang. Leur contenu dans la sécrétion n'est pas constant et ils apparaissent toujours sous forme ionisée tel que les ions hydrogène, sodium, potassium, chlorure, bicarbonates, sulfate, phosphate, etc.

La concentration d'électrolytes dans la salive est de 129.2 mmol/l (**Dave et al., 2021**).

➤ **Le bicarbonate (HCO_3^-)** : est l'un des principaux électrolytes présents dans la salive. Il joue un rôle majeur pour tamponner le PH salivaire. La concentration en bicarbonate (HCO_3^-) de la salive est inférieure à celle de plasma (**Fatima et al., 2020**).

➤ **Le sodium (Na^+)** : est également essentiel pour favoriser l'écoulement de la salive et pour maintenir l'hydratation de la cavité buccale (**Turner et Sugiy., 2002**).

➤ **Thiocyanate (SCN^-) et iodure** : sont des ions qui jouent un rôle bactériostatique important dans la salive en conjonction avec les peroxydases (**Proctor et al., 2014**).

➤ **Le calcium (Ca^{2+})** : est un autre électrolyte présent dans le liquide des glandes salivaires. La concentration de calcium glandulaire ne varie pas beaucoup dans différentes conditions de stimulation. Une partie du calcium est liée à une protéine et une autre partie complexe avec le carbonate, le phosphate et le lactate, qui jouent un rôle très important dans le tamponnement de la salive, mais aussi dans le maintien du PH de la salive non stimulée à 6,47 et 7,62 pour la salive stimulée (**Lokesh et Jayant., 2015**).

La composition salivaire et la concentration de ces ions et électrolytes varient en fonction notamment du type de glandes, du débit salivaire mais également en fonction de la durée et la nature de la stimulation (Devoize et al., 2010).

2.4. Organisation macromoléculaire

Différentes phases constituent la salive : phase liquide, phase gazeuse, phase gel.

✓ la phase liquide : la salive est composée de 99.5% d'eau (Champatyrayet al., 2015).

✓ la phase gazeuse: les principaux gaz dissous dans la salive sont l'azote, l'oxygène et le dioxyde de carbone. L'azote N_2 est présent à 0.9% du volume salivaire; l'oxygène O_2 ne représente qu'environ 0.2%; le principal gaz dissous dans la salive est le **dioxyde de carbone** présent à 20 à 30% du volume salivaire. La moitié du CO_2 salivaire est sous forme de bicarbonate à PH 6.9 et joue un rôle très important dans le maintien du système tampon et est également un élément nutritif de certaines bactéries (Pellerin et pellat., 1986).

✓ Phase gel : la caractéristique de ce gel est de permettre le passage des macromolécules à grand taille. Ses propriétés sont assurées par la présence de la mucine (Devoize et al., 2010).

2.5. Rôle de la salive

Les différentes fonctions de la salive sont représentées dans la Figure 5.

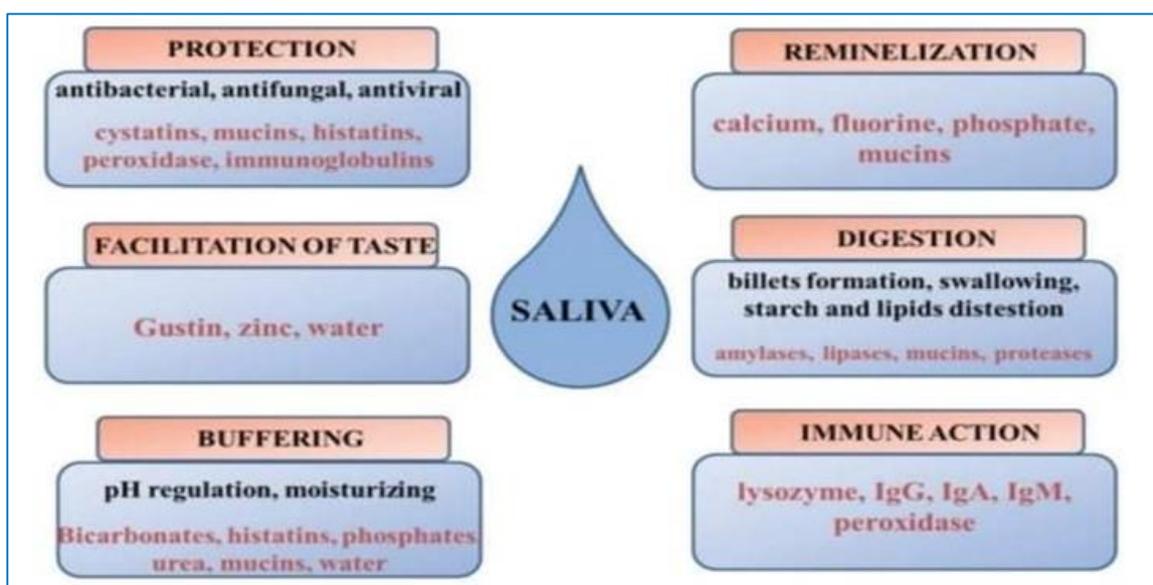


Figure 6. Fonctions de la salive (Wozniak et al., 2019).

❖ **Protection, lubrification et humidification**

Les glandes salivaires fournissent des molécules lubrifiantes, afin d'embrober non seulement les aliments mais aussi les tissus mous de la bouche. Le film lubrifiant permet une phonation aisée ainsi que le passage des aliments et fournit des surfaces tissulaires lisses qui présentent une friction minimale et qui sont confortables et fonctionnelles.

Les propriétés lubrifiantes de la salive sont assurées par les glycoprotéines mucine, et particulièrement MUC5B (**Kumar et al., 2017**).

Pendant les processus d'alimentation, c'est –à-dire la mastication et déglutition, ces mucines forment un fluide visqueux qui recouvre la surface de la cavité buccale assurant la lubrification et omettant les aberrations causées par cette activité.

D'autres molécules lubrifiantes telles que le complexe albumine –glycoprotéine riche en proline, peuvent également participer à la vitesse de passage des aliments en s'incorporant à la pellicule, fournissant ainsi une interface lubrifiante entre les dents et facilitant la mastication(**Fatima et al., 2020**).

❖ **Maintien de l'intégrité des tissus dentaires**

En ce qui concerne la santé parodontale, la salive joue un rôle de deux manières: formation de la pellicule et de la plaque. La plaque dentaire est définie comme une accumulation de micro-organismes, de différentes espèces qui se retrouvent sur la surface dentaire sous la forme d'une biofilm. La pellicule exogène acquise (PEA) est une fine couche d'une épaisseur de 2 à 10um, composée de protéines salivaires et autres macromolécules qui recouvrent toute la surface de l'émail (composé de calcium et de phosphore sous la forme d'une structure cristalline).La PEA constitue également une importante protection contre l'attrition et l'abrasion et agit comme une barrière de diffusion. Cette barrière permet le passage des ions Ca^{2+} et P pour pénétrer jusqu'à l'émail pour la ré-minéralisation (**Al Qassar et al., 2021**).

De plus grâce à son pouvoir tampon, la salive inhibe le phénomène de déminéralisation, elle contrôle la neutralité du PH par le phosphate et les bicarbonates (**Kumar et al., 2017**).

❖ **Maintien de l'équilibre du milieu**

Pouvoir Tampon :

La salive contribue efficacement au maintien d'un PH relativement neutre dans la cavité buccale, dans la plaque dentaire bactérienne et lors de la déglutition, dans l'œsophage également.

Dans la cavité buccale et l'œsophage, la principale régulation du PH se fait par le bicarbonate salivaire qui est lié directement avec le débit salivaire (**Kumar et al., 2017**).

Dans les plaques bactériennes, elle contient également des mécanismes tampon spécifiques tels que le bicarbonate(HCO_3^-), le phosphate et certains systèmes protéiques qui non seulement

ont un effet tampon mais aussi favorisent également des conditions idéales pour l'élimination automatique de certains composants bactériens qui ont besoin d'un PH très bas pour survivre **(Llena-puy., 2006)**.

Action anti microbien:

La salive joue un rôle important dans le maintien de l'équilibre des écosystèmes buccaux. Ceci est essentiel pour le contrôle des caries. La salive est capable de remplir sa fonction de maintenir l'équilibre du microbiote oral car elle contient des agents non immunologiques représentés par de nombreux enzymes (lysozymes, lactoferrine, lactoperoxydases, agglutinines, etc.) et protéines (mucines, histatines, protéine riche en proline) qui agissent conjointement avec d'autres composants de la salive pour limiter la croissance des bactéries ou les tuer directement, ainsi que les agents immunologiques de la salive qui reposent sur la présence d'IgA, IgG, IgM. Celles-ci sont des constituants essentiels de la pellicule acquise, favorisant l'agrégation bactérienne **(Llena-puy., 2006)**.

Le potentiel protecteur de toutes les protéines antibactériennes peut être étendu par une interaction avec la mucine qui peut servir à concentrer cette force de défense à l'interface de la muqueuse **(Llena-puy., 2006)**.

Le flux physique de la salive augmenté lors de l'activité musculaire des lèvres et de la langue élimine efficacement un grand nombre de bactéries nocives des dents et des muqueuses **(Kumar et al., 2017)**.

Rôle dans l'homéostasie hydrique :

Les glandes salivaires font partie d'un système de contrôle permettant de maintenir un niveau d'hydratation approprié. La soif est déclenchée par la sensation de bouche sèche. Cette sensation résulte d'une diminution de la sécrétion au repos qui entraîne l'activation de récepteurs sensitifs dans la cavité buccale.

Les signaux envoyés aux glandes salivaires résultent de changements osmotiques détectés par le système nerveux central, plus précisément l'hypothalamus ou changements volumiques opérant par le biais du système rénine-angiotensine du rein **(Kumar et al., 2017)**.

❖ Rôle dans l'alimentation

Gustation, déglutition, digestion :

La salive joue un rôle important et précoce dans la digestion, car pendant la mastication initiale des aliments, elle contribue à la formation d'un bol alimentaire cohésif, recouvert d'un film de mucine qui facilite le processus de déglutition **(Dawes et al., 2015)**.

Les principales enzymes digestives présentes dans la salive sont la α -amylase qui est capable de dégrader l'amidon alimentaire et la lipase linguale qui est responsable de la décomposition des graisses (Kumar et al., 2017).

En outre, la salive joue également un rôle pour la stimulation indirecte de la production des sécrétions d'acide gastrique en répartissant l'agent de goût des aliments sur l'ensemble des récepteurs gustatifs, ce qui déclenche la production des sécrétions gastriques (phase céphalique) (Fatima et al., 2020).

❖ Réparation des tissus

La bouche est susceptible de subir des blessures de différents types allant de la morsure à l'extraction dentaire. La salive joue un rôle important dans le processus de guérison. Car elle contient divers facteurs de croissance tels que le facteur de croissance épithélial (EGF) et le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF). Ce dernier est l'un des principaux facteurs de croissance anorogéniques et est également impliqué dans le ré-épithélialisation et la régulation de la matrice extracellulaire. L'histatine 1 est présente dans la salive impliquée dans la promotion de la croissance par la migration des cellules épithéliales et des fibroblastes, ce qui facilite la fermeture des plaies (Oudh et al., 2008). La salive est connue pour contenir des thromboplastines et facteurs plaquettaires qui favorisent la coagulation du sang. La Leptine, hormone anti-obésité présente dans la salive, favorise la cicatrisation des blessures en stimulant l'angiogénèse. La mélatonine est présente dans la salive à des niveaux de 15% à 33% de ceux de plasma. Elle est synthétisée dans la glande pinéale et dans le tractus gastro-intestinal et passe dans le système circulatoire (Dawes et al., 2015).

