

أَفَلَا يَنْظُرُونَ إِلَى الْآبِلِ
كَيْفَ خُلِقَتْ

سورة الغاشية



Remerciements

Avant tout, nous remercions le BON DIEU pour nous avoir aidé pour nous pouvoir parcourir tout ce chemin avec succès durant nos années d'études.

Nos premiers remerciements vont à notre directeur de mémoire Monsieur CHERRAK Sabri Ahmed nous lui exprimons nos plus vifs remerciements ainsi que nos profondes gratitude pour avoir orienté, dirigé ce travail et également pour tous ses conseils dans l'élaboration et la conception de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent également à Melle HADDAM Nahida de nous de nous'avoir honoré en présidant le jury de notre soutenance Nous tenons également à présenter nos plus vifs remerciements à Mr CHAOUECHE Tariq qu'il nous a faite en acceptant d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier profondément le doctorant Mr Hamza, pour sa disponibilité et son aide tout au long la partie expérimentale.

Enfin à toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

A tous merci beaucoup.

Dédicace

À mes chers parents, pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs encouragements sans relâche. Votre dévouement et vos sacrifices ont été les piliers qui m'ont permis d'atteindre cette étape importante de ma vie. Je vous suis profondément reconnaissante.

À mon frère Zakaria et ma sœur Asma, pour leur présence constante et leurs encouragements chaleureux. Votre soutien inébranlable a été une source d'inspiration pour moi tout au long de ce parcours.

À mes chers de la famille Belkhelladi, qui ont été une source de motivation et de bonheur pendant cette période exigeante. Votre joie de vivre et votre soutien inconditionnel m'ont aidé à garder le cap et à persévérer.

À mes amis proches et mon binôme Fatima pour leur amitié sincère, leurs encouragements constants et leurs précieux conseils. Votre présence dans ma vie a rendu ce parcours académique beaucoup plus enrichissant et agréable.

Imene Belkhelladi

Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères mots que je dédie ce modeste travail de fin d'études à mes chers parents ; qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et mon ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Je tiens à remercier mon cher frère Bilal, qui n'a jamais cessé de me soutenir, encourager tout au long de mes études. Que Dieu le protège et leur offre la chance et le bonheur.

À la lumière de mes yeux : ma chère sœur Meriem, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi. Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé.

À mon bonheur dans la vie, Ifyes et Sara, aucun langage ne saurait exprimer mon amour pour vous. Que Dieu le tout Puissant vous garde et vous procure santé et réussite.

Sans oublier mon binôme Imene pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Fatima Abdelmoumene

Liste des Abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ALAT	Alanine aminotransferase
ASP	Aspartate
ASAT	Aspartate aminotransferase
CAT	Catalase
DBO	Demande biochimique en oxygène
DNP	2,4 dinitrophénylhydrazine
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
GR	Globule Rouge.
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Glutathion oxydé
GT	Galactosyltransferase
Lf	Lactoferrine
MDA	Malondialdéhyde
Na₂HPO₄	Sodium phosphate
NADH	Nicotinamide-adeninodinucléotide-phosphate réduit
NaH₂PO₄	Dihydrogénophosphate de sodium
PBS	(Phosphate Buffer Solution) Tampon phosphate
PC	Protéines carbonylées
PT	Protéines totales
SOD	Superoxyde dismutase
TBA	L'acide thiobarbiturique
TBS	Tris-buffered saline.
TCA	Trichloroacétique
TGO	Transaminaseglutamate oxaloacetate
TGP	Glutamate pyruvate transaminases
TNB	Acide 5-thio-nitrobensoïque
α-Lac	α -Lactalbumine

Liste des figures

Figure 01 : Le dromadaire.

Figure 02 : Graphique circulaire illustrant le pourcentage de la quantité totale de lait produit par diverses espèces à l'échelle mondiale.

Figure 03 : La structure tridimensionnelle de Lactoferrine.

Figure 04 : Structure de l' α -lactalbumine.

Figure 05 : Schéma expliquant l'oxydation des protéines.

Figure 06 : Structure tridimensionnelle de la catalase.

Figure 07 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.

Figure 08 : Formule développée du glutathion.

Figure 09 : Taux d'hémolyse d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en l'absence et en présence de la lactoferrine (200 μ M) à 37°C.

Figure 10 : Taux d'hémolyse d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en l'absence et en présence de l' α -lactalbumine (200 μ M) à 37°C.

Figure 11: Teneurs en activité de la catalase d'une solution de globules rouges à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en l'absence et en présence des protéines (200 μ M) à 37°C.

Figure 12 : Teneurs en GSH d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en absence et présence des protéines (200 μ M) à 37°C.

Figure 13: Teneurs en protéines totales (PT) d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en absence et présence des protéines (200 μ M) à 37°C.

Figure 14 : Teneurs en protéines carbonylées (PC) d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en absence et présence des protéines (200 μ M) à 37°C.

Figure 15: Teneurs en malondialdéhyde (MDA) d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en absence et présence des protéines (200 μ M) à 37°C.

Figure 16: Taux d'hémolyse d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en l'absence et en présence de la lactoferrine (200 μ M) à 37°C.

Figure 17: Taux d'hémolyse d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en l'absence et en présence de l' α -lactalbumine (200 μ M) à 37°C.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les propriétés physico-chimiques des laits des quatre espèces animales.

Tableau 02 : Origine des espèces réactives de l'oxygène.

Tableau 03: Etape de dosage de protéine totale selon le kit spinreact.

ملخص

حليب الإبل غني بالعناصر الغذائية و له خصائص علاجية بفضل البروتينات التي تلعب دورا مهما في التنقية الذاتية للحليب و في الحماية من الإجهاد التأكسدي الناتج للعديد من الأمراض. يتم التمييز بين ألفا-لاكتالبومين و اللاكتوفيرين.

الهدف من هذا العمل هو تقييم التأثير الوقائي لبروتينات مصلى حليب الإبل ضد انحلال خلايا الدم الحمراء الناجم عن المعادن (الزنك والنحاس) و تقييم بعض المعايير البيوكيميائية بالإضافة إلى معايير الإجهاد التأكسدي (مستويات نشاط MDA و GSH و CAT).

أظهرت نتائجنا أن إضافة المعادن يمكن أن تسبب انحلال الدم يصل إلى (34%) في كريات الدم الحمراء المعالجة ب (ZnSO₄) بالإضافة إلى ظهور حالة إجهاد تأكسدي يتضح من زيادة تركيز (MDA) و انخفاض تركيز (GSH) في كريات الدموية الحمراء .

أظهرت بروتينات مصلى اللبن مثلا للاكتوفيرين و ألفا-لاكتالبومين تأثيرًا مهمًا مضادًا لانحلال الدم و هذا يشير إلى قدرتها على منع تحلل خلايا الدم الحمراء وحماية سلامة الغشاء في سياق حالات مرضية معينة.

الكلمات المفتاحية: حليب الإبل، اللاكتوفيرين، ألفا لاکتالبومين، الإجهاد التأكسدي، التأثير الوقائي.

Abstract

Camel milk is rich in nutrients and has therapeutic properties thanks to proteins that play an important role in the self-purification of milk and in protection against oxidative stress involved in many diseases. A distinction is made between α -lactalbumin and lactoferrin (LF).

The purpose of this work is to evaluate the protective effect of camel milk serum proteins against metal-induced red blood cell hemolysis (RBCs) (zinc and copper) and the evaluation of certain biochemical parameters as well as parameters of oxidative stress (MDA levels, GSH and CAT activity).

Our results showed that administration of metals can cause up to (34%) hemolysis in RGs treated with (ZnSO₄), as well as the appearance of an oxidative stress state demonstrated by an increase in MDA and a decrease in the concentration of GSH at the GRs. Camel whey proteins, such as lactoferrin and α -lactalbumin, demonstrated a significant antihemolytic effect, This suggests their ability to prevent red blood cell lysis and protect membrane integrity in the context of certain pathological conditions.

Key words: Camel milk, Lactoferrin, α -lactalbumin, Oxidative stress, Protective effect.

Résumé

Le lait de chamelle est riche en nutriments et possède des propriétés thérapeutiques grâce aux protéines qui jouent un rôle important dans l'auto-épuration du lait et dans la protection contre le stress oxydatif impliqué dans de nombreuses maladies. On distingue principalement l' α -lactalbumine et la lactoferrine (LF).

Le présent travail a pour l'objectif d'évaluer l'effet protecteur des protéines sérique de lait de la chamelle vis-à-vis de l'hémolyse des globules rouges (GRs) induit par des métaux (Le zinc et le Cuivre) et l'évaluation de certains paramètres biochimique ainsi que les paramètres du stress oxydatif (Taux de MDA, GSH et l'activité de CAT).

Nos résultats ont montré que l'administration des métaux peut provoquer un taux d'hémolyse qui va jusqu'à (34%) chez les GRs traité par le ($ZnSO_4$), ainsi que l'apparition d'un état de stress oxydatif démontré par une augmentation du MDA et une diminution dans la concentration du GSH au niveau des GRs. Les protéines du lactosérum camelin, telles que la lactoferrine et l' α -lactalbumine, ont démontré un effet antihémolytique significatif, ce qui suggère leur capacité à prévenir la lyse des globules rouges et à protéger l'intégrité membranaire dans le contexte de certaines conditions pathologiques.

Mots clés : Lait de chamelle, Lactoferrine, α -lactalbumine, Stress oxydatif, Effet protecteur.