2.6. Mécanismes de formation de la salive

En général, la salive contient les électrolytes habituels des liquides organiques, les principaux ions étant le sodium, le potassium, le chlorure et le bicarbonate. La théorie de la formation de la salive s'effectue selon un processus en deux phases:

- La première phase : la sécrétion du fluide salivaire primaire a lieu dans les terminaisons sécrétoires, également appelées cellules acineuses aboutissant à la formation d'une salive isotonique avec une composition d'électrolytes semblable à celle du plasma.

- La deuxième phase: s'effectue dans les cellules canalaire qui aident à modifier la sécrétion primaire par les canaux, où les ions sodium et chlorure sont réabsorbés et les ions de bicarbonate et de potassium sont sécrétés activement dans la salive (Figure 5). De plus, la membrane canalaire n'exprime pas l'AQP5 (aqua porine 5) donc la salive devient hypotonique en présence d'une faible

perméabilité à l'eau et on parle alors de salive définitive ou secondaire. Ces mécanismes dépendent du débit salivaire et de la durée de stimulation. La salive secondaire est ensuite déversée par les canaux collecteurs dans la cavité buccale.

Les cellules canalaire sont également le siège d'une production de diverses protéines tels que les facteurs de croissance (EGF, NGF), les immunoglobulines IGA, parotine (mainteneur de taux de calcium sérique) et kallikréine (Pedersen et al., 2018).

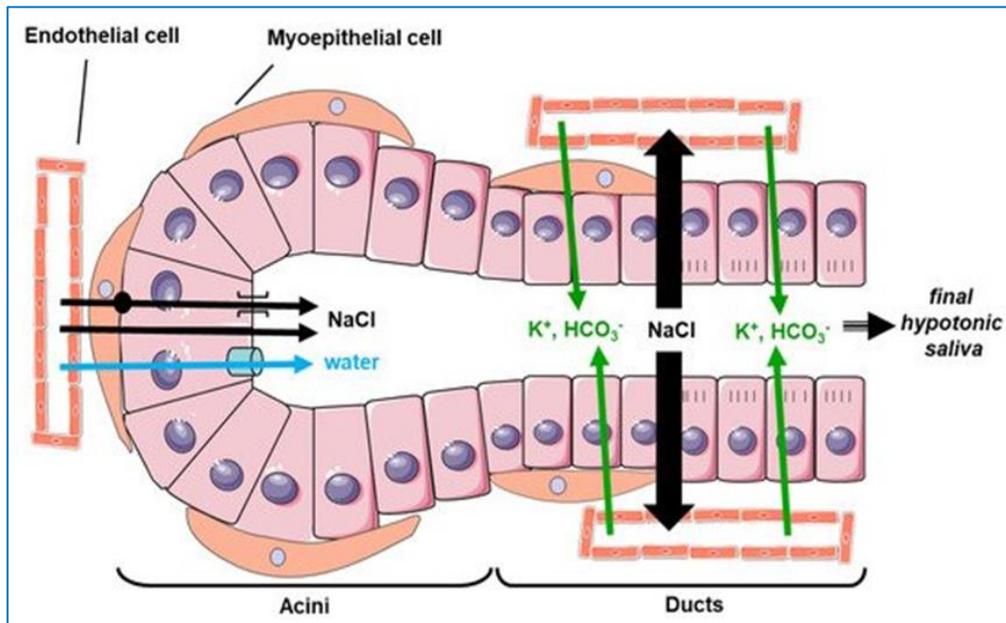


Figure 7. Mécanisme de transport des ions du sérum vers le canal salivaire (D'Agostino et al., 2020).

2.7. Mécanismes de contrôle de la sécrétion salivaire

2.7.1. Couplage Excitation-sécrétion et salive stimulée

Il existe deux principaux types de neurotransmetteurs des nerfs post-ganglionnaires parasympathiques et sympathiques qui innervent les glandes salivaires : l'acétylcholine (ACH) qui se fixe sur des récepteurs muscariniques cholinergiques (M1 et M2) et la noradrénaline (NA) et son récepteur adrénergique alpha et béta. D'autres transmetteurs non adrénergiques non cholinergiques sont libérés par le système autonome dans les glandes salivaires : le peptide intestinal vasoactif (VIP), neuropeptide Y (NPY), substance P (SP), neurokinine A, peptide activateur de l'adénylate cyclase, l'enképhaline, monoxyde de carbone, monoxyde d'azote et

peuvent interagir avec ces voies de signalisation par d'autres récepteurs cellulaires. L'activation de ces récepteurs entraîne la sécrétion de la salive stimulée (Ferreira et Hoffman., 2013).

2.7.2. Sécrétion salivaire réflex

La sécrétion salivaire est contrôlée par le système nerveux sympathique et parasympathique et régulée par des réflexes. Les voies réflexes sont constituées d'une composante afférente, le centre de salivation et d'une composante efférente, qui conduit à l'activation des cellules des glandes salivaires (Figure 6). Le réflex gustatif-salivaire fait intervenir des signaux sensoriels provenant des chimiorécepteurs situés au niveau des papilles gustatives qui vont être activés et transmis le long des fibres sensorielles du nerf facial [VII], glossopharyngien [IX] et nerfs vague [X] jusqu'au noyau du tractus solitaire. Le réflex masticatoire-salivaire conduit des impulsions somato-sensorielles, qui sont principalement induites par l'activation de mécanorécepteurs ou nocicepteurs via le nerf trijumeau [V] et du glosso-pharynx vers les trigéminés mésencéphaliques et spinaux. De plus, non seulement les impulsions afférentes (masticatoire, gustative), mais aussi la stimulation des récepteurs olfactifs, nociceptifs, thermo réceptifs et psychiques influencent la salivation réflexe (Pedersen et al., 2018; Wozniak et al., 2019).

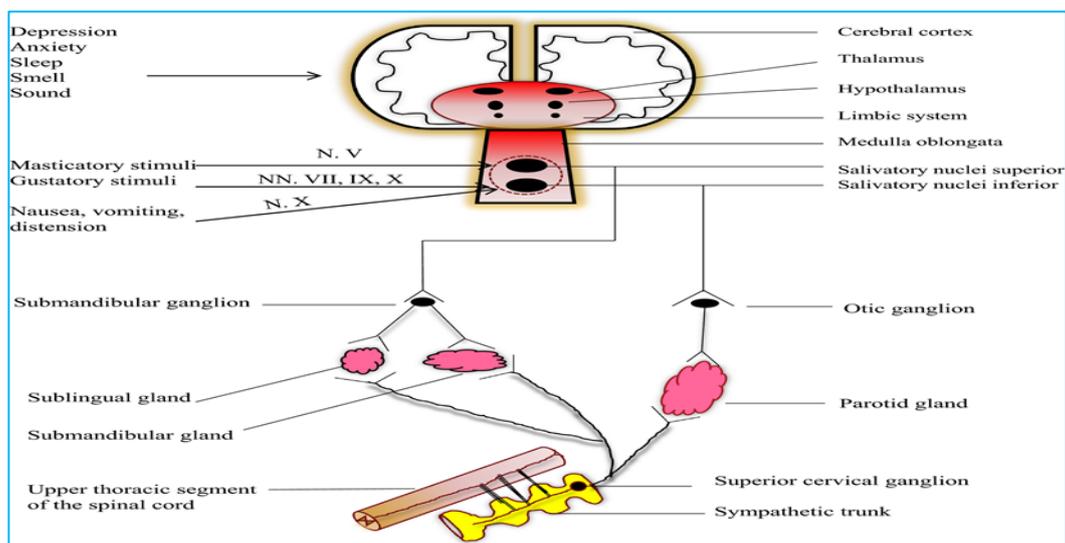


Figure 8. Régulation de la sécrétion salivaire avec illustration des réflex impliqués dans la sécrétion salivaire (Pedersen et al., 2018).

2.7.3. Contrôle hormonal

La sécrétion salivaire est modulée par de nombreuses hormones tel que les hormones thyroïdiennes, les hormones de croissance, la prolactine, l'insuline qui jouent un rôle important sur l'activité de synthèse et libération des protéines glandulaires, l'hormone post-hypophysaire antidiurétique (ADH) et les hormones stéroïdes (Vidailhet., 2008).

III Les biomarqueurs salivaires

1. Biomarqueur

1.1. Définition

Un biomarqueur est défini comme une variante fonctionnelle ou un indice quantitatif d'un processus biologique qui prédit ou reflète l'évolution ou la prédisposition à une maladie ou une réponse à une thérapie (**Gondret et al., 2020**).

Selon l'administration américaine, un biomarqueur est une caractéristique biologique mesurable. Il agit comme une signature moléculaire et un indicateur des processus biologiques normaux, des processus pathogéniques ou de réponses à une exposition ou une intervention thérapeutique (**Garcia-Gutiérrez et al., 2020**).

1.2. Les différents types de biomarqueurs

Les biomarqueurs sont classés en différents types selon leur fonction et leur utilité. On distingue :

Les biomarqueurs pronostiques: sont utilisés pour identifier les patients plus susceptibles de développer un événement clinique ou une progression de la maladie.

Les biomarqueurs prédictifs: permettent d'identifier l'effet d'un médicament.

Les biomarqueurs de susceptibilité ou de risque: sont utilisés pour mesurer le risque de développement d'une maladie ou d'un état pathologique chez les individus.

Les biomarqueurs pharmacodynamiques: sont des biomarqueurs de surveillance utilisés pour déterminer la progression du traitement.

Les biomarqueurs de sécurité : permettent d'évaluer la probabilité de développer des signes de toxicité en tant qu'événement indésirable de l'intervention sécurité (**Garcia-Gutiérrez et al., 2020**).

2. Utilisation potentielle des diagnostics salivaires

Traditionnellement, le dépistage, le diagnostic et le pronostic de nombreuses maladies reposent sur l'utilisation d'échantillons de sang (**Vila et al., 2019**).

Cependant, la salive répond à la demande d'une Plateforme de diagnostic, car elle possède plusieurs avantages par rapport aux échantillons de sang, notamment facilement disponible chez la plupart des individus, non invasive du prélèvement et facile à manipuler car elle ne coagule pas. Cela augmentera considérablement les possibilités de diagnostic précoce des maladies et de surveiller l'état de santé général (**Cui et al., 2022**).

3. Variétés de biomarqueurs pour le diagnostic dans la salive

3.1. Les champs d'investigation salivaires: les Salivaomics

La salive n'est pas un fluide homogène : elle contient diverses biomolécules, y compris l'ADN, l'ARN, les protéines, les métabolites et le microbiote. Les changements de concentration de ces biomolécules dans la salive peuvent être utilisés pour la détection précoce et l'analyse des maladies. Le terme « Salivaomics » visait à mettre en évidence le développement rapide des connaissances sur les différents constituants omiques de la salive, notamment le génome, le transcriptome, le protéome, métabolome et le microbiome (Figure 8) (Vila et al., 2019).

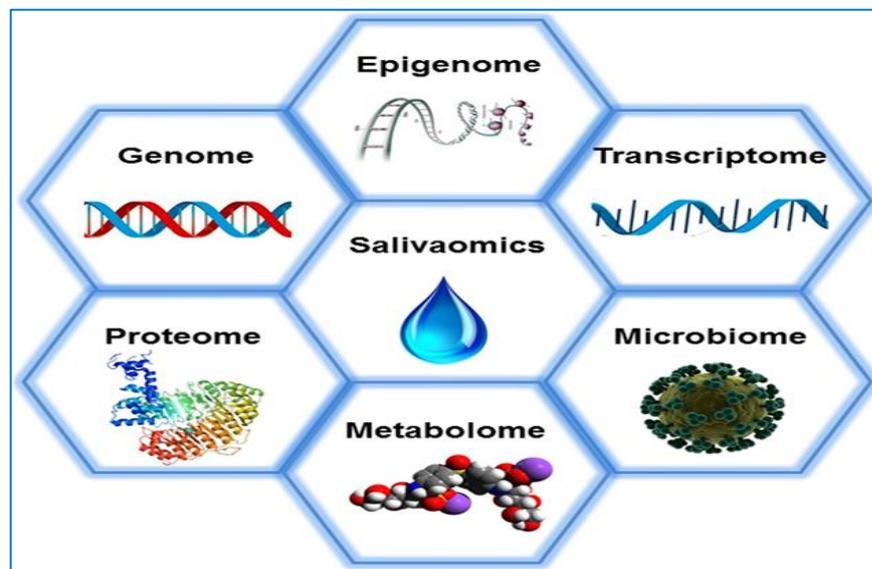


Figure 9. Champs d'investigation des salivaomics (Zhang et al., 2014).