Table de matières

Remerciements	
Dédicaces	
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Introduction	01
Partie bibliographique	
Chapitre 01. Aperçu sur le lait camelin	
1.1. Le dromadaire	03
1.2. Le lait camelin et la production laitière	03
1.2.1. Caractéristiques du lait de la chamelle	05
1.2.1.1. Caractéristiques organoleptiques	05
1.2.1.2. Caractéristiques physico-chimiques	06
1.3. Lactosérum	06
1.3.1. Définition	06
1.3.2. Composition biochimique du lactosérum camelin	07
1.3.2.1. les protéines	07
1.3.2.2. le lactose	12
1.3.2.3. les minéraux	12
1.3.3. La valorisation	13
Chapitre 02. Le stress oxydant	
2.1. Définition	15
2.2. Origine du stress oxydatif	15
2.2.1. Espèces réactives de l'oxygène	15
2.2.2. Radicaux libres nitrogènes	17
2.2.3. Importance physiologique des espèces réactives de l'oxygène	18
2.3. Principale cible biologique des espèces Réactifs oxygénés	18
2.3.1. L'acide désoxyribonucléique	19
2.3.2. Les protéines	19
2.3.3. Les lipides	20
2.4. Systèmes de défense antioxydant	21
2.4.1. Systèmes de défense enzymatique	21
2.4.2. Systèmes de défense non enzymatique	23
Partie expérimentale	
Chapitre 03. Matériels et méthodes	
3.1. Préparation des échantillons de globules rouges humains	26

3.2. L'hémolyse	26
3.3. Dosages des paramètres du stress oxydant	27
3.3.1. Dosage de la Catalase	27
3.3.2. Dosage du Glutathion réduit GSH	27
3.3.3. Dosage des protéines totales (PT)	28
3.3.4. Dosage des protéines carbonylées(PC)	29
3.3.5. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)	30
3.3.6. Dosage des transaminases ASAT /ALAT	30
3.3.6.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (GTO-ASAT)	30
3.3.6.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (GPT-ALAT)	31
3.4. Analyses statistiques	32
Chapitre 04. Résultats et discussion	
4.1. Résultats et interprétations	33
4.1.1. Etude in vitro sur les globules rouges	33
4.1.1.1. Test d'hémolyse	33
4.1.2. Les paramètre du stress oxydatif	35
4.1.2.1. L'activité de la catalase (CAT)	35
4.1.2.2. Teneurs en glutathion réduit (GSH)	36
4.1.2.3. Teneurs en protéines totales (PT)	37
4.1.2.4. Teneurs en protéines carbonylées (PC)	38
4.1.2.5. Teneurs en malondialdéhyde (MDA)	39
4.1.2.6. Teneurs en l'aspartate aminotransférase (GTO-ASAT)	40
4.1.2.7. Teneurs en l'alanine aminotransférase (GPT-ALAT)	41
4.2. Discussion	42
4.2.1. Etude in vitro sur les globules rouges	42
4.2.1.1. Test d'hémolyse	42
4.2.2. Les paramètre de stress oxydatif	43
4.2.2.1. L'activité de la catalase (CAT)	43
4.2.2.2. Teneurs en glutathion réduit (GSH)	44
4.2.2.3. Teneurs en protéines totales (PT)	45
4.2.2.4. Teneurs en protéines carbonylées (PC)	46
4.2.2.5. Teneurs en malondialdéhyde (MDA)	47
4.2.2.6. Teneurs en l'aspartate aminotransférase (GTO-ASAT)	48
4.2.2.7. Teneurs en l'alanine aminotransférase (GPT-ALAT)	49
Conclusion	51
Références bibliographiques	53
Annexes	63

Introduction

Introduction

Le dromadaire (*Camellus dromedarius*) est considéré comme très productif et est utilisé depuis des siècles comme animal de travail polyvalent par les humains (c'est-à-dire les nomades) dans les régions chaudes et sèches. Transport, production de lait, de viande, de laine, de cheveux et de peau, achats et tourisme. Les chameaux sont répandus dans les régions arides de l'Asie de l'Est à l'Afrique du Nord et abritent environ 30 millions d'animaux dans le monde. En raison du changement climatique mondial, caractérisé par une augmentation continue de la désertification, le changement climatique, les températures élevées et la sécheresse font qu'il est important de considérer les chameaux comme l'un des animaux les plus adaptables et les plus durables pouvant être utilisés dans des conditions environnementales difficiles (Gagaoua et al, 2022).

Le lait de chameau contient toute la macro et micronutriments nécessaires à la santé humaine. Le lait camelin et ses produits peuvent être l'un des moyens économiques d'améliorer la vie sociale des propriétaires de chameaux. Le lait de chamelle peut être considéré comme un bon aliment à haute valeur nutritive et thérapeutique. Il convient de mentionner que le lait de chamelle est un aliment de base des tribus nomades du désert (Patel et al, 2022).

Le lait de chamelle possède de hauts niveaux de lactoferrine, une glycoprotéine multifonctionnelle liant le fer, qui joue un rôle important en tant qu'anti-inflammatoires, antibactériennes, antivirales, modulateur des espèces réactives de l'oxygène (ERO), immunité antitumorale et traitement anti-apoptotiques (Li et al, 2021).

L' α -lactalbumine est une métalloprotéine qui peut lier plusieurs cations. Le (Ca^{2+}) en particulier joue un rôle important dans sa stabilité et le maintien de la structure native (Brew & Grobler, 1992). La fonction biologique de l' α -lactalbumine est sa participation à la synthèse du lactose, qui agit alors comme un composant régulateur de l'enzyme galactosyltransférase.

Ces différences dans les protéines du lait de chamelle peuvent présenter des activités biologiques variables au cours de l'hydrolyse, comparativement aux protéines du lait bovin.

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les molécules oxydantes et antioxydantes est rompu, entraînant la formation de radicaux libres plus que le système de défense antioxydant

peut éliminer, et ces radicaux libres ont un effet préjudiciable sur les cellules. Il est connu que le stress oxydatif est impliqué dans l'étiologie des nombreuses maladies à la suite de dommages cellulaires, expression anormale des gènes, perturbation de l'activité des récepteurs, mort cellulaire ou prolifération cellulaire (Kiremitli *et al*, 2021).

Notre travail vise à l'évaluation de l'effet antioxydant des protéines du lactosérum sur les globules rouges hémolysés en présence de métaux, afin d'examiner l'action protectrice de ces protéines : lactoferrine et α -lactalbumine. Notre travail est divisé en quatre chapitres :

- Le premier chapitre a porté sur l'étude de l'aperçu sur le lait camelin.
- Le second chapitre touche au stress oxydant et la détermination de ses paramètres biochimiques.
- Le troisième chapitre a porté sur la partie expérimentale (matériels et méthodes) ce qui explique la préparation des échantillons de globules rouges humains, l'hémolyse et les dosages du paramètre de stress oxydant.
- Dans le quatrième et dernier chapitre nous les différents résultats obtenus lors de notre étude pratique sont cités et discutés.

Chapitre 01 :

Aperçu sur le lait camelin

1.1. Le dromadaire

Les chameaux dromadaires appartiennent à la famille des camélidés et sont divisés en deux genres : les lamas et les camelus. Il existe deux types de ces derniers :

Camelus bactrialus (chameau de Bactriane).

Camelus dromedarius (chameau dromadaire).

Le dromadaire est l'animal le mieux adapté aux régions arides et semi-arides. C'est une source importante de lait et de viande, en plus de fournir une aide précieuse aux humains dans l'agriculture et le transport (Mosbah et *al.*, 2017).



Figure 01 : Le dromadaire

1.2. Le lait camelin et la production laitière

Le lait de chamelle soi-disant or blanc du désert est plus semblable au lait maternel que tout autre lait et diffère des autres ruminants lait, car il contient peu de cholestérol, faible en sucre, riche en minéraux (sodium, potassium, fer, cuivre, zinc et magnésium), élevé vitamine C, protéines protectrices comme la lactoferrine, la lactoperoxydase, Immunoglobulines, lysozyme.

Lait de chamelle est reconnu depuis longtemps comme un traitement potentiel pour une série de maladies comme l'hydropisie, la jaunisse, l'hypertension, l'asthme et leishmaniose (kala-azar) (Kula, 2016).

- **La production laitière**

Une enquête menée en Somalie a révélé que le lait de chamelle est consommé frais ou sous forme fermentée et dans l'alimentation de la communauté pastorale, l'une des sources majeures de Vit-C est le lait de chamelle et ils ont ajouté que dans 12-18 mois de lactation. La production quotidienne de lait de chameau va de 3 kg à 10 kg. Le rendement en lait le plus élevé a été constaté pendant les troisième et quatrième mois de lactation, et la production de lait de chamelle Bactrien est inférieure à celle des chameaux. Dans une étude, la durée de la lactation, le rendement laitier total et le rendement en lait de chamelle de 305 jours ont été déclarés. 335,8 jours (de 193 à 467 jours), 1041,51 kg (de 335 à 2110 kg) et 926,36 kg (de 357 à 1840 kg), (Koc & Atasever, 2016).

Respectivement Hermas, (1998), El-Hatmi et *al.*, (2004) ont étudié la quantité et la qualité du lait de chamelles multipares (*Camelus dromedarius*) broutant sur des pâturages secs dans la région de Médenine. Après avoir donné aux chamelles 4 kg de concentré, leurs deux tétines produisaient plus de lait (3105,4 1027,8 ml/jour) que 1 kg concentré (1854 386,9 ml/jour) (Koc & Atasever, 2016).

Le lait de chamelle soit depuis longtemps lié à l'identité culturelle des Bédouins, petites et grandes exploitations pour la production intensive de lait de chamelle dans le monde seulement ces dernières années. L'établissement de ces systèmes a été synchronisé avec l'intérêt accru des consommateurs pour les matières premières non traitées consommation de lait non ovin.

Alors que le lait de vache représente 82 % de la quantité totale de lait produit dans le monde, les espèces laitières non ovines ont fourni 133 millions de tonnes en 2016. Le dromadaire est considéré comme l'un des animaux laitiers les plus importants contribuant à environ 0,3 % du lait produit dans le monde (Figure 2) (Rahmeh et *al.*, 2019).

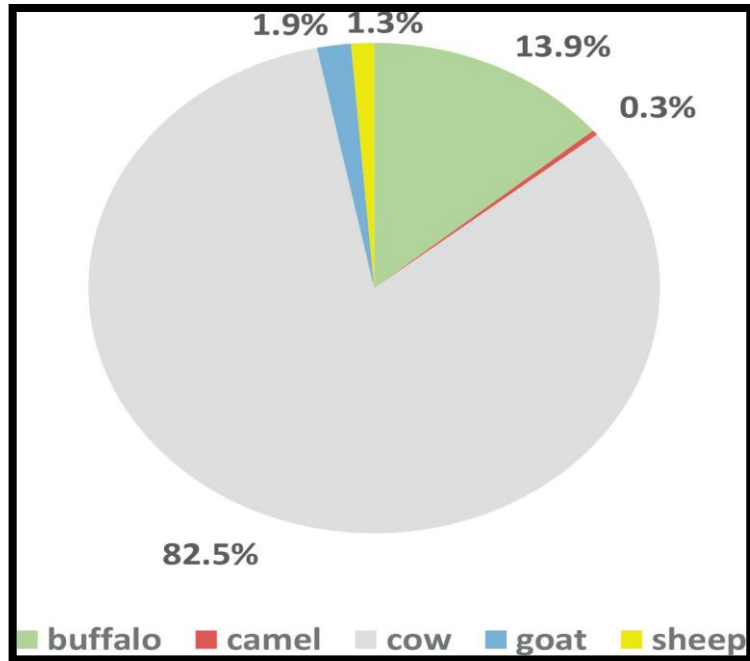


Figure 02 : Graphique circulaire illustrant le pourcentage de la quantité totale de lait produit par diverses espèces à l'échelle mondiale.

La population cameline mondiale représente un potentiel laitier non négligeable. L'Algérie se classe au 13eme rang mondial avec 345 500 têtes et une production annuelle de 12 500 tonnes. La production journalière est estimée à environ 10 litres.

1.2.1. Caractéristiques du lait de la chamelle

1.2.1.1. Caractéristiques organoleptiques

Le lait de chamelle est de couleur blanc foncé, a un goût légèrement salé et est plus visqueux que le lait jaunâtre. Ces propriétés, en particulier le goût du lait de chamelle, peuvent varier en fonction de l'alimentation animale et de la disponibilité de l'eau. L'ingestion de fourrages comme la luzerne donne un goût sucré, et certains halophytes le rendent salé (Sboui et *al.*, 2009).

1.2.1.2. Caractéristiques physico-chimiques

Le lait de chamelle présente des caractéristiques physico-chimiques qui le différencient des autres laits tels que le lait de vache ou de chèvre ou de brebis. Voici quelques-unes des caractéristiques les plus notables (tableau 01).

Tableau 01 : Les propriétés physico-chimiques des laits des quatre espèces animales. (Titaouine et al., 2016)

	pH	Acidité (D°)	Densité	Matière grasse (%)	Protéines (%)	Lactose (%)
Chamelle	6.8	13.35	1032	3.1	3.24	4.37
Brebis	6.91	17.1	1039	9.1	5.64	3.27
Chèvre	6.87	16.5	1030.4	2.5	4.32	3.05
Vache	6.74	16.8	1033.6	3	3.33	4.54

Ces caractéristiques physico-chimiques peuvent affecter la qualité et les propriétés des produits laitiers dérivés du lait de chamelle, tels que le yaourt, le fromage et le beurre. Les éleveurs et les transformateurs de lait de chamelle doivent donc prendre en compte ces caractéristiques lorsqu'ils travaillent avec ce type de lait.

1.3. Lactosérum**1.3.1. Définition**

Le lactosérum est un sous-produit du fromage ou de la caséine dans l'industrie laitière et contient généralement des niveaux élevés de lactose, de faibles niveaux de composés azotés, de protéines, de sel, d'acide lactique et de petites quantités de vitamines et de minéraux. Il est obtenu par coagulation à l'acide, à la chaleur ou à la présure. Le lactosérum est un liquide jaune-vert opaque une teneur totale en solides de 6 à 6,5 % p/v et une demande biochimique en oxygène (DBO) d'au moins 30 000 (Gupta et al., 2019).

1.3.2. Composition biochimique du lactosérum

Le lactosérum de chameau est une source de protéines, de lactose et de minéraux. Sa composition biochimique varie en fonction de plusieurs facteurs, tels que l'âge de l'animal, la race, la saison, l'alimentation et les conditions de traite.

En général, le lactosérum de chameau contient environ 3,5% de protéines, 5% de lactose et 0,8% de minéraux. Les protéines du lactosérum de chameau sont principalement constituées de caséines et de protéines de lactosérum (α -lactalbumine, immunoglobulines, lactoferrine, etc.).

Les matières grasses sont principalement composées de triglycérides, d'acides gras saturés et insaturés, et de phospholipides.

Les minéraux présents dans le lactosérum de chameau comprennent principalement le calcium, le sodium, le potassium, le magnésium et le phosphore.

De plus, le lactosérum camelin contient des peptides bioactifs qui ont des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes et antihypertensives.

1.3.2.1 Les protéines

La protéine de lactosérum contient de grandes quantités d'acides aminés à chaîne ramifiée tels que la leucine, l'isoleucine et la valine. Ils sont également riches en acides aminés soufrés, la cystéine et la méthionine, qui stimulent la fonction immunitaire par conversion intracellulaire en glutathion.

L' α -lactalbumine et la lactoferrine sont donc les principales protéines de lactosérum dans le lait de chamelle.

- *Lactoferrine*

La lactoferrine a été découverte pour la première fois dans le lait de vache et a été reconnue dans le lait humain en 1960. On le trouve à des concentrations très élevées dans le lait maternel. Chez l'homme, l'expression de la LF peut être observée dans une variété de sécrétions exocrines, y compris le liquide séminal, la salive, les larmes, les sécrétions utérines,

les sécrétions pancréatiques exocrines et le lait. Le colostrum, par exemple, peut contenir de 1 à 7 g/L de LF (Binâmes et *al.*, 2021).

➤ *Structure*

Avec une masse moléculaire d'environ 80 kDa, LF est une glycoprotéine monomérique bilobée. Le rétrécissement de l'écart entre les domaines de mérous était cohérent avec deux lobes qui ont subi une altération conflictuelle due à la fixation du fer, comme le montrent quelques examens de dispersion d'angle. Fait intéressant, la structure tridimensionnelle de l'homme révèle que les lobes semblent être bilobés. LF consiste en une chaîne polypeptidique qui structure deux cellules globulaires. Puisque la lactoferrine est principalement présente dans les produits digestifs, les glandes exocrines reproductrices et respiratoires, c'est toutefois que la lactoferrine joue un rôle dans la résistance non spécifique de l'hôte contre les pathogènes envahissants. Le site de liaison du fer est situé dans chaque lobe et les atomes de fer sont composés de quatre ligands d'acides aminés : une aspartate, une histidine et deux tyrosines (Binâmes et *al.*, 2021).

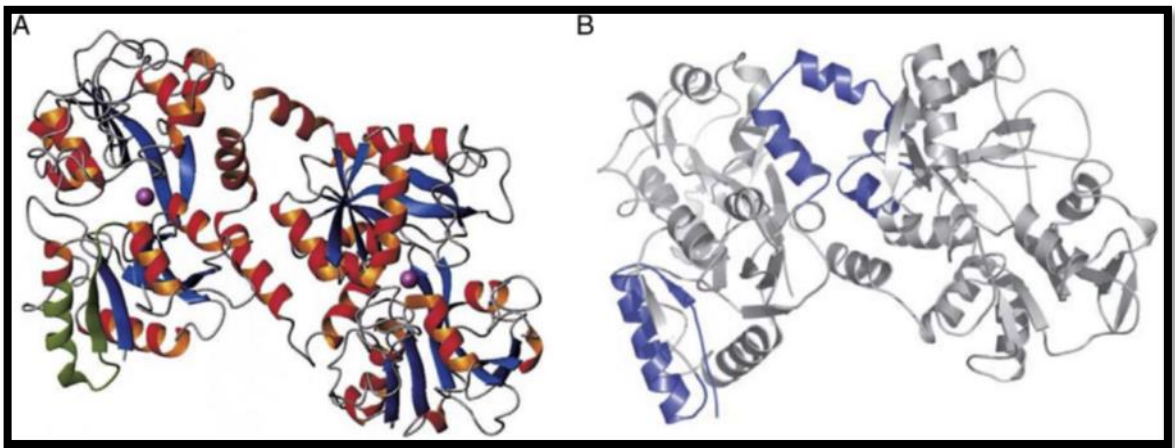


Figure 03 : La structure tridimensionnelle de Lactoferrine.