3.1.1. Le protéome

Il désigne l'ensemble des protéines individuelles qui peuvent composer un système biologique.

En termes simples, la protéomique est une étude des protéines, en particulier leurs structures et leurs fonctions. Environ 40 protéines ont été identifiées au début des années 1980, plus de 3000 protéines différentes sont aujourd'hui détectées (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017).

Le protéome salivaire peut être utilisé pour créer le lien entre la salive et la fibrose kystique, le diabète, la parodontite, les caries dentaires et le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). L'analyse protéomique salivaire peut même être appliquée sur la sécurité sanitaire et comme des biomarqueurs salivaires de diagnostic précoce fiables (Wong et al., 2016).

3.1.2. Le transcriptome

Il représente l'ensemble complet de toutes les molécules d'ARN présentes dans une cellule ou une population de cellules à un stade de développement ou dans des conditions physiologiques spécifiques. Ainsi, le transcriptome est dynamique et reflète l'état cellulaire (**Garcia-Gutiérrez et al., 2020**). L'analyse transcriptomique salivaire est utilisée pour la surveillance de la santé générale (**Zhang et al., 2014**).

3.1.3. Le génome

Le génome salivaire provient de 70% d'origine humaine et de 30% du microbiote oral (**Zhang et al., 2014**).

Un biomarqueur génomique est défini comme une caractéristique mesurable de l'ADN et /ou de l'ARN qui est un indicateur des processus biologiques normaux, des processus pathogènes et/ou de la réponse à des interventions thérapeutiques ou autres. Ces caractéristiques mesurables comprennent l'expression, la fonction et la régulation d'un gène particulier (**Garcia-Gutiérrez et al., 2020**).

3.1.4. Le métabolome

Il est l'ensemble de petits composés qui sont produits de petites molécules qui existent lorsque l'organisme subit ses processus métaboliques. Le métabolome salivaire présente une lecture instantanée de la fonction des gènes, de l'activité cinétique des enzymes, des changements dans les réactions métaboliques. Il facilite l'identification de plusieurs maladies tels que le cancer buccal et les maladies parodontales (**Wang et al., 2016**).

3.1.5. Le microbiome

Le milieu buccal est un milieu complexe dans lequel cohabitent un très grand nombre de micro-organismes. Le déséquilibre de la flore buccale engendre l'apparition des maladies bucco-dentaires, ainsi qu'à des cancers et d'autres maladies systémiques.

L'utilisation des biomarqueurs microbiens permet la mise en place de meilleure stratégie thérapeutique et de diagnostic des maladies (**Zhang et al., 2014**).

3.1.6. L'épigénomique

L'étude de l'ensemble des variations des caractères phénotypiques non encodées dans l'ADN (génotype) représente l'épigénomique. Le changement épigénétique est causé par la régulation de l'ADN ou par la modification des histones. L'épi-modification peut être le résultat des facteurs d'environnement (nourriture, tabagisme, pollution...). En combinant les outils d'analyse transcriptomique et la modification épigénétique buccale, les résultats fournissent des profils génomiques de base des biomarqueurs salivaires (Wang et al., 2016).

4. Les techniques d'identification et de quantification des biomarqueurs

L'analyse des biomarqueurs se fait grâce à des techniques de biologie moléculaire complexe. Le Tableau 4 montre les différentes techniques d'identification des biomarqueurs.

Tableau 4. Techniques d'identification et de quantification des biomarqueurs (Scaros et al., 2005).

	Biomarqueurs génomiques	Biomarqueurs protéomiques	Biomarqueurs transcriptomiques	Biomarqueurs Métabolomiques
Technique à bas débit	Technique de séquençage		PCR Northern blot	PMN Chromatographie en phase gazeuse
Technique à moyen débit	Spectrométrie De masse	Spectrométrie De masse ELISA	SAGE	Chromatographie liquide/Spectrométrie De masse
Technique à haut débit	PCR	Puce à protéine Puce à anticorps	Puce à ADN	

5. Biomarqueurs salivaires pertinents

Ils existent certaines protéines similaires présentes à la fois dans la salive et le plasma (Figure 9), ce qui suggère que la salive pourrait jouer un rôle complémentaire, en renforçant la validité du diagnostic des biomarqueurs obtenus avec d'autres fluides (Rahim et al., 2015).

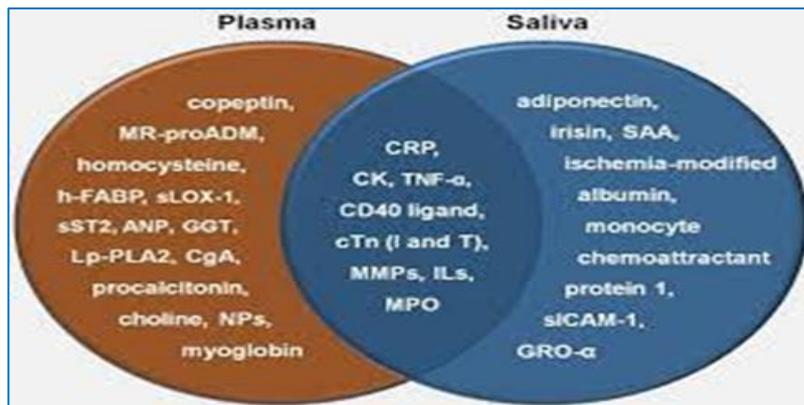


Figure 10. Comparaison des biomarqueurs plasmatiques et salivaires (Rahim et al., 2015).

Les biomarqueurs salivaires qu'ils soient spécifiques ou non, et représentatifs de la concentration plasmatique ou non, sont appliqués dans de nombreux domaines de la médecine (Figure 10).

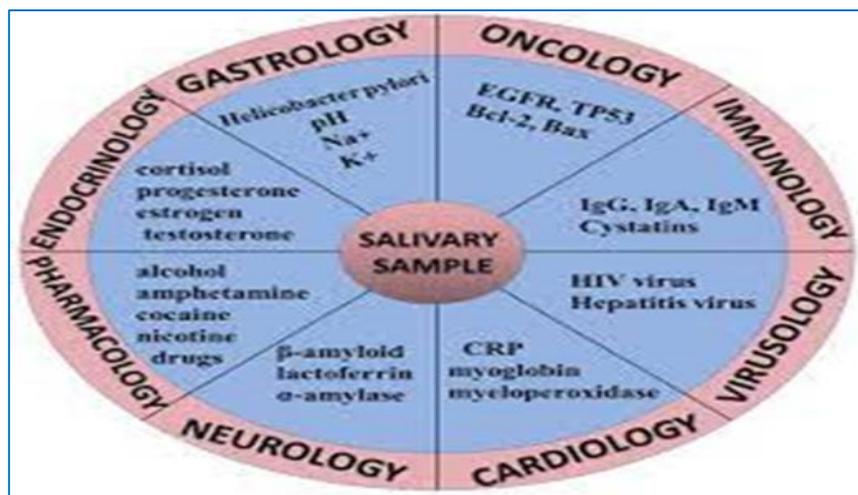
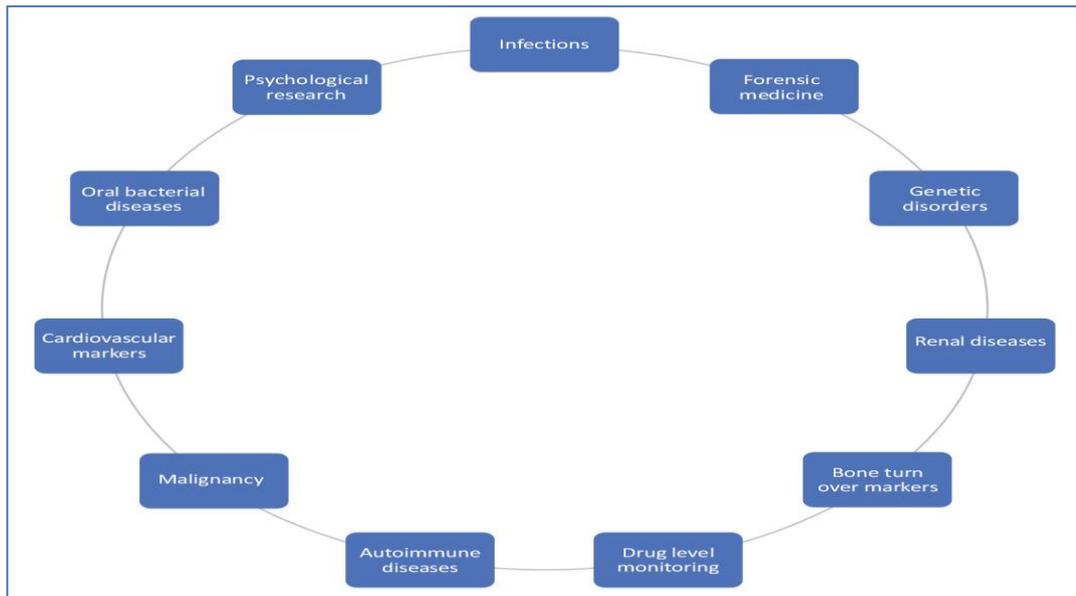


Figure 11. Les biomarqueurs salivaires sélectionnés dans divers domaines de la médecine (Wozniak et al., 2019).

La salive offre une « fenêtre » sur la santé buccodentaire et systémique d'un individu et, comme d'autres fluides corporels, la salive peut être analysée et étudiée pour diagnostiquer des maladies.



Figures 12. Les applications médicales potentielles des biomarqueurs salivaires (Anjum et Hosein., 2020).

5.1. Biomarqueurs endocriniens

- ❖ **Le cortisol** : est une hormone produite par le cortex surrénalien qui représente un bon marqueur de stress. L'augmentation le taux du cortisol dans la salive est considérée comme un moyen très simple de dépistage de certaines affections comme la maladie d'Alzheimer, les maladies cardiovasculaires, le syndrome de Cushing, les tumeurs des glandes surrénales (Groschl., 2008).
- ❖ **Le dosage des hormones sexuelles** par la salive (œstrogène, testostérone, progestérone, œstradiol) permettrait le diagnostic de nombreuses maladies comme l'hyperadrénergisme chez la femme, la déficience androgénique chez homme et l'hypogonadisme. L'équilibre des hormones stéroïdiennes est impliqué dans certains systèmes et mécanismes du corps humain comme le développement et le fonctionnement des organes génitaux et le maintien de l'équilibre osseux (Groschl., 2008).
- ❖ **Le dosage de 17hydroxy progestérone (17 OHP)** : est un stéroïde intermédiaire dans la voie de biosynthèse surrénalienne. Il est significativement plus abondant dans la salive des personnes atteintes que chez les individus sains. Aussi, le 17OHP pourrait être un marqueur de diagnostic et suivi thérapeutique de l'hyperplasie surrénalienne congénitale (Groschl., 2008).

5.2. Biomarqueurs du stress oxydatif

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) sont des molécules produites dans l'organisme. À faible niveau, ces molécules jouent des rôles majeurs dans la signalisation, et à niveau élevé, elles interviennent dans différents mécanismes physiopathologiques (inflammation, hyperglycémie, hyperlipidémie, ischémie, équilibre ferrique..) et peuvent être également influencés par des facteurs environnementaux (tabac, rayons gamma ou ultraviolets, alcool, médicament, les toxiques...). Elles modifient les propriétés biologiques et les réponses cellulaires. Le stress oxydatif correspond au déséquilibre entre la production des radicaux libres (pro-oxydants) et les mécanismes de défense antioxydante, se traduisant par des dommages au niveau moléculaire, cellulaire et tissulaire (Wang et al., 2015).