(A) Crystal structure de bLF. La structure secondaire est mise en évidence avec le bleu représentant β -feuilles et rouge et orange représentant l' α -helices. La région contenue dans LfcinB est représentée en vert (Gifford et *al.*, 2005). (B) Les zones de charges positives en lactoferrine (domaines en bleu); la partie inférieure gauche représente le terminus N avec

l'extérieur de la première hélice et la partie supérieure centrale représente la région autour de l'hélice de connexion.

➤ *Effets biologiques*

La Lf est une importante molécule de défense de l'hôte qui peut avoir d'énormes effets bénéfiques sur la santé humaine et animale. Peut jouer une variété de fonctions physiologiques, telles que la régulation de la croissance et de la différenciation cellulaire, l'homéostasie intestinale du fer, défense de l'hôte contre l'infection et l'inflammation microbiennes, régulation de la myélopoïèse, immunomodulateurs et antioxydants l'activité et la prévention du cancer.

Ces rôles fonctionnels de la Lf sont attribués à sa et/ou sa capacité à se lier et à interagir avec différents types cellulaires (Bokkhim& Bhandari, 2021).

- *L' α -lactalbumine*

L' α -Lactalbumine (α -LA) est une protéine du lactosérum qui catalyse la phase finale de la biosynthèse du lactose, transporte les vitamines et métabolites, possède une activité anti microbienne ainsi qu'une activité anti-virale et anti-tumorale. L' α -LA appartient à la super famille des lysozymes qui comprend également lysozymes c et calcium-liant lysozyme (Redington et *al.*, 2016).

La fonction la plus importante et la mieux étudiée de l' α -L est son rôle dans la stimulation de la synthèse du lactose en formant un complexe déficient en galactosyltransferase. Les délétions du galactosyltrans (GT) catalysent seules le transfert du galactose UDP-galactose vers les glycoprotéines et les glycolipides (en particulier l'éthyl-D-glucosamine N-AC). La GT peut également catalyser le transfert du galactose au glucose libre pour former du lactose. Cependant, en raison de son K_m très élevé pour le D-glucose, GTce n'est pas très actif en utilisant le D-glucose comme accepteur. La formation de complexes contenant de la lactalbumine entraîne une diminution de 1000 fois du K_m avec le glucose comme substrat et la synthèse du lactose (Bushmarina et *al.*, 2005).

➤ Structure

La plupart des α -lactalbumines (provenant des humains, des hamsters, des vaches, des chèvres, des chameaux et des lapins prêle) contiennent 123 acides aminés (Nitta & Sugai 1989).

Leur poids moléculaire est de 14,5 kDa. La version rat contient 17 résidus supplémentaires à l'extrémité C-terminale. La structure native de l' α -lactalbumine se compose de deux domaines :

Un domaine en hélice α et un domaine en feuille β (fig.04). Le domaine hélicoïdal est formé par les parties N-terminale et C-terminale (résidus 1-34 et 86-123) de la chaîne polypeptidique. Comprend 4 hélices α :

Hélices A (résidus 5-11), B (23-34), C (86-99), D (105-109) et trois hélices 3_{10} (12-16, 101-104, 115-119). Le domaine β est formé par la partie centrale de la chaîne polypeptidique (résidus 35–85) et contient un feuillet antiparallèle à trois brins, une petite hélice 3_{10} (76–82) et une grande boucle. Les domaines interagissent entre eux via des liaisons hydrogène entre le groupe hydroxyle phénolique de Tyr103 (domaine α) et l'oxygène de l'amide de Gln54 et de l'amide squelette d'Asn56 (domaine β). La structure protéique est également stabilisée par quatre ponts disulfure.

Deux dans le domaine β (Cys28-Cys11, Cys6-Cys120), un dans le domaine C (Cys61-Cys77), et un pont reliant l'hélice C du domaine β à l'hélice 3_{10} du domaine α , la boucle reliant les deux domaines (fig.04). Il consiste en une partie d'une chaîne beaucoup plus longue (résidus 79-88). Ca^{2+} est tordu par les groupes carboxyle de la chaîne latérale de trois aspartates (ASP 82, ASP 87 et ASP 88), deux atomes d'oxygène du squelette (Lys79 et Asp84) et deux molécules molaires de ligand oxygène de l'eau. Il est formé d'un pentagone structure bipyramidale molécule. Ce site n'appartient pas à la famille des sites de fixation du calcium de type "main EF" et possède un nouveau type de site appelé "coude" (Desmet & van Cauwellaert 1988).

La constante de dissociation du Ca^{2+} est de l'ordre de 10^{-7} - 10^{-8} M. Cette valeur dépend de la concentration des autres cations monovalents et divalents présents dans la solution, du pH et de la température (Bushmarina et al.,2005).

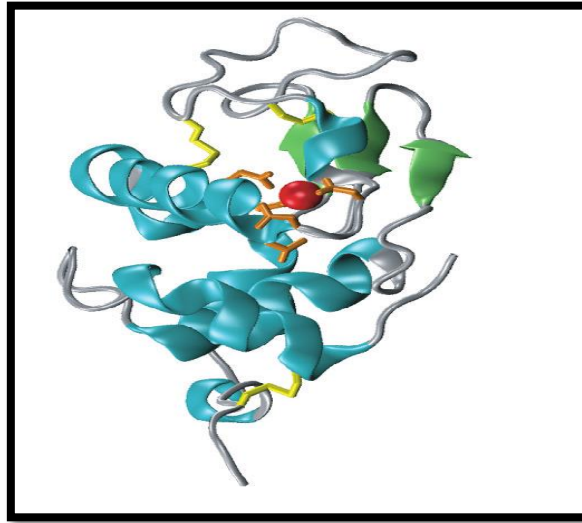


Figure 04 : Structure de l' α -lactalbumine.

Seul le squelette protéique est représenté. Les hélices α sont bleues, les brins β sont verts. Les quatre ponts disulfures sont jaunes, les ions calcium sont rouges et les chaînes latérales impliquées dans la liaison du calcium sont orange. (Bushmarina et *al.*,2005).

➤ *Effets biologiques*

L' α -lactalbumine est un exemple de protéine qui remplit différentes fonctions biologiques selon son état. Premièrement, il a été montré *in vitro* que la forme adoptée par l' α -lactalbumine à pH acide induit l'apoptose (mort cellulaire programmée) dans les cellules tumorales et immatures, laissant intactes les cellules normales (Hakansson et *al.*,1995). Pour remplir cette fonction, la protéine nécessite un acide gras, $C_{18}:1$, comme cofacteur. Cette forme d' α -LA est partiellement dénaturée et a une nature globulaire fusionnée. Une fonction supplémentaire de l' α -lactalbumine est liée à son effet protecteur contre les problèmes d'estomac causés par l'alcool et le stress. Le lait et le calcium ont été montré pour protéger la muqueuse gastro-intestinale de l'ulcération. Matsumoto et *al.* ont récemment découvert que seule l' α -lactalbumine est responsable de cet effet (Matsumoto et *al.*, 2001). Ainsi, l' α -lactalbumine a de multiples fonctions biologiques qui dépendent de la conformation qu'elle adopte et des cofacteurs auxquels elle se lie.

L' α -lactalbumine est responsable de cet effet (Matsumoto et *al.*, 2001). Ainsi, l' α -lactalbumine a de multiples fonctions biologiques qui dépendent de la conformation qu'elle adopte et des cofacteurs auxquels elle se lie.

1.3.2.2. Le lactose

Le lactose est le principal sucre dans le lait. La teneur en lactose du lait de chamelle varie entre 2,40 et 5,80%. La variation serait parce que les chameaux généralement pâture sur la grande variation des plantes arides et des buissons salés disponibles dans le désert. Dans la méta-analyse, l'étude de la corrélation du lactosérum avec la graisse est négative, tandis que la non corrélation entre la protéine totale et le lactose est observée (Singh et al., 2017).

Il reste pratiquement inchangé au cours d'une saison et dans des conditions d'hydratation ou de déshydratation, bien qu'il ait été démontré qu'il change légèrement pour le lait de chamelle de certaines races de chameaux dans différentes parties du monde. La teneur en lactosérum camelin (4,2 %) serait inférieure à celle du lait bovin (4,9 %), tandis que le lait de bufflonne contiendrait moins de lactose que le lait de chamelle et le lait de vache (Singh et al., 2017).

1.3.2.3. Les minéraux

La teneur totale en cendres minérales variait de 0,60 à 0,90% dans le lait de chamelle. Le lait de chamelle est une source fiable de chlorure en raison du fourrage consommé par les chameaux, tels que l'Atriplex et l'Acacia, qui contiennent habituellement des vitamines A, E et B1 était de 10,0 20,1 mg %, 32,7 12,8 mg% et 19,6 6,4 mg% dans le lait de chamelle, avec une concentration de 60,9 25,6 mg %, 171,0 114,4 mg% et 34,7 8,1 mg %, dans le lait de vache. Selon le rapport de l'USDA de 2009, 250 ml de lait de chamelle fournissent à un adulte environ 15,5 % de cobalamine (B12), 8,25 % de riboflavin (B2), 5,25 % de vitamine A et 10,5 % d'acide ascorbique (C), de thiamine (B1) et pyridoxine (B6) de l'apport quotidien recommandé (IDR)(Singhet *al.*, 2017), riche en sel et peut être l'une des causes de la salinité du lait. La concentration d'autres macrominéraux, à savoir Ca, Mg, P, Na et K, dans le lait de chamelle est presque comparable à celle du lait de vache. Les principales raisons des variations de la teneur minérale sont les différences de race, l'alimentation, les procédés analytiques et la prise d'eau. Le lait de chamelle est riche en Zn, Fe, Cu et Mn que le lait de vache.

Les valeurs des oligo-minéraux, à savoir. Fe, Zn et Cu, déclarés dans les laits de chameaux et de bovins, sont respectivement de 1,37, 2,19 et 0,44 mg/dl et 0,05, 0,35 et 0,02 mg/dl. Le rapport de Ca à P est de 1,5 pour le lait de chamelle par rapport à 1,29 et 2,1 pour le lait de vache et le lait humain, respectivement. Ce rapport est d'une importance capitale étant donné que les préparations à base de lait de vache utilisées pour l'alimentation des nourrissons contiennent un taux élevé de phosphate, ce qui peut entraîner une hyperphosphatémie et une faible teneur sérique en calcium.

1.3.3. La valorisation

Le lactosérum contient plus de la moitié des solides présents dans le lait entier d'origine, y compris les protéines de lactosérum (20 % des protéines totales) et la plupart du lactose, des vitamines et des minéraux hydrosolubles. Le lactosérum peut donc être considéré comme un sous-produit précieux avec de nombreuses utilisations dans les industries alimentaires et pharmaceutiques.

Du point de vue de la transformation, deux options différentes de gestion du lactosérum de chameau peuvent être envisagées.

La première est basée sur l'application de précieuses techniques de récupération de composés. Comme les protéines et le lactose. Méthodes de traitement actuellement appliquées pour le lactosérum camelin. Cette incitation aux sous-produits n'est surpassée que par la production de poudre de lactosérum de chameau. Une deuxième option consiste à utiliser le processus de fermentation pour gagner de la valeur des produits sont ajoutés tels que :

Acides organiques (par exemple lactique, succinique et propionique), protéines unicellulaires

Huiles, biopolymères (enzymes, polyhydroxyalcanoates, exopolysaccharides) et bactériocines.

Parfois, le lactosérum, obtenu par ultrafiltration, a été utilisé comme milieu de fermentation ;

Dans ce cas, les deux options de gestion s'appliquent.

La technologie d'ultrafiltration produisant du lactosérum riche en lactose (environ 80 % du lactose d'origine du lait) a permis de développer de nouvelles technologies (utilisant la nanofiltration ou l'osmose inverse) pour augmenter les concentrations de lactose qui peuvent être appliquées dans l'industrie sucrière ou lors de la fermentation pharmaceutique. En plus du

lactose, le lactosérum contient d'autres nutriments essentiels à la croissance microbienne, la possibilité de l'utiliser comme milieu de fermentation pour obtenir des produits à haute valeur ajoutée est une opportunité intéressante ne doit pas être ignorée. De plus, le perméat de lactosérum est une source attrayante d'oligosaccharides qui peuvent être utilisés dans l'alimentation humaine (Mollea et *al.*, 2013).

Parmi les différentes possibilités d'amélioration du lactosérum, la purification des protéines de lactosérum individuelles et l'application de la technologie de fermentation sur le perméat de lactosérum seront discutées.

Chapitre 02 :
Le stress oxydant

2.1. Définition

En 1990, Siete a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées (ERO), suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue d'ERO, soit à un déficit de la capacité de défense antioxydant ou une combinaison de ces deux facteurs (Fetoni et *al.*, 2019).

Ce déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité de l'organisme à s'en débarrasser cause notamment des dommages cellulaires, et est impliqué dans le développement de certaines maladies inflammatoires, neurodégénératives, métaboliques, cardiovasculaires ainsi que des cancers. Il accélère également le vieillissement (Kumar et *al.*, 2017).

2.2. Origine du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut avoir diverses origines, comme une surproduction endogène de pro oxydant dû à une inflammation, des carences en nutriments en antioxydants ou même en réponse à des facteurs exogènes tels que les attaques microbiennes, les métaux lourds, les rayonnements ionisants, la lumière ultraviolette et la fumée de cigarette (Magder, 2006).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) occupant un orbitale externe (Halliwell, 1989).

2.2.1. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène sont des dérivés de l'oxygène avec certains électrons dans un état d'énergie excité et sont donc (très) réactifs. Certains de ces dérivés ont des électrons non appariés (= radicaux libres). Les espèces réactives de l'oxygène incluent les radicaux libres comme l'anion superoxyde (O_2^\bullet), le radical hydroxyle (OH^\bullet) et des composés réactifs oxydants non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet (1O_2) (Cesar et *al.*, 2012).

Les ERO sont principalement formés lors de l'oxydation des lipides par le cycle de Krebs et lors de la chaîne de transport mitochondriale d'électrons qui a pour but de produire de l'énergie.

Tableau 03 : Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées (Migdal et Serres, 2011).

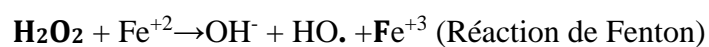
Réduction tétravalente de l'oxygène		$O_2 + 4 e^- + 4 H^+ \rightarrow 2 H_2O$
$O_2^{\bullet-}$	Anion superoxyde	$O_2 + 1 e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène	$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} (+ 2 H^+) \rightarrow H_2O_2 + O_2$
$\bullet OH$	Radical hydroxyle	$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \bullet OH + Fe^{3+} + OH^-$ $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$ $H_2O_2 + 2 GSH \rightarrow 2 H_2O + GSSG$
RO_2^{\bullet}	Radical peroxyde	$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow RO_2^{\bullet}$
RO_2H	Hydroperoxyde	$RO_2^{\bullet} + RH \rightarrow RO_2H + R^{\bullet}$
RO^{\bullet}	Radical alkoxyde	$RO_2H + Fe^{2+} \rightarrow RO^{\bullet} + Fe^{3+} + OH^-$

a. L'anion superoxyde ou le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) est une molécule chargée négativement, avec un électron supplémentaire. Cet électron supplémentaire est localisé sur un des atomes d'oxygène, ce qui lui donne une structure non-linéaire et une géométrie coudée. L'anion superoxyde est un radical libre instable, très réactif et oxydant (Alberts et *al.*, 2014).

b. Radical hydroxyle ($\bullet OH$)

Le radical hydroxyl est extrêmement réactif et instable, en raison de sa forte réactivité, le radical hydroxyl est impliqué dans de nombreux processus chimiques atmosphériques, tels que la formation d'ozone et la dégradation de polluants. Il est également produit lors de réactions biologiques dans le corps humain (Halliwell & Gutteridge, 2015). Nous en citerons deux à titre d'exemple, comme :



c. Oxygène singulet ($^1\text{O}_2$)

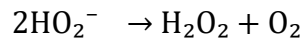
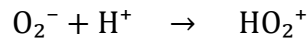
L'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) est une forme excitée et instable de la molécule d'oxygène, il peut réagir avec des molécules voisines pour produire des radicaux libres, qui peuvent causer des dommages aux cellules et aux tissus biologiques. Il est également utilisé en médecine pour détruire les cellules cancéreuses, grâce à son activité oxydante élevée (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Il est formé à partir de l'ion super oxyde selon la réaction suivante :



d. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant très puissant et relativement stable. Il peut pénétrer les membranes lipidiques et est encore capable d'oxyder certaines macromolécules biologiques en interagissant avec les métaux de transition. Il peut être produit dans les mécanismes illustrés par les réactions suivantes (Magali, 2010).



Le peroxyde d'hydrogène peut réagir dans les milieux intracellulaires avec des anions de chlore aboutissant ainsi à la formation d'acide hypochloreux.



Cet acide peut réagir avec les groupements amines de certains composés biologiques (protéines, lipides, ADN), entraînant leur dénaturation.

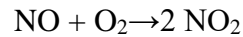
2.2.2. Radicaux libres nitrogènes

a. Oxyde nitrique ($\cdot\text{NO}$; monoxyde d'azote)

Le monoxyde d'azote est un radical libre ubiquitaire synthétisé à partir de l'arginine grâce à l'action d'enzymes appelées NO synthétases. Il diffuse rapidement à partir de son site de production, traverse la membrane cellulaire et remplit un rôle vasodilatateur. Il est un second messager de courte vie. Il est susceptible de réagir avec d'autres radicaux libres pour former des espèces oxydantes (Moncada & Higgs, 2006).

b. Dioxyde d'azote (NO₂.)

Le dioxyde d'azote (NO₂) est un gaz incolore, toxique et irritant, formé par la combustion de combustibles fossiles et par les réactions chimiques entre l'oxyde nitrique (NO) et l'oxygène dans l'air (Sisein, 2014).



Le NO₂• s'additionnerait aux doubles liaisons d'autres molécules, arracherait soit un H⁺ soit un électron aux molécules voisines. Ces réactions créent des radicaux libres. Comme le O₂•⁻, NO₂• peut exister assez longtemps dans les espaces intra membranaires aprotiques (Halliwell *et al.*, 2006).

c. Peroxynitrite (ONOO⁻)

Le peroxynitrite (ONOO⁻) est un composé chimique instable formé par la réaction entre l'oxyde nitrique (NO) et le radical superoxyde (O₂•⁻). Le peroxynitrite peut réagir avec des protéines, des lipides et des acides nucléiques, causant des dommages cellulaires et des modifications fonctionnelles. Les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les effets toxiques du peroxyde nitrique sont complexes et impliquent une variété de voies de signalisation intracellulaire et de régulation génique (Pacher *et al.*, 2007).