❖ **Les marqueurs salivaires du stress oxydatif:** On peut citer certains composants enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase, glutathion réductase), et autres non enzymatiques (malondialdéhyde (MDA), protéines thioles, produits de glycation avancée (AGE), taux de carbonylation de protéines et oxydation des lipides, les cytokines, facteurs de croissance HGF et VEGF) (Figure 10). Ces biomolécules du stress oxydatif reflètent des pathologies locales et systémiques et peuvent informer du suivi et du pronostic de plusieurs maladies (Nunes et al., 2015).

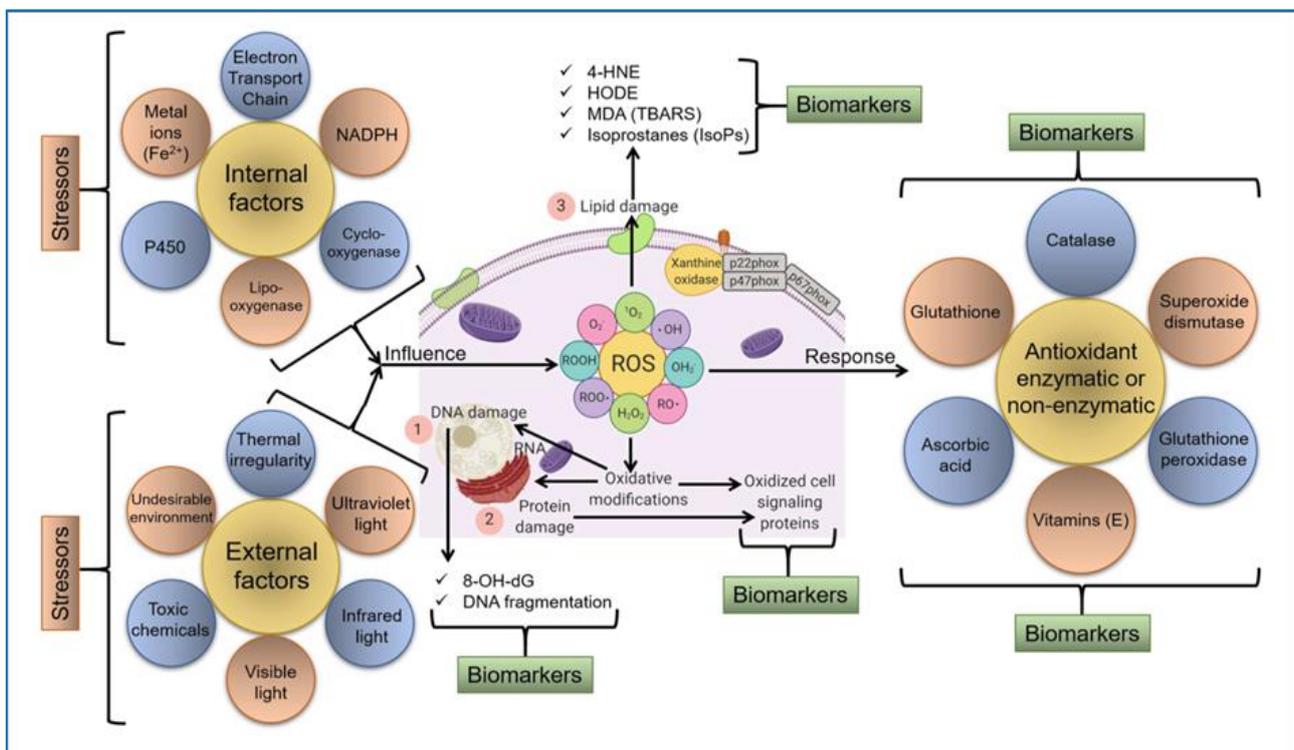


Figure 13. Les principaux biomarqueurs du stress oxydatif (Dhama et al., 2019).

5.3. Biomarqueurs communs

De nombreuses protéines sont retrouvées dans la salive chez des sujets atteints de différentes pathologies et sont témoins de réactions immuno-inflammatoires caractéristiques. Par exemple, une corrélation entre l'augmentation du taux de lysozyme salivaire et la présence de maladies parodontales (MP), d'infections orales et générales, de sarcoïdose, du SSGS, de conditions inflammatoires de manière générale et de syndromes systémiques (hyperglycémie, obésité, MCV). Le Tableau 5 montre les biomarqueurs salivaires dans différentes maladies systémiques (Anjum et Hosein., 2019).

Tableau 5. Biomarqueurs communs et pathologies associées (Pink et al., 2009; Nunes et al., 2015; Anjum et Hosein., 2019).

Maladies ou syndromes associés	Biomarqueurs
Caries dentaires et maladies parodontales	Streptococcus mutans et nombre de lactobacilles, aspartate aminotransférase, phosphatase alcaline, acide urique, albumine, etc.
Maladies auto-immunes (gougerot-Sjogren, sclérose en plaques, Sarcoïdose)	Lactoferrine, beta 2 micro globuline, lysozyme, cystatines, amylase salivaire, CRP, IGA, d'anhydrase carbonique
Maladies parodontales, maladies cardiovasculaires, cancers	Facteur de nécrose tumoral α (TNF- α), myeloperoxydase, lysozyme, métalloprotéinase matricielle, molécule d'adhésion intercellulaire
Maladies parodontales –cancers de la tête et du cou	Élément du métabolisme bactérien (LPS, enzymes produites, miARNs).
Maladie parodontale, maladies rénales chroniques, états de stress post-traumatique, MCV.	Amacroglobuline
Troubles génétiques (Fibrose Kystique, dysplasie ectodermique)	Cathepsine-D sodium, chlorite, potassium, calcium, lactate déshydrogénase, Alpha amylase.
-Infection bactérienne, diagnostic des carcinomes de la tête et de cou. -Identification viral/ bactérienne Carcinome de la tête et du cou.	ADN ARN
Diabète et l'obésité	Glucose, CRP, leptine, insuline, Adiponectine
Les marqueurs du renouvellement osseux (MTA)	Deoxypyridium, ostéocalcine, facteurs de croissance des hépatocytes, IL1- β , Phosphatase alcaline



Partie pratique

Matériel et Méthodes

1. Objectifs

Le but de cette étude s'intéresse sur l'utilisation de la salive comme moyen de diagnostic et d'évaluation les indicateurs du statut oxydant/antioxydant au niveau de la salive chez les personnes témoins et les patients diabétiques.

2. Matériel biologique

Il s'agit d'une étude expérimentale basée sur l'utilisation des échantillons de la salive pour déterminer les paramètres du statut oxydant/antioxydant.

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de physiologie, physiopathologie et Biochimie de la nutrition, au sein du département de Biologie, Faculté SNVTU, Université ABOU BAKR- BELKAID, TLEMCCEN.

L'étude porte sur une population de 24 personnes volontaires. Cette population est répartie en trois groupes :

1^{er} Groupe : 8 personnes de sexe masculin et féminin en bonne santé considérées comme témoins. Les hommes ont un âge compris entre 30 et 36 ans, et les femmes entre 28 et 40 ans.

2^{ème} Groupe: 8 personnes de sexe masculin et féminin âgées. Les hommes ont un âge compris entre 60 et 64 ans, et les femmes entre 60 et 80 ans.

3^{ème} Groupe: 8 personnes de sexe masculin et féminin diabétiques. Les hommes ont un âge compris entre 60 et 69 ans, et les femmes entre 48 et 58 ans.

Les renseignements sont notés pour chacun des patients et des témoins, à savoir :

- Age.
- Taille.
- Poids.
- Indice de Masse Corporelle (IMC : poids/taille²).

2.1. Prélèvements

Les participants doivent incliner la tête vers le bas afin d'accumuler la salive dans la bouche pendant 2 minutes. Les échantillons de salive sont déposés dans des tubes stériles.

Les tubes sont identifiés en notant le nom et le prénom des participants. Par la suite, ils sont numérotés pour garder l'anonymat des personnes volontaires. Le protocole utilisé est schématisé dans la Figure 12.

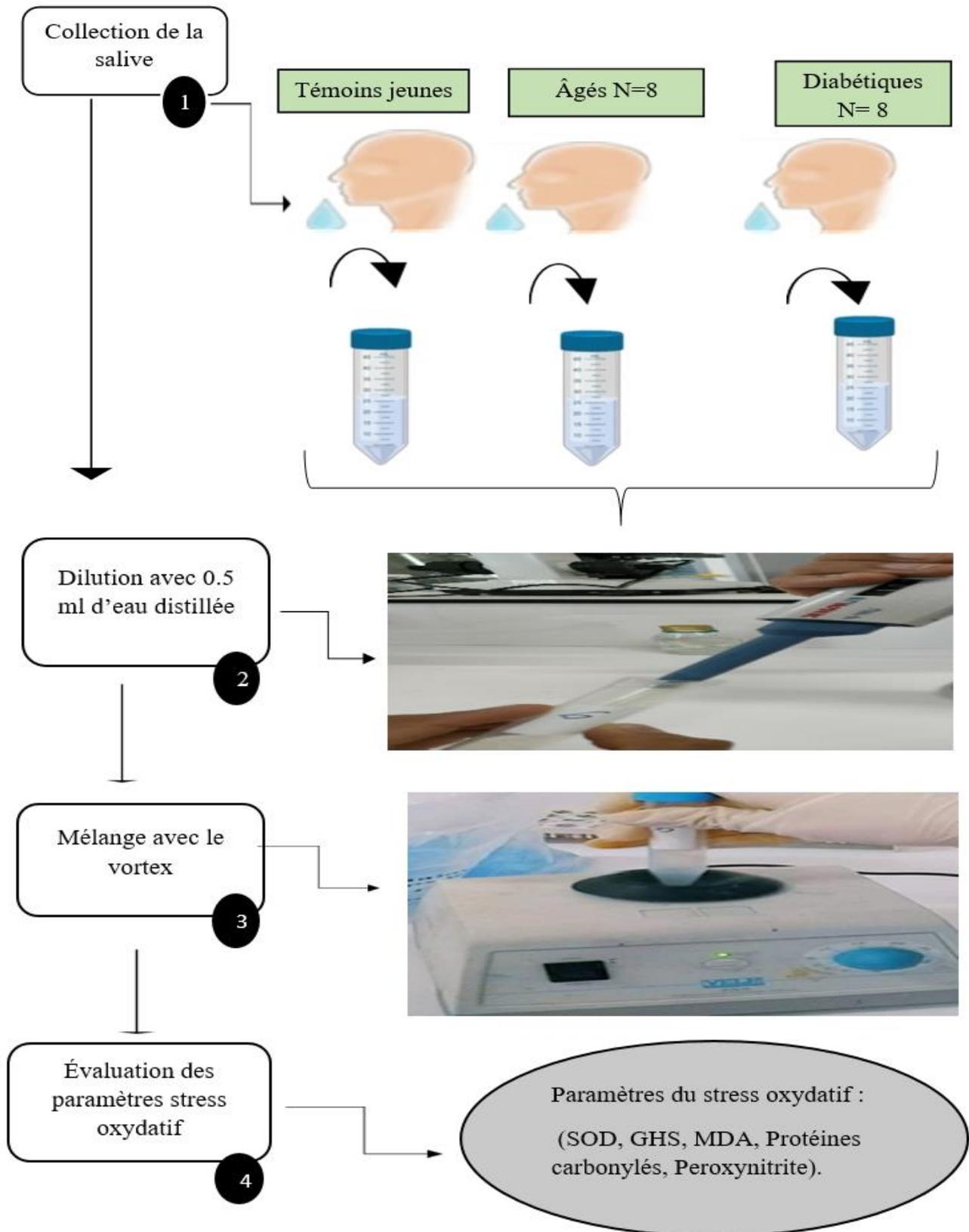


Figure14. Schéma du protocole expérimental.