2.2.3. Importance physiologique des espèces réactives de l'oxygène

Les ERO agissent comme un second messenger, régulant plusieurs processus physiologiques cellulaires, moléculaires et tissulaires. Ils participent à la défense antibactérienne, le processus de réactions cytotoxiques aux agents pathogènes, destruction par autolyse cellules tumorales, signalisation cellulaire, régulation des gènes par un phénomène appelé contrôle redox des gènes, qui régulent le métabolisme cellulaire en interactions ligand-récepteur, développement embryonnaire, croissance, prolifération, différenciation cellulaire et survie (Migdal & Serres, 2011).

2.3. Principale cible biologique des espèces Réactifs oxygénés

Les ERO attaquent ou modifient de nombreuses molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides.

2.3.1. L'acide désoxyribonucléique

Les espèces réactives, et plus particulièrement le radical hydroxyle (HO[•]), peuvent endommager directement l'ADN ou interférer avec les mécanismes de réparation de l'ADN, ainsi qu'avec les produits dérivés et induire une perturbation élevée de l'homéostasie intracellulaire et intercalaires, jusqu'à la mutation de l'ADN, qui seront à l'origine d'une instabilité du génome dont la finalité est une prolifération cellulaire (Kasamba et *al.*, 2020).

2.3.2. Les protéines

Les dommages oxydatifs des protéines ciblent probablement les acides aminés soufrés (Cystéine, méthionine) et aromatiques (trypsine, histidine) à cause de leur sensibilité à ces attaques dues à l'abondance de groupes sulfhydryle (SH) dans leur structure.

Peut agir directement sur les peptides et les chaînes latérales et induire des métabolites primaires. Cela peut être indirectement par glycation et formation de groupes carbonyle, ou par lipo-Oxydation et formation de bases de Schiff et des adduits de Michael (métabolites secondaires) (Bensakhria, 2018).

En outre cela induisent des changements structurels majeurs en réticulation et fragmentation de la structure protéique à l'origine de la transformation de propriétés des protéines (protéines oxydées + résistantes à la chaleur) sont responsables de nombreux changements dans la fonction cellulaire.

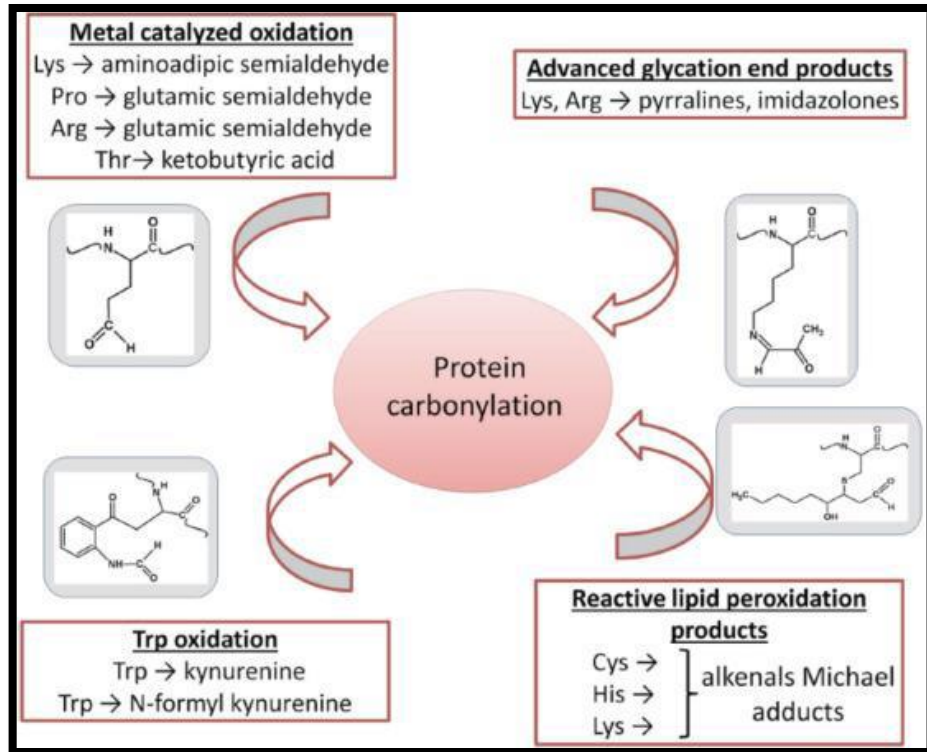


Figure 05 : Schéma expliquant l'oxydation des protéines (Migdal et *al.*, 2011)

2.3.3. Les lipides

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont des cibles d'attaque privilégiées pour les radicaux hydroxyle capables de séparer l'hydrogène des atomes de carbone situés entre les deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, qui s'oxyde en radicaux peroxydes (Favier, 2006 ; Defraigne, 2008).

La peroxydation lipidique peut créer des altérations de la membrane telles que la modification de sa fluidité, mais aussi l'inactivation de récepteurs ou d'enzymes.

Les conséquences des peroxydations lipidiques sont très nombreuses. Les hydroperoxydes instables en se décomposant vont donner de nouveaux radicaux libres provoquant des oxydations des biomolécules, mais aussi des aldéhydes réactifs (MDA, 4HNE) qui feront des adduits sur les groupements NH_2 des biomolécules (acides nucléiques, protéines, lipides). (Abdal Dayem et *al.*, 2017).

2.4. Systèmes de défense antioxydant

Un antioxydant est une molécule capable de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres molécules. Il neutralise les radicaux libres et réduit le stress oxydatif au sein de l'organisme.

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : via des systèmes enzymatiques, par l'inhibition d'enzymes oxydantes, par la chélation de métaux et des piègeurs de radicaux libres.

Certains antioxydants sont endogènes c'est-à-dire qu'ils sont produits par l'organisme lui-même, par exemple les superoxydes dismutases, les glutathions peroxydases ou les catalases.

Les antioxydants exogènes sont quant à eux apportés par l'alimentation. Ce sont de vitamines, d'oligo-éléments, de caroténoïdes, de polyphénols, etc. Parmi ces molécules exogènes, les vitamines C et E ainsi que le zinc ont des propriétés antioxydantes supérieures (Desmier, 2020).

2.4.1. Systèmes de défense enzymatique

Ce système est composé de plusieurs enzymes telles que la glutathion S-transférase (GST), la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la thioredoxine (TRx) et la glutathion peroxydase (GPx).

La superoxyde dismutase (SOD) est une famille d'enzymes qui catalysent la conversion du radical superoxyde (O_2^{\bullet}) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène (O_2). Les différents types de SOD, qui diffèrent par leur localisation cellulaire et leur cofacteur métallique, jouent un rôle important dans la défense antioxydant de l'organisme (Fukai & Ushio-Fukai, 2003).

Les principaux enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont la catalase cofacteur du fer et la glutathion peroxydase cofacteur du sélénium (GPx).

La catalase a été la première enzyme antioxydante découverte. C'est une enzyme que l'on retrouve chez presque tous les êtres vivants aérobies, chez l'homme principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales (Kirkman & Gaetani, 2007).

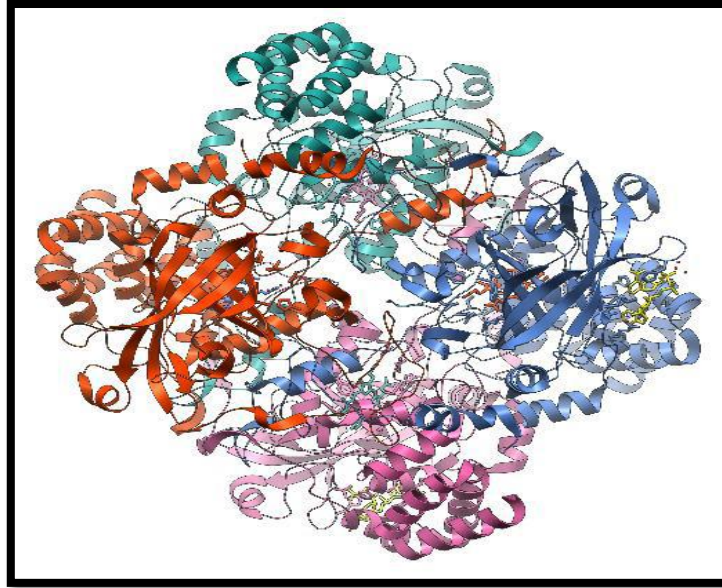
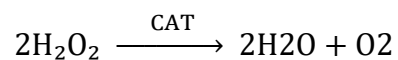
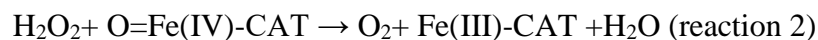
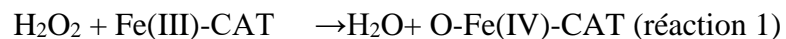


Figure 06 : Structure tridimensionnelle de la catalase (Colin, 2008).

Ce sont des enzymes formées de quatre chaînes peptidiques, chacune composée de plus de 500 acides aminés. Elles contiennent des atomes de Fer au sein de hèmes, qui constituent les sites actifs de la protéine (Sise& Jones, 2007).

Pour catalyser la dismutation, l'atome de fer effectue une coupure hétérolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène, produisant ainsi une molécule d'eau et le groupe O-Fe(IV) très oxydant (réaction 1). Ce dernier peut alors oxyder une autre molécule de peroxyde d'hydrogène pour donner du dioxygène et de l'eau (réaction 2).