3. Méthodes utilisées

3.1. Dosage de Malondialdéhyde (MDA) (Draper et Hadley., 1990)

Le dosage du malondialdéhyde salivaire est mesuré selon la méthode de **Draper et Hadley (1990)**.

Le malondialdéhyde (MDA) salivaire, tout comme celui du plasma et érythrocytaire, représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique; car la méthode de dosage est très sensible et simple. Après un traitement à chaud par l'acide, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique(TBA) pour donner un produit de condensation chromogénique formé par 2 molécules de TBA et une molécule de MDA.L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration en MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon=1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532nm).

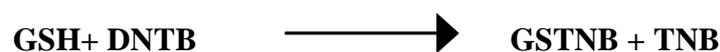
3.2. Dosage de l'enzyme super oxyde dismutase (SOD) (Martin et al., 1987)

Ce dosage repose sur la capacité de l'inhibition de l'auto oxydation de l'hématoxyline par la superoxyde dismutase (SOD). L'hématoxyline est un colorant basique très utilisé en histologie. Son auto-oxydation génère un produit quinonoïde, l'hématéine. L'auto-oxydation de l'hématoxyline en hématéine est accompagnée d'une augmentation de l'absorbance à 560nm, à PH 7.5 et est inhibée proportionnellement par la SOD. Le calcul de l'activité SOD salivaire se fait en utilisant le coefficient d'extinction ϵ de l'hématéine ($27 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{Cm}^{-1}$)à 560 nm.

3.3. Dosage du glutathion réduit (GSH) (Ellman.,1959)

Le dosage du glutathion réduit (GSH) salivaire se fait selon la méthode utilisée pour le dosage du glutathion réduit(GSH) érythrocytaire. Dans ce cas, à la place du lysat, on utilise la salive.

Le dosage du glutathion réduit (GSH) salivaire est réalisé par la méthode colorimétrique par le réactif (DTNB). La réaction consiste à couper la molécule d'acide (5,5'-dithiobis (2acide nitrobenzoïque)) (DNTB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque(TNB) selon la réaction suivante :



Le thionitrobenzoïque (TNB) à pH alcalin présente une absorbance à 412nm avec $\epsilon=13.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{Cm}^{-1}$.

3.4. Dosage des protéines carbonylées (Levine et al.,1990)

Les protéines carbonylées salivaires sont dosées dans la salive en utilisant la même méthode de dosage des protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires.

Les protéines carbonylées sont considérées comme marqueurs de l'oxydation protéique. Les protéines carbonylées de la salive, sont mesurées par la réaction au 2-4 dinitrophénylhydrazine, selon **Levine et al.(1990)**. La réaction aboutit à la formation de la dinitrophénylhydrazone colorée. Les concentrations salivaires en protéines carbonylées sont déterminées par la lecture à des longueurs d'ondes de 350 et 375nm et les concentrations sont exprimées en $\mu\text{mol/l}$ en utilisant le coefficient d'extinction ($\epsilon=21.5\text{mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$).

3.5. Dosage du Peroxynitrite

Le dosage du Peroxynitrite est mesuré selon la méthode de **Beckman et al. (1992)** citée par **Van Uffelen et al. (1998)**.

La détermination du taux de peroxynitrite se fait au niveau de la salive. La nitration du phénol par le peroxynitrite est mesurée au spectrophotomètre à 412 nm. Le calcul se fait en utilisant le coefficient d'extinction $\epsilon =4400 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

4. Traitement statistique

Les résultats sont exprimés en moyennes \pm S.D. Après vérification de la distribution normale des variables (test de Shapiro - Wilk), la comparaison des moyennes, deux à deux, est réalisée par le test t de Student. Les calculs statistiques sont effectués par le Logiciel STATISTICA version 4.1 (Stat Soft).

Résultats et Discussion

1. Caractéristiques de la population étudiée

Les caractéristiques de la population étudiée, soit des quatre groupes sélectionnés, sont représentées dans le Tableau 6. Les résultats montrent que le poids et l'IMC des hommes âgés sont significativement réduits comparés à ceux des hommes témoins jeunes. Toutes les autres comparaisons et variations sont non significatives.

Tableau 6.Caractéristiques de la population étudiée.

	Hommes témoins	Femmes témoins	Hommes âgés	Femmes âgés	Hommes diabétiques	Femmes diabétiques
Nombres	4	4	4	4	4	4
Age (ans)	33 ± 3	34 ± 6	62 ± 2	70 ± 10	58 ± 8	50 ± 3
Poids (Kg)	71±5	69,75±1,45	58,2± 4 *	71,45±2,45	74±3,8	69,65 ±1,35
Taille (m)	1,66±0,2	1,60 ±0,15	1,65±0,1	1,54±0,03	1,64±0,03	1,56±0,05
IMC (Kg /m²)	25,71±1,92	27,08±1,68	21,38±1,09 *	30,02±2,39	27,59±2,42	28,68±1,35

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. IMC : indice de masse corporelle= poids/taille² = Kg/m². La comparaison des moyennes entre les témoins, les âgés et les diabétiques, pour chaque sexe est réalisée deux à deux par le test t de student. * P < 0,05.

2. Marqueurs salivaires du stress oxydatif

Les marqueurs du stress oxydatif au niveau de la salive sont donnés dans le Tableau A1 (en annexe) et les Figures 13 et 14. Les résultats montrent que les taux de peroxy-nitrite salivaire sont significativement élevés chez les hommes âgés et chez les hommes diabétiques comparés aux hommes témoins jeunes. De plus, ces taux en peroxy-nitrite sont aussi significativement augmentés chez les femmes diabétiques comparées aux femmes témoins.

L'activité antioxydant de l'enzyme SOD salivaire est significativement réduite chez les hommes âgés comparés aux hommes jeunes. La SOD est aussi diminuée chez les femmes âgées et chez les femmes diabétiques comparées aux femmes jeunes.

Les taux en MDA salivaire sont augmentés significativement chez les hommes âgés et diabétiques comparés aux hommes témoins jeunes. Le MDA salivaire est aussi augmenté d'une manière significative chez les femmes diabétiques comparées aux femmes jeunes.

Les teneurs salivaires en GSH ne varient pas significativement entre les groupes étudiés.

Les taux en protéines carbonylées salivaires sont augmentés significativement chez les hommes âgés comparés aux hommes témoins jeunes. Les autres variations sont non significatives.

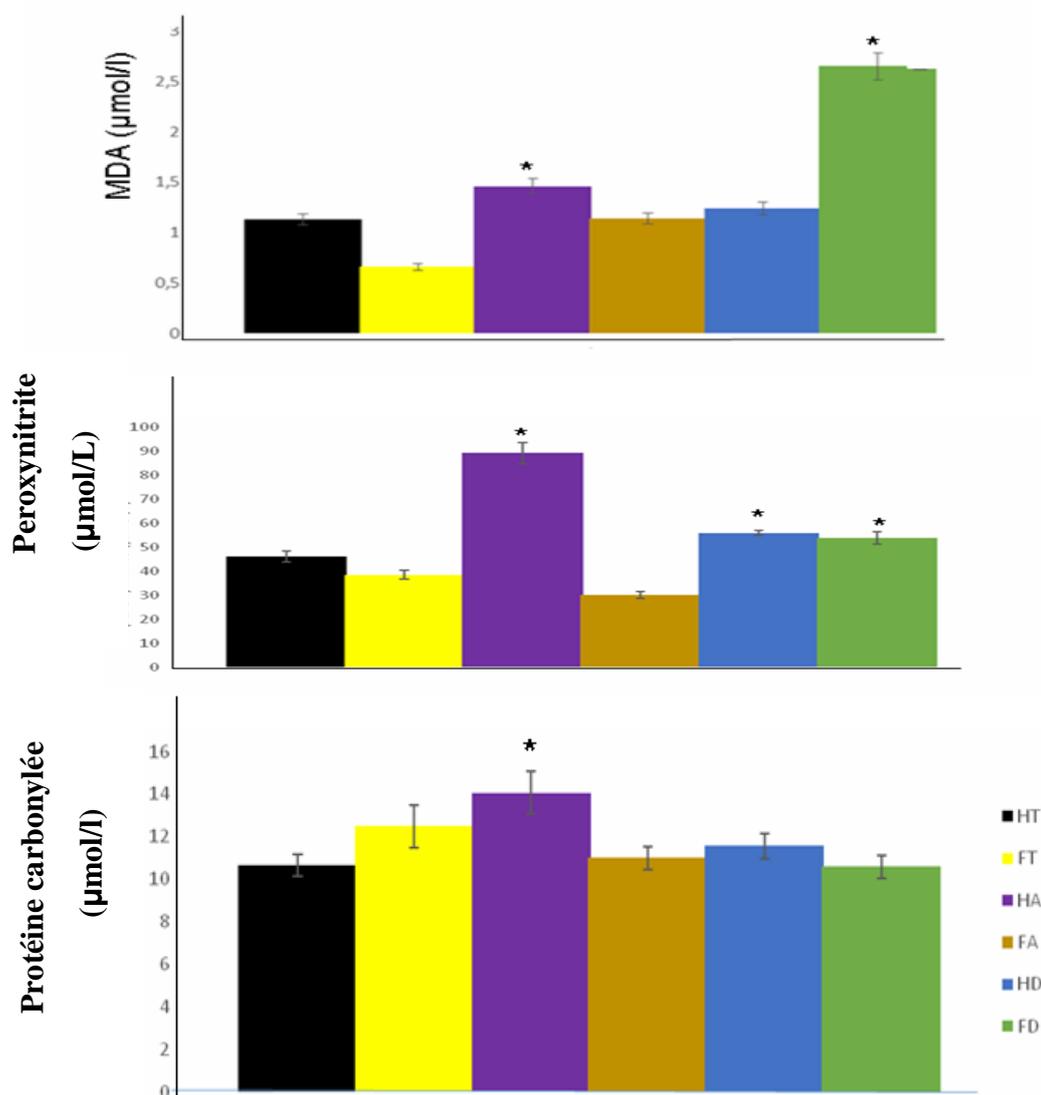


Figure 15. Marqueurs du statut oxydant salivaire (peroxynitrite, MDA, Protéines carbonylées).

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HT: hommes témoins; FT: femmes témoins; HA: hommes âgés; FA: femmes âgées; HD: hommes diabétiques; FD: femmes diabétiques. La comparaison des moyennes entre les témoins, les âgés et les diabétiques, pour chaque sexe est réalisée deux à deux par le test t de student. * P < 0,05.

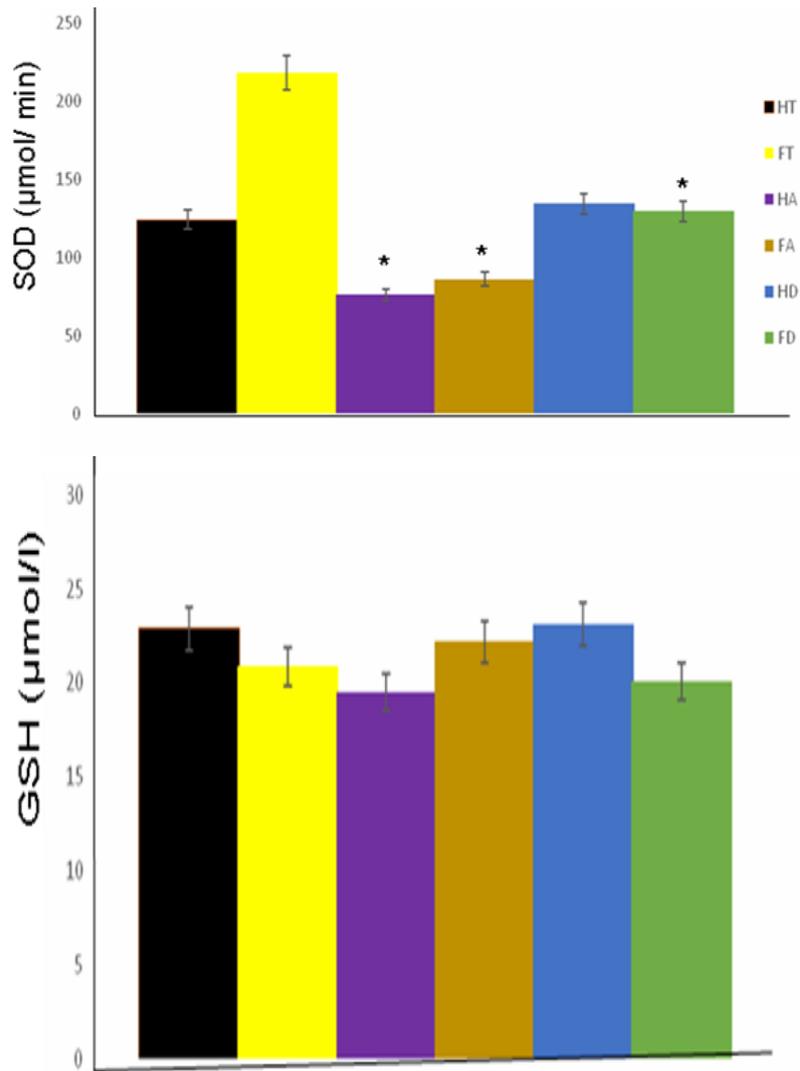


Figure 16. Marqueurs antioxydants salivaires (SOD et GSH).

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HT : homme témoins ; FT : femme témoins ; HA : homme âgés ; FA : femme âgées ; HD : homme diabétiques ; FD : femme diabétiques. La comparaison des moyennes entre les témoins, les âgés et les diabétiques, pour chaque sexe est réalisée deux à deux par le test t de student. * P < 0.05.

Le stress oxydatif est défini comme « une situation dans laquelle l'état d'équilibre des ROS est augmenté de manière transitoire ou chronique, perturbant le métabolisme cellulaire et sa régulation et endommage les macromolécules cellulaires ». La cible des dommages causés par les ROS comprend tous les groupes de biomolécules qui, en cas d'affaiblissement des systèmes antioxydants notamment l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), la catalase, les enzymes du cycle redox du glutathion et le glutathion lui-même peuvent entraîner des modifications permanentes de l'états redox de l'ADN, de l'ARN, des protéines, des glucides et des lipides et conduire à la perte de la fonction biologique des cellules (**Maciejczyk et al., 2018**).

Le diabète est indissociable du stress oxydatif. La surproduction de ROS est un déclencheur majeur de diabète. L'hyperglycémie entraîne une production accrue de radicaux libres d'oxygène et une perturbation des mécanismes de défense antioxydants (**Andjelski-Radicevic et al., 2012**).

Le diabète sucré est un trouble métabolique d'étiologies multiples, caractérisé par une hyperglycémie chronique et des perturbations du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines. On considère l'hyperglycémie chronique comme le résultat d'une défaillance de la production d'insuline ou d'une résistance cellulaire accrue à l'action de l'insuline (**Cuero et Sanchez, 2019**).

Il est bien connu que l'hyperglycémie joue un rôle important dans la pathogenèse du diabète chez l'homme et dans les modèles expérimentaux. L'hyperglycémie chronique est responsable des changements et des dysfonctionnements de divers organes, y compris les glandes salivaires (**Cuero et Sanchez, 2019**).

La capacité antioxydante de la salive diminue avec l'âge et peut être à l'origine de changements structuraux au niveau des glandes salivaires (**Derouiche et al., 2018**).

Le diagnostic de diabète est établi en déterminant la concentration de glucose dans le sérum sanguin qui est connu comme la seule méthode conventionnelle pour évaluer le bilan biologique. Néanmoins, la prise de sang est invasive et parfois douloureuse et pouvant conduire à une infection microbienne (**Andjelski-Radicevic et al., 2012; Cuero et Sanchez, 2019**).

Dans ce cadre, notre étude s'intéresse sur l'utilisation de la salive comme moyen de diagnostic des maladies et d'évaluation des biomarqueurs du stress oxydatif chez les personnes diabétique ainsi les personnes témoins. Les principaux paramètres que nous avons investigué dans notre étude au niveau de la salive sont ceux des marqueurs du statut oxydant (protéine carbonylé, malondialdéhyde, peroxyde d'azote) et les marqueurs des antioxydants (glutathion réduit et superoxyde dismutase). Nous avons choisi ces marqueurs du statut redox car ils constituent des marqueurs

largement dosés au niveau sanguin avec des méthodes biochimiques utilisant des réactifs présents dans notre laboratoire.

La peroxydation lipidique altère la fonction membranaire en diminuant la fluidité membranaire et modifiant certaines molécules comme les enzymes et les récepteurs par le processus de dégradation des acides gras polyinsaturés (**Reznick et al., 2006**).

Parmi les aldéhydes formés lors de la peroxydation lipidique, le plus connu est le malondialdéhyde (MDA). Le MDA est actuellement le biomarqueur le plus utilisé pour juger les états du stress oxydatif dans la salive (**Smriti et al., 2015**). Dans notre travail, les résultats obtenus montrent une augmentation significative des taux du MDA chez les patients diabétiques et les personnes âgées comparées à ceux des témoins. De plus, les valeurs les plus accentuées sont observées chez les femmes diabétiques et les hommes âgés. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Hegd et al. (2010)** et **Reznick et al. (2006)** qui suggèrent une augmentation du MDA salivaire chez les personnes diabétiques. Les études de **Celec et al. (2005)** ont trouvé également une augmentation du taux de MDA attribuée à l'âge, à l'altération de l'état parodontal et au tabagisme.

Le vieillissement s'accompagne d'une altération globale d'un ensemble de fonctions physiologiques ainsi que d'une susceptibilité plus élevée face à différentes maladies. La théorie radicalaire explique ces altérations par l'accumulation des radicaux libres (**Barouki., 2006**). Une élévation des marqueurs biologiques du stress oxydant comme le MDA a été observée au cours du vieillissement de nombreuses espèces (**Barouki., 2006**).

Lamichhane et al. (2012) ont montré que la peroxydation lipidique est augmentée chez les patients diabétiques. Ils ont conclu que la peroxydation lipidique peut être considérée comme un marqueur précoce du diabète. Nos résultats sont donc similaires à leurs résultats concernant cette relation entre la peroxydation lipidique et le diabète sucré.

La salive peut être la première ligne de défense contre le stress oxydatif (**Derouiche et al., 2018**).

Dans une large mesure, la composition du sérum se reflète dans la composition de la salive. Le MDA salivaire semble être indicateur de la concentration sérique (**Reznick et al., 2006**).

La carbonylation des protéines est l'une des modifications protéiques oxydatives irréversibles et est considérée comme un indice précoce et stable des troubles liés au stress oxydatif (**Song et al., 2020**).

Le mécanisme de carbonylation des protéines salivaires est augmenté lors du diabète suite à la formation du groupe carbonyle. Dans notre travail, les résultats obtenus montrent une augmentation significative dans la teneur en protéines carbonylées chez les personnes diabétiques

et âgées plus précisément les hommes âgés par rapport aux témoins. Ces résultats ont été trouvés par **(Wang et al., 2015)** qui décrivent que les protéines carbonylées sont considérées comme biomarqueurs alternatifs du vieillissement. Il a été démontré que les protéines sont exposées de manière cumulative à des réactions délétères qui contribuent progressivement à l'altération de leurs propriétés structurales et fonctionnelles, affectant leurs interactions moléculaires et cellulaires. Ces processus complexes font intervenir des modifications non enzymatiques avec formation de protéines carbonylées. Cumulatif et souvent irréversible, ce « vieillissement moléculaire des protéines » est impliqué dans le vieillissement de l'organisme et est amplifié dans certaines maladies chroniques comme le diabète sucré **(Jaisson et al., 2017)**. En effet, l'hyperglycémie chronique induit une augmentation de l'oxydation des protéines chez les personnes diabétiques **(Ouznadj et Desmons., 2020)**. Cette augmentation serait susceptible de contribuer au développement des complications vasculaires liées au diabète.

Pour le peroxy-nitrite, les résultats obtenus montrent une augmentation des teneurs en peroxy-nitrite chez les personnes diabétiques et âgées plus précisément les hommes âgés par rapport aux témoins. Le peroxy-nitrite est une molécule à fort pouvoir oxydant, issu de la réaction spontanée entre le radical superoxyde et le monoxyde d'azote. Sa réactivité chimique lui permet de causer des dommages oxydatifs multiples. Les taux de peroxy-nitrite sont augmentés chez les diabétiques et sont le reflet de nombreuses altérations cellulaires **(Stadler., 2011)**.

Concernant les marqueurs de la défense antioxydante, nous avons mesuré l'activité de l'enzyme superoxyde dismutase et les teneurs en glutathion réduit.

Le système antioxydant intracellulaire joue un rôle fondamental dans la défense contre le stress oxydatif. Ce système est constitué de glutathion réduit (GSH) qui est impliqué dans la réaction de détoxification enzymatique des ROS et participe dans la régénération de la vitamine E **(Ma et al., 2011)**. Le GSH est une petite molécule tri-peptidique composée de trois acides aminés : Glutamate (acide glutamique), Cystéine et Glycine. Le GSH est une molécule omniprésente connue par son pouvoir antioxydant. Par conséquent, la variation du glutathion réduit peut être considérée comme un indicateur sensible du stress oxydant **(Wei et al., 2012)**.

L'analyse statistique des teneurs en glutathion réduit salivaire ne montre aucune différence significative chez les patients diabétiques et âgés en comparaison avec les sujets témoins.

Nos résultats ne concordent pas avec les travaux de **Arana et al. (2006)** qui montrent une diminution de GSH chez les patients diabétiques. Cela confirme la présence d'un mécanisme compensatoire pour prévenir contre les dommages oxydatifs. Il est possible aussi que le GSH salivaire n'est pas un bon marqueur du stress oxydatif.

Le superoxyde dismutase est un autre marqueur pris en considération pour évaluer le statut antioxydant. D'après **Belge. (2016)**, la superoxyde dismutase (SOD) représente l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydatif en assurant l'élimination de l'anion superoxyde par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.

Dans cette étude, nous avons enregistré une diminution significative de la SOD chez les personnes âgées et diabétiques. L'étude de **Mussavira et al. (2015)** a mis en évidence une augmentation du taux de SOD chez les patients diabétiques. Cette augmentation pourrait être destinée à combattre les radicaux libres. Mais d'autres études notent une diminution de la SOD au cours du diabète, marqueur d'un stress oxydatif intense (**Dworzański et al., 2020**). De plus au cours du vieillissement, il y a réduction de la synthèse des protéines et des enzymes d'où diminution de certaines enzymes antioxydants comme la SOD (**Barouki., 2006**).



Conclusion

La cavité buccale est un milieu humide, un film de fluide appelé salive recouvre constamment ses surface internes et occupe l'espace entre la muqueuse buccale et les dents. La salive est un fluide complexe produit par les glandes salivaires, dont le rôle important est de maintenir le bien-être de la bouche. Un déficit de production salivaire entraîne des conséquences catastrophiques (difficultés à manger, à parler, à avaler et risques à plusieurs pathologies) dans l'environnement buccal du patient.

Le fluide salivaire peut fournir des informations sur les changements pathologiques non seulement dans la zone buccale mais aussi dans d'autres parties du corps.

L'intérêt croissant pour la salive en tant que fluide biologique est dû à son caractère non invasif, à sa facilité d'utilisation, à son rapport cout-efficacité et aux multiples possibilités de collecte d'échantillons, ainsi qu'au risque minimal pour les professionnels de la santé de contracter des organismes infectieux tel que le virus et les bactéries.