La thioredoxine (TRx) est une protéine ubiquitaire hautement conservée qui joue un rôle important dans la régulation de l'homéostasie redox dans les cellules. La TRx est impliquée dans divers processus cellulaires, tels que la synthèse de l'ADN, la régulation de la

transcription, le métabolisme des rétinoïdes, et la défense antioxydant contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Arner, 2009).

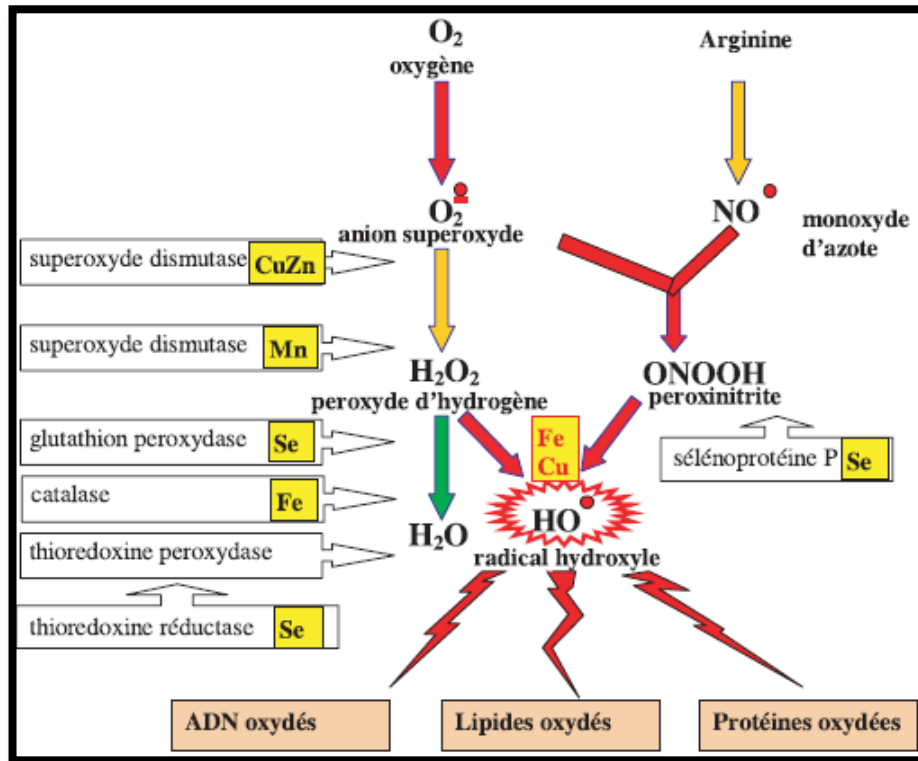


Figure07 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

2.4.2. Système de défenses non enzymatiques

Le système de défense non enzymatique de l'organisme, joue un rôle important dans la protection contre les radicaux libres et autres agents oxydants qui peuvent endommager les cellules et causer des maladies.

Le glutathion (GSH) est le thiol de faible masse moléculaire le plus abondant dans les cellules et l'un des principaux composés antioxydants dans les fluides corporels. Dans des conditions pro-oxydantes, deux molécules de GSH donnent chacune un électron et sont converties en disulfure de glutathion (GSSG) (Daniela et al., 2016).

Le GSH élimine efficacement les radicaux libres et autres ERO et RNS (tels que les radicaux hydroxyles, les radicaux peroxyde lipidiques, l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène) directement et indirectement par le biais de réactions enzymatiques. La structure chimique du GSH détermine sa fonction, et sa large distribution dans tous les organismes reflète son rôle biologique important (Johnson et *al.*, 2012).

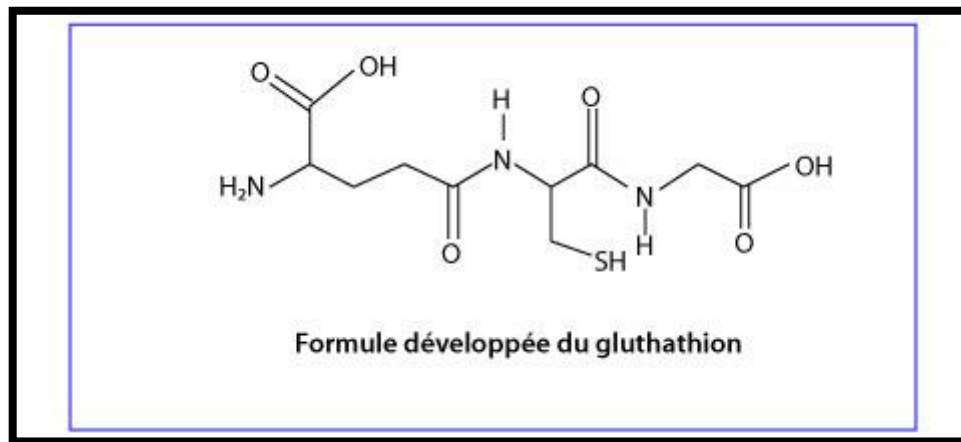


Figure 08 :Formule développée du glutathion (Johnson et *al.*, 2012).

Le site principal de la synthèse du GSH au niveau cellulaire est le cytosol, à partir duquel il est distribué aux autres compartiments cellulaires. Le GSH est synthétisé par l'action séquentielle de la glutamate-cystéine ligase et la glutathion synthétase.

Le GSH est aussi capable de chélater les ions cuivreux et ferreux, ce qui inhibe la réaction de Fenton. In vivo, GSH constitue ainsi la première ligne de défense contre la toxicité des métaux.

L'acide urique est un produit final du métabolisme des purines chez l'homme et les primates non-humains. Elle est synthétisée dans le foie et excrétée par les reins. Cependant, des niveaux normaux d'acide urique ont des effets bénéfiques sur la santé, car elle agit comme un antioxydant et protège contre les dommages causés par les radicaux libres. L'acide urique est également impliqué dans la régulation de la tension artérielle et de la fonction endothéliale (Feig & Johnson, 2008).

Les protéines de stockage des métaux de transition sont des protéines qui se lient aux ions métalliques de transition tels que le fer, le cuivre et le zinc. Elles jouent un rôle crucial dans la régulation de l'homéostasie des métaux, en contrôlant la concentration et la disponibilité de ces métaux dans les cellules

Ces protéines de stockage peuvent être classées en deux groupes : les ferritines, qui stockent le fer dans une forme non-toxique, et les métallothionéines, qui lient les métaux de transition tels que le cuivre et le zinc et les stockent pour une utilisation ultérieure (Hider & Kong, 2013).

*Chapitre 03 : Matériels et
Méthodes*

3.1. Préparation des échantillons de globules rouges humains

Des érythrocytes humains ont été isolés à partir de sang prélevé dans des tubes héparines provenant d'un seul donneur après ponction au niveau de la veine du pli du coude.

Le donneur est non-fumeur et ne présente aucune maladie apparente.

L'échantillon collecté est centrifugé à 3000 tr/min pendant 10min, après l'élimination du plasma les érythrocytes sont lavés une fois avec une solution fraîche de NaCl 0.9%, puis 3 fois avec une solution (PBS) contenant 160ml NaCl, 1.9mM Na₂HPO₄ et 8.1 mM NaH₂PO₄, pH=7,4.

Les érythrocytes ont été mis en suspension dans le tampon afin d'obtenir une solution à 4%. La solution subit une incubation pendant 20min à température ambiante.

3.2. L'hémolyse

Des microlitres des protéines (La lactoferrine et l'α-lactalbumine) seront ajoutés à 2ml de la solution d'érythrocytes 4%(v/v) d'une manière à obtenir des concentrations à 100/200μl, puis incubé à 37°C pendant 1h30min. L'échantillon est centrifugé à 4000xg pendant 10 minutes puis les surnageants seront récupérés. Une substance est d'autant plus anti-hémolytique que la DO enregistrée est faible.

Le pourcentage d'hémolyse est déterminé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Hémolyse} = \left(\frac{A \text{ échantillon}}{A \text{ total}} \right) \times 100$$

Avec :

A échantillon = l'absorbance de l'échantillon après 1h30min.

A total = l'absorbance d'hémoglobine présente dans les GRs.

- **Ajout de l'agent oxydant**

L'effet protecteur des protéines (Lactoferrine, α-lactalbumine) est vérifié par l'ajout de 100μl de ZnSO₄ et 100μl de CuSO₄(un seul métal dans chaque tube) aux 2ml des globules rouges à 4% puis incubé sous agitation pendant 1h à 37°C.

Ensuite, 1.5ml de solution d'érythrocytes seront encore lysées par l'addition d'eau distillée glacée, les débris cellulaires sont éliminés après une centrifugation à 4000tr/min pendant 10min.

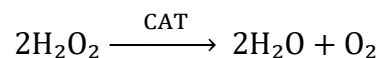
Finalement, les solutions érythrocytaires sont récupérées afin de doser les paramètres de statut oxydant/antioxydant.

3.3. Dosages des paramètres du stress oxydatif

3.3.1. Dosage de l'activité de la catalase (CAT)

- *Le principe*

L'activité enzymatique de la catalase (CAT) est déterminée par la méthode de (Claiborne, 1985), basé sur la disparition de le H₂O₂ en présence de la source enzymatique.