Notre travail est basé sur l'étude de biomarqueurs salivaires en lien avec la santé générale. Il met en évidence l'intérêt de la salive dans le diagnostic du diabète par l'évaluation des paramètres du statut oxydant/ anti oxydant et aussi dans l'évolution du vieillissement. Cependant notre expérimentation était difficile à discuter en raison de l'absence des études sur l'évaluation des paramètres de stress oxydatif dans la salive. Malgré les difficultés, nous avons pu obtenir quelques résultats.

Les biomarqueurs présents dans la salive représentent un outil fiable pour l'évaluation du stress oxydatif. Au cours du diabète et du vieillissement, la salive peut être utilisée pour quantifier l'état du statut redox.

La meilleure compréhension des corrélations entre la salive et la santé générale commence à porter ses fruits, ce qui favorisera de plus en plus l'amélioration des applications dans de nombreux domaines de la médecine.

En perspective, nous espérons poursuivre ce travail par l'étude de la salive des patients ayant d'autres pathologies comme l'obésité, l'hypertension, les maladies cardiovasculaires et autres.



Références Bibliographiques

1. Abdelrazik M, Baghdadi H, Alali K (2013). Functional biochemistry and microbiology of human saliva. *Journal of Academic and Scientific Research*.1(1) : 52-59.
2. Al Qassar SS (2021). Saliva functions, collections and manipulation for research purposes. *Global Dentistry Case Report*. 1(1): 1-5.
3. Aminlari L, Hashemi MM, Aminlari M (2014).Modified lysozyme as novel broad spectrum natural antimicrobial Agents in foods. *Journal of Food Science*.79(6) :1077-1090.
4. Andjel-Radicevic B, Dozic R, Todorovic T, Dozic I (2012). Biochemical markers in saliva of patients with diabetes mellitus. *Journal of Serbian Dental*.59(4) : 198-204.
5. Andreasen S (2018). Molecular features of adenoid cystic carcinoma with an emphasis on microRNA expression. *Journal of pathologie. Microbiology And Immunology*.126(140) : 7-57.
6. Anjum A, Hosein, M(2020).Diagnostic Importance of Saliva. *Journal of the pakistan dental association*.28(3) : 129-135.
7. Arana C, Cutando A, Ferrera MJ (2006). Parameters of oxidative stress in saliva from diabetic and parenteral drug addict patients. *Journal oral Pathol Med*.35 :554-559.
8. Arunkumar S, Arunkumar JS, Burde KN, Shakuntala GK (2014). Development in diagnostic applications of saliva in oral and systemic diseases- A comprehensive review. *Journal of Scientific and Innovative Research*.3(3): 372-387.
9. Barouki R (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine science*. 22 : 266-272.
10. Beckman JS, Ischiropoulos H, Zhu L, Van der Woerd M, Smith C, Chen J, Harrison J, Martin JC, Tsai M (1992). Kinetics of superoxide dismutase and iron –catalyzed nitration of phenolics by peroxynitrite. *Arch Biochem Biophy*. 298:438-445.
11. Bhattarai KR, Junjappa R, Handigund M, Kim HR, Chae HJ (2018). The imprint of salivary secretion in autoimmune disorders and related pathological conditions. *Autoimmunity Review*. 17:376-390.
12. Carpenter GH (2013). The secretion, components, and properties of saliva. *Annula Reviews Food Science Technology*. 4 : 267-276.
13. Celec P, Hodosy J, Celeecova V, Vodrazka J, Cervenka T, Halcak L, Bozek P, Kopani M, Kudela M(2005). Slivary thiobarbituric acid reacting substances and malondialdehyde-

- their relationship to reported smoking and to periodontal status described by the papillary bleeding index. *Dis Markers* 21 : 133-137.
14. Champatray S, Nayak SR, Dass SR, Jena I, Nayak GB, Huan R (2015). Saliva: An emerging, non-invasive tool for detection of diseases. *Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 35(1) : 30-35.
 15. Cuero R, Sanchez L (2019). DNA-based glucose sensor and photonicity for early detection of diabetes using saliva. *Diabetes Updates*. 5 :1-5.
 16. Cuevas-Cordoba B, Santiago-Garcia J (2014). Saliva: A Fluid of Study for OMICS. *OMICS A Journal of Integrative Biology*.18 (2): 87-97.
 17. Cui Y, Yang M, Zhu J, Zhang H, Duan Z, Wang S, Liao Z, Liu W (2022). Developments in diagnostic applications of saliva in human organ diseases. *Medicine in Novel Technology and Diseases*.13: 1-11.
 18. D'Agostino C, Elkashty OA, Chivasso C, Perret J, Tran, SD, Delporte C(2022). Insight into salivary gland aquaporins. *Cells*.9(1547) :1-23.
 19. Dany G (2012). Pathologies générales et salives. *Sciences du Vivant*. 39(07) : 1-274.
 20. Dave PK, Rojas- Cessa R, Dong Z, Umpiachitra V(2021).Survey of saliva Components and Virus Sensors for Prevention of COVID-19 and Infectious Diseases. *Biosensors*.11(14) :1-33.
 21. Dawes C , Pedersen AML , Villa A , Ekstrom J , Proctor GB , Vissink A , Aframain D , McGowan R , Aliko A , Narayana YW , Sai Joshi RK , Jensen SB , Kerr AR , Wolff A (2015) . The function of human saliva: A review sponsored by the world Workshop on Oral Medicine VI. *Archives oral biology*. 60 (2): 863-874.
 22. De Almeida PDV, Grégio AML, Machado MAN, De lima AAS, Azevedo LR (2008). Saliva composition and function: a comprehensive review. *J Conemp Dent Pract*. 9(3) : 72-80.
 23. Demouveau B, Gouyer V, Magnien M, Plet S, Gottrand F, Narita T, Desseyn J-L (2018). La structure des mucines conditionne les propriétés viscoélastiques des gels de mucus. *Médecine/ Sciences*.34 :806-818.
 24. Derouiche S, Habita A, Dejachi O, Necib M, Chetehouna R (2018). Investigation of the oxidative Stress markers in salivary, Serum and erythrocyte. *Journal of biological and agricultural*. (1) :10-18.
 25. Devoize L, Dalle R (2010). Salivation. *EMC –Médecine buccale*. 10 (1): 28-150.

26. Dhama K, Latheef SK, Dadar M, Samad HA, Munjal A, Khandia RK, Arthik K, Tiwari R, Yatoo MI, Bhatt P, Chakraborty S, Singh KP, Iqbal HMN, Chaicumpa W, Joshi SK (2019). Biomarkers in stress related diseases/disorders: Diagnostic, Prognostique, and Therapeutic Values. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 6(91): 1-50.
27. Draper HH, Hadley M (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 186:421-482.
28. Dworzanski J, strycharz-Dudziak M, Kliszczewska E, Kielczykowska M, Dworzanska A, Drop B, Polz-Dacewicz (2020). Glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) activity in patients with diabetes mellitus type 2 infected with EpsteinBarr virus. *Check for updates*. 15(3) : 1-10.
29. Ellman GL (1959). Tissue sulphhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 82:70 –77.
30. Fatima S, Muzammal M, Rehman A, Ullah Shah K, Kamran M, Mashal S, Ali Rustam S, Waqar Sabri M, Nayab A (2020). Composition And Function of saliva .*Journal of Pharmacy And Pharmaceutical sciences*. 9(6) : 1552-1567.
31. Ferreira N, Hoffman MP (2013). Interaction between developing nerves and salivary glands. *Journal landes biosciences*. 9(3) :199-205.
32. Garcia-Gutiérrez MS, Navarrete F, Sala F, Gasparyan A, Austrich-Olivares A, Manzanares J. (2020). Biomarkers in psychiatry: Concept, definition, types and relevance to the clinical reality. *Front Psychiatry*. 11(432): 1-14.
33. Gasperment S (2018). La salive et ses Biomarqueurs : implications physiopathologiques et médicales. *Université de Saint-pierre*. 7(1) : 27-30.
34. Gibbins HL, Proctor GB, Yakubov GE, Wilson S, Carpenter G (2014). Concentration of salivary protective proteins within the bound oral mucosal pellicle. *Oral diseases*. 20(7) :707-713.
35. Gondret F, Hedeman MS, Messad F, Vershuren L, Wang J, Fuente G, Jansman A (2020). Identification de biomarqueurs de l'efficacité alimentaire chez le porc en croissance. *Reseachgate Journées Recherche porcine*. 52 :19-24.
36. Groschl M (2008). Current status of salivary hormone analysis. *Clinical Chemistry*. 54(11): 1759-1769.
37. Harvey NM, Carpenter GH, Proctor GB, Klein J (2011). Normal and frictional interactions of purified human statherin adsorbed on molecularly –smooth solid substrata. *Biofouling*. 27(10) :823 -835.

38. Hegde A, Shenoy R, Mello P, Smitha A, Tintu A, Manjrekar P (2010). Alternative markers of glycemic status in diabetes mellitus. *Biomed Res.* 21: 252-256.
39. Humphrey SP, Williamson RT (2001). A review of saliva: normal composition, flow and function. *Journal of prosthetic Dentistry.* 85: 162-169.
40. Jaisson S, Desmons A, Gorisse L, Gillery P (2017). Vieillesse moléculaire des protéines : Quel rôle en physiopathologie ? . *Medicine Sciences.* 33(2) : 176-182.
41. Jocelyn G (2018). Aspects qualitatifs de la salive dans le cadre de la radiothérapie cervico-faciale. *Revue systématique de la littérature. Chirurgie.*16(35) 1-65.
42. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia Godoy F, Wong DT (2017). Diagnostic de la salive -Vues et orientations actuelles. *Exp Biol Med (Maywood).* 242(5): 459-472.
43. Kumar B, Kashyyap N, Avinash A, Chevvuri R, Sagar MK, Shrikant K (2017). the composition, function and o Reviews role of saliva in maintaining oral health. *Journal of ContemporaryDental and Medical.* 1-6.
44. Lamichhane A, Prasad S, Bhaskar N, Singh J, Pandey R (2012). Malondialdehyde (MDA): an oxidative stress marker in type II Diabetes mellitus with and without complications.2:110-112.
45. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER(1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 186: 464–478.
46. Li J, Helmerhorst EJ, Yao Y, Nunn ME, Troxler RF, Oppenheim FG (2004). Statherine is an in vivo pellicle constituent: identification and immuno-quantification. *Archives of oral biology.* 49: 379-385.
47. Liéna-puy C (2006).The role of saliva in maintaining oral Health and as an aid to diagnosis.*Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 11 :449-455.
48. Lokesh K (2015). Jayanthi Saliva: A mirror to health. *Journal of Contemporary Dental and Medical Reviews.* 030715 :1-3.
49. Ma JQ, Liu CM, Qin ZH, Jiang JH, Sun YZ (2011).Ganodermaapplanatumterpenes protect mouse liver against benzo (α) pyren-induced oxidative stress and inflammation.Envitro. *Toxicol and pharmaco.*31 (3):460-468.
50. Maciejczyk M, Zebrowska E, Zalewska A, Chabowski A (2018). Redox Balance, Antioxidant Defense, and Oxidative Damage in the Hypothalamus and Cerebral Cortex of

- Rats With High Fat Diet- Induced Insulin Resistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.6: 1-11.
51. Marcotte H, Lavoie MC (1998). Oral Microbial Ecology and the Role of Salivary Immunoglobulin A. *Oral microbiology and salivary IGA* .62(1):71 -109.
 52. Martin JP, Dailey JM, Sungarman E (1987). Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxilin autoxidation. *Arch Biochem Biophys*. 255:329–336.
 53. Mortha N, Uppala D, Kothia NR, Majumdar S, Kotina S, Sravya K(2018). A Systematic review of Saliva on its diagnostic utility. *Journal of health sciences*.7 (2):115-119.
 54. Mussavira S, Dharmalingam M, Sukumaran BO (2015). Salivary glucose and antioxidant defense markers in type II diabetes mellitus. *Turkish journal of medical sciences*.45 : 141-147.
 55. Nair ASU, Thavarajah R, Ranganathan K (2012). Saliva and dental practice. *Journal of health sciences*.1 (2) : 71-76.
 56. Nunes LAS, Mussavira S, Bindhu OS (2015). Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid; a systematic review. *Biochemia medica*. 25(2): 177-192.
 57. Oudhoff MJ, Bolscher JG, Nazmi K, Kalay H, Van't Hof W, Amerongen AVN, Veerm EC (2008). Histatins are the major wound-closure stimulating factors in human saliva as identified in a cell culture assay. *The faseb journal*, 22(11) :3805-3812.
 58. Ouznadji A, Desmons A (2020). Les réactions d'oxydation des protéines et leurs biomarqueurs. *Revue francophone des laboratoires*. 522 : 31-38.
 59. Padiglia A, Zonza A, Atzori E, Chillotti C, Calo C, Tepper BJ, Barbarossa IT (2010). Sensitivity to 6-n-propylthiouracil is associated with gustin (carbonic anhydrase VI) den polymorphism, salivary zinc, and body mass index in humans .*The american journal of clinical nutrition*.92:539-545.
 60. Pedersen AM, Sorensen CE, Proctor GB, Carpenter H, Ekstrom J (2018). Salivary secretion in health and disease. *Journal of oral rehabilitation*. 1-17.
 61. Pellat B (2011). Salives et milieu buccal. *EMC-Chirurgie orale et maxillo-faciale* .1-10.
 62. Pellerin C, Pellat B (1986). Biochimie Odonto- Stomatologique (collection des abrégés d'odontologie et de stomatologie). *Journal Masson*. 263.
 63. Pellestof F (2007). Métabolisme et nutrition : Histologie de l'appareil digestif. *Montpellier journal*.1 (6) 1-91.

64. Pink R, Simek J, Vondrakova J, Faber E, Michel P, Pazdera J, Indrak K (2009). Saliva as diagnostic Medium. *Biomed pap med fac univ palacky olomouc czech repub.* 153 (2): 103-110.
65. Proctor G B, Carpenter G H (2014). Salivary secretion: Mechanisme and neural regulation *.Monogr oral Sci.* 24 :14-29.
66. Protor GB, Hamdan S, Carpenter GH, Wilde P (2005). À statherine and calcuim enriched layé at the air interface of human parotid saliva *.Biochemical Journal.*389:111-116.
67. Rahim MAA, Rahim ZH, Azman W, Ahmad W, Hashim OH (2015). Can saliva proteins be used to predict the onset of actue myocardial infraction among high-risk patients? *International journal of Medical Sciences.* 12(4): 329-335.
68. Reznick AZ, Shehadeh N, Shafir Y, Naglar RM (2006).Free radicals related effects and antioxidants in saliva and serum of adolescents with type 1 diabets mellitus. *Arch Oral Biol.*51 : 640-648.
69. Roheder N, Nater UM (2009). Determinants of salivary α -amylase in humans and methodological considirations *.Psychoneuroendocrinology.* 34(4) :469-485.
70. Scaros O, Fisler R (2005). Biomarker technology round up: from discovery to clinical applications, a broad set of tools is required to translate from the lab to the clinic. *Biotechnology:* 30-32.
71. Smriti K, Pai KM, Ravindranath, Pentapati KC (2015). Role of salivary malondialdehyde in assessment of oxidative stress amog diabetics. *Journal of oral biology and craniofacial reserch.* 6 : 41-44.
72. Song YR, Kim JK, Lee HS, Kim SG, Choi EK(2020).Serum levels of protein carbonyl, a marker of oxidative stress, are associated With overhydration, sarcopenia and mortality in hemodialysis patients. *BMC Nephrology.*21(281) : 1-11.
73. Stadler K(2011). Peroxynitrite-driven mechanisms in diabetes and insulin resistance- the latest advences. *Curr med chem.* 18(2) : 280-290.
74. Streckfus CF, Gaujardo- Edwards C (2011). The Use of Salivary Lysozyme in Caries-resistant and caries-susceptible adults. *Journal of dental research.*62 : 552-554.
75. Sun X, Salih E, Oppenheim FG, Helmerhorst EJ (2009). Kinetics of histatin proteolysis in Whole saliva and the effect on bioactive domains Withe metal-bindinge, antifungal, and wound- healing properties. *Journal of The FASEB.* 23 :2691-2710.

76. Szpirglas H, Ben Salma L (1999). Pathologie de la muqueuse buccale. *Encycl Med Chir*.308 : 240-243.
77. Trigui V(2018). Biomarqueurs de la salive et la santé générale. *Sciences du vivant*. 21 (78) : 1-112.
78. Turner RJ, Sugiya H (2002). Understanding salivary fluid and protein secretion. *Orale diseases*. 8 : 3-11.
79. VanUffelen BE, Van der Zee J, deKoster BM, Vanstereninck J, Elferink JG (1998). Intracellular but not extracellular conversion of nitroxyl anion into nitric oxide leads to stimulation of human neutrophil migration. *Biochem J*. 330 :719-722.
80. Vidailhet JM, Robin O, Polo A (2000). Salivation. In : *Encycl Méd Chir* (paris), Stomatologie.5 :1-7.
81. Vidialhet B, Robin O, Polo A, Bravetti P, Mahler P (2008). *Slivation*. EMC- Médecine buccale.3(1) : 1-8.
82. Vila T , Rizk AM , Sultan AS, Jabra-Rizk M A (2019) .The power of saliva : Antimicrobial and beyond. *Plos pathogenes*. 15(11) : 1-7.
83. Wang J, Schipper HM, Velly AM, Mohit S, Gornitsky M (2015). Salivary biomarkers of oxydative stress : *A critical review*. *Free radic biol med*. 85 : 95-104.
84. Wang Z, Yanyi W, Hongchen L, Yuwei C, Yingying X, Lingling E (2015). Variation liées à l'âge des protéines carbonyles de la salive sont-elles un biomarqueur alternatif du vieillissement ? *Journal of dords*.37(3) :81-97.
85. Wei w, Li XF, Li XN, Chen XM, Liu AL, Lu WQ (2012). Oxidative stress and cell cycle change induced by coeposed PCB126 and Benzo (a) pyrene to humanhepatoma HepG2) cells. *Envir. Toxicol*.27(5) :316-320.
86. Wozniak M, Paluszkiwicz C, Kwiatek WM (2019). Saliva as non-invasive material for early diagnosis. *Biochimica Polonica*. 66(4): 383-388.
87. Yoshizawa JM, Schafer CA, Schafer JJ, Farrell JJ, Paster BJ, Wong DTW (2013). Salivary Biomarkers: *Toward future clinical and diagnostic Utilities*. *Clinical Microbiology Reviews*. 26(4) : 781-791.
88. Zhang Y, Sun J, Lin CC, Abemayor E, Wang MB, Wong DTW (2014). Le paysage émergent des diagnostics salivaires. *Gestion de la santé bucco-dentaire*. 13(2): 200-210.



Annexes

Tableau A1. Marqueurs salivaires du stress oxydatif.

	Hommes témoins	Femmes témoins	Hommes âgés	Femmes âgés	Hommes diabétiques	Femmes diabétiques
peroxynitrite ($\mu\text{mol/l}$)	46 \pm 3.25	38.40 \pm 3.9	89.09 \pm 4.33*	30.10 \pm 3.29	55.80 \pm 3.30*	53.74 \pm 3.20*
SOD ($\mu\text{mol/ min}$)	124.29 \pm 14	217.75 \pm 83	75.99 \pm 8.07*	85.95 \pm 7*	134 \pm 9.13	129.45 \pm 12.8*
MDA ($\mu\text{mol/l}$)	1.13 \pm 0.14	0.66 \pm 0.25	1.46 \pm 0.11*	1.14 \pm 0.22	1.24 \pm 0.16*	2.65 \pm 0.67*
GSH ($\mu\text{mol/l}$)	22.9 \pm 3.27	20.85 \pm 1.33	19.49 \pm 1.38	22.2 \pm 1.17	23.08 \pm 3.75	20.07 \pm 0.88
Protéine carbonylée ($\mu\text{mol/l}$)	10.66 \pm 1.3	12.5 \pm 1.74	14.06 \pm 1.34*	11 \pm 1.5	11.56 \pm 2.15	10.58 \pm 1.22

Tableau A 2.Matériel non biologique (réactifs et appareillage)

Appareillage	Produits chimiques
-Bain-marie -vortex -Centrifugeuse -Balance de précision -spectrophotomètres -micropipette	-NaCl -NaOH -TBA -hématoxyline -tampon -phosphate H ₂ PO ₄ -DNTB -Tampon KPO ₄ -HCL -EDTA -TCA

Réalisée par:

-ATTAR IMANE

-MAKHOUKHI FATIMA

Encadré par :

Mme Merzouk H.

Biomarqueurs de la salive comme diagnostic sanitaire.

Résumé-Abstract

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer si la salive peut être utilisée pour détecter le niveau de stress oxydatif de l'organisme. On mesure les marqueurs suivants du statut redox salivaire : malondialdéhyde, protéines carbonylées, peroxydite, glutathion réduit, superoxyde dismutase.

Nos résultats montrent une augmentation des teneurs salivaires en MDA, protéines carbonylées et peroxydite chez les personnes diabétiques et les personnes âgées comparées aux témoins jeunes. Les teneurs salivaires en GSH ne varient pas entre les groupes étudiés. De plus, l'activité du superoxyde dismutase est réduite chez les personnes diabétiques et les personnes âgées.

En conclusion : les changements dans les marqueurs pro-oxydants et les enzymes antioxydants dans la salive justifient que ce fluide biologique peut convenir à l'évaluation du stress oxydatif lors des pathologies.

Mots clés : salive, stress oxydant, diabète, marqueurs de statut redox, vieillissement.

Abstract

The objective of this work is to evaluate whether saliva can be used to detect the level of oxidative stress in the body. The following markers of salivary redox status are measured: malondialdehyde, carbonyl proteins, peroxydite, reduced glutathione, superoxide dismutase.

Our results show an increase in salivary MDA, carbonyl protein and peroxydite levels in diabetic patients and elderly people compared to young controls. Salivary GSH levels do not vary between the groups studied. Moreover, superoxide dismutase activity is reduced in diabetic patients and elderly people.

In conclusion: the changes in pro-oxidant markers and in antioxidant enzymes in saliva justify that this biological fluid can be suitable for the evaluation of oxidative stress associated to pathologies.

Key words: aging, saliva, oxidative stress, diabetes, redox status markers.

الملخص

الغرض من هذا العمل هو تقييم ما إذا كان يمكن استخدام اللعاب للكشف عن مستوى الإجهاد التأكسدي في الجسم. يتم قياس العلامات التالية لحالة الأكسدة اللعابية: Malondialdehyde، peroxydite، بروتينات الكربونيل، Glutathion المختزل، superoxyde dismutase الفائت.

تظهر نتائجنا زيادة في مستويات اللعاب من MDA، بروتينات الكربونيل، peroxydite في مرضى السكر وكبار السن مقارنة بمستويات اللعاب من GSH لا تختلف بين المجموعات المدروسة بالإضافة إلى ذلك، تنخفض مستويات superoxyde dismutases الفائت في مرضى السكر وكبار السن.

في الختام: التغييرات في إنزيمات مضادات الأكسدة في اللعاب تبرر أن هذا السائل البيولوجي قد يكون مناسبًا لتقييم الأمراض.

الكلمات المفتاحية: اللعاب، الإجهاد التأكسدي، السكري، علامات حالة الأكسدة والاختزال.