- *Mode opératoire 2*

450µl d'eau physiologique (0,9 NaCl), pH=7,4 ont été additionnés de 50µl de lysat et 500µl de H₂O₂ (30%). Ensuite, vortexer et ajouter 500µl de solution saline (0,9 NaCl), cela sera subi une incubation pendant 5min à température ambiante avant l'ajout de 50µl de TiSO₄. Les lectures de l'absorbance sont mesurées par spectrophotométrie à 420nm.

Par gamme étalon de H₂O₂, l'activité de la catalase est exprimée en U/mg d'hémoglobine.

3.3.2. Dosage d'activité du glutathion réduit (GSH)

- *Principe*

Le dosage de glutathion réduit (GSH) de solution érythrocytaire est réalisé par la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (Ellman, 1959).

La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5 dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le groupement thiols ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) de couleur jaune.

- *Mode opératoire*

Le milieu réactionnel contient la source enzymatique (GRs), le tampon tris (0,2M), pH=7,6 et l'eau distillée. Le réactif DTNB (3Mm) est ajouté. Le tous subirent une incubation pendant 30min à 37°C avant la lecture des absorbances au spectrophotomètre à 412nm.

Le thio-nitrobenzoïque présente un coefficient d'extinction égale à 13,6Mm/cm⁻¹.

3.3.3. Dosage de protéines totales (PT)

La méthode adoptée pour le dosage des protéines totales dans le lysat érythrocytaire est celle de Biuret en utilisant le kit (Spincreat BSIS 30-F).

Les protéines totales donnent une coloration violet /bleu en milieu alcalin, cela indique la présence de sels de cuivre. Ces derniers contiennent des iodures qui agissent comme un antioxydant. L'intensité de la couleur produite est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon analysé.

- *Mode opératoire*

Le dosage des protéines totales nécessite la préparation de réactif de travail. Ce dernier est composé de premier réactif est un tampon Tartrate de potassium de sodium (15mmol/L), iodure de potassium (5mmol/L), iodure de sodium (100mmol/L), Sulfate de cuivre (II) de 5mmol/L et Hydroxyde de sodium (1000mmol/L) dans lequel on dissout le deuxième représenté par un patron primaire d'albumine bovine 7g/dl.

✓ Le procédé de dosage est résumé dans le tableau qui suit :

Tableau 03 : étape de dosage de protéine totales selon le kit spinreact.

/	Blanc	Standard	Echantillon
Blanc	1ml	1ml	1ml
Standard	---	25µl	---
Echantillon	---	---	25µl

Les préparations sont mélangées et après subi une incubation de 5min à 37°C ou 10min à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 540nm.

- *Calcule*

$$\frac{Echantillon(A) - (A)Blanc}{(A)Etalon - (A)Blanc} \times 7 \text{ (Etalon conc.)} = g/Dl \text{ de protéines totales}$$

3.3.4. Les protéines carbonylées

- *Le principe*

La détermination des concentrations des protéines carbonylées (PC) se réalise selon la méthode de (Levine et *al.*,1990).

Le principe est basé sur la réaction entre la 2,4 dinitrophénylhydrazine (DNP) hydrazone, un complexe jaune avec un maximum d'absorption autour de 360 nm.

- *Mode opératoire*

Blanc : 50µl de solution d'érythrocytes avec 1ml HCl (2M).

Test : 50µl de solution d'érythrocytes avec 1ml NDPH.

Vortexer les mélanges et incubés à température ambiante pendant 1h avant l'ajout de TCA froid 20%. Après, on centrifuge à 4000tr/min pendant 10min. Puis, solubiliser dans 2ml de NaOH (2M). La lecture de l'absorbance est mesurée à 360nm dans la spectrophotométrie.

- *Calcule de la concentration*

Nous avons utilisé la formule suivante pour mesurer les concentrations des protéines carbonylées.

$$C = D.O / \epsilon . L$$

C : concentration en Nm/mg

DO : l'absorbance = 360nm

ε : coefficient d'absorption= 21,5 M⁻¹.cm⁻¹

L : Largeur = 1cm

3.3.5. Dosage de malondialdéhyde (MDA)

- *Le principe*

Le taux de malondialdéhyde au niveau de la solution érythrocytaire déterminer par (Draper & Hadley,1990) repose sur le traitement d'acide thiobarbiturique (TBA) à chaud réagit avec le malondialdéhyde (MDA) pour former un complexe de couleur rose /ou jaune.

- *Mode opératoire*

150µl de solution érythrocytaire sont ajoutées à un mélange de 150µl d'acide trichracétique (20%) et 150µl d'acide thiobarbiturique (TBA). Le mélange sera chauffé à 100°C dans le bain marie pendant 20min, après refroidissement.

L'absorbance est mesurée à 532nm. La quantité du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire =155 mM⁻¹.cm⁻¹

- *Calcule*

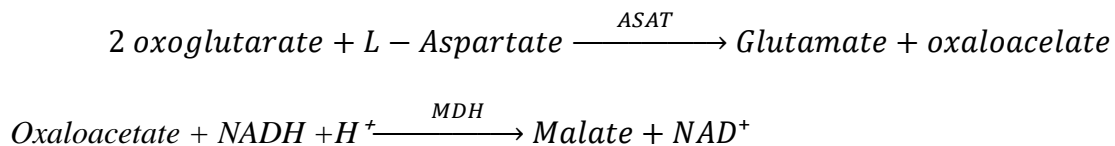
La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert : **C = D. O/ε. L**

3.3.6. Dosage des transaminases ASAT/ALAT

3.3.6.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (GTO /ASAT)

- *Le principe*

Est basé sur les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC), utilisant le phosphate de pyridoxal. Selon le schéma réactionnel suivant :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate aminotransférases dans l'échantillon (Bergmeyer et al., 1976 ; Bergmeyer et al., 1978).

- *Mode opératoire*

La manipulation nécessite deux réactifs, le premier est constitué de tampon tris pH 7.8 à (80 mmol/l) et d'une Solution tampon de L- aspartate (200 mmol/l). Le deuxième réactif est un mélange de nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH) à 0.18 mmol/l, de lactate déshydrogénase (LDH) à 800 U/l, de malate déshydrogénase (MDH) à 600 U/l et de l'oxoglutarate (12mmol/l). La solution de travail est préparée en mélangeant le réactif 2 à partir de 3 ml (référence 20042) ou 10 ml (Référence 20043) avec le contenant de flacon de réactif 1. Une fois la solution de travail préparée, on introduit 1ml de celle-ci dans un tube à essai, puis le pré incuber à la température choisie (25, 30 ou 37°). On rajoute par suite 50µl de lysat érythrocytaire, on mélange et on incube à nouveau pendant 1 minute.

La gradation de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes est mesurée par spectrophotomètre de 340nm.

- *Calcul*

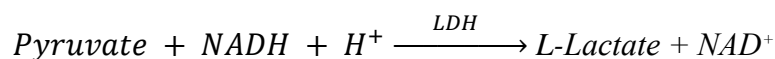
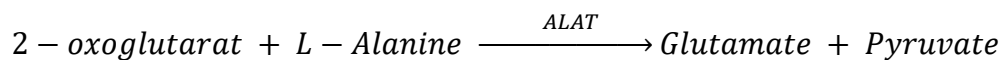
On détermine la teneur en lysat de l'ASAT à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Taux de ASAT (UI/l)} = \Delta\text{DO}/\text{min}$$

3.3.6.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (GPT-ALAT)

- *Principe*

Le même principe que celui utilisé pour le dosage de l'enzyme ASAT (GOT) est utilisé pour le dosage de l'enzyme alanine aminotransférase (ALAT-GPT). Cependant, le schéma réactionnel suivant :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon (Bergmeyer et *al.*, 1978 ; Bergmeyer & Horder, 1980).

- *Mode opératoire*

Comme pour l'ASAT, La méthode pour le dosage d'ALAT nécessite deux réactifs, le premier est constitué de tampon tris pH 7.8 à (100 mmol/l) et d'une solution tampon d'alanine (500 mmol/l). Le deuxième réactif est un mélange de nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH) à 0.18 mmol/l, de lactate déshydrogénase (LDH) à 1200 UI/l, et de l'oxoglutarate (15mmol/l).

Par conséquent, le même mode opératoire de dosage et de calcul suivie dans le dosage de l'ASAT, est adopté pour le dosage de l'ALAT.

3.4. Analyses statistiques

L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel. Les différences significatives sont utilisées pour comparer les teneurs des témoins et les teneurs des échantillons après traitement grâce au test de Student apparié.

***Chapitre 04 : Résultats et
Discussion***

4.1. Résultats et interprétations

4.1.1. Etude in vitro sur les globules rouges

4.1.1.1 Test d'hémolyse

Les figures (09 ; 10) présentent l'évaluation de l'effet hémolytique, dans un milieu contenant une suspension érythrocytaire en présence des protéines sériques telles que la lactoferrine et l' α -lactalbumine et des métaux (CuSO_4 ; ZnSO_4).

Les résultats obtenus, montrent que l'addition des protéines sériques et les métaux provoquent une diminution significative du pourcentage d'hémolyse dans la solution érythrocytaire.

D'après les résultats enregistrés et représentés dans la fig. (09), nous avons estimé un pourcentage d'hémolyse à (14%) dans le milieu contenant la lactoferrine CuSO_4 par rapport au GRs + CuSO_4 (23%). Par contre, nous avons remarqué un taux d'hémolyse significativement très faible (1,19%) dans la solution qui contient les GRs et la lactoferrine.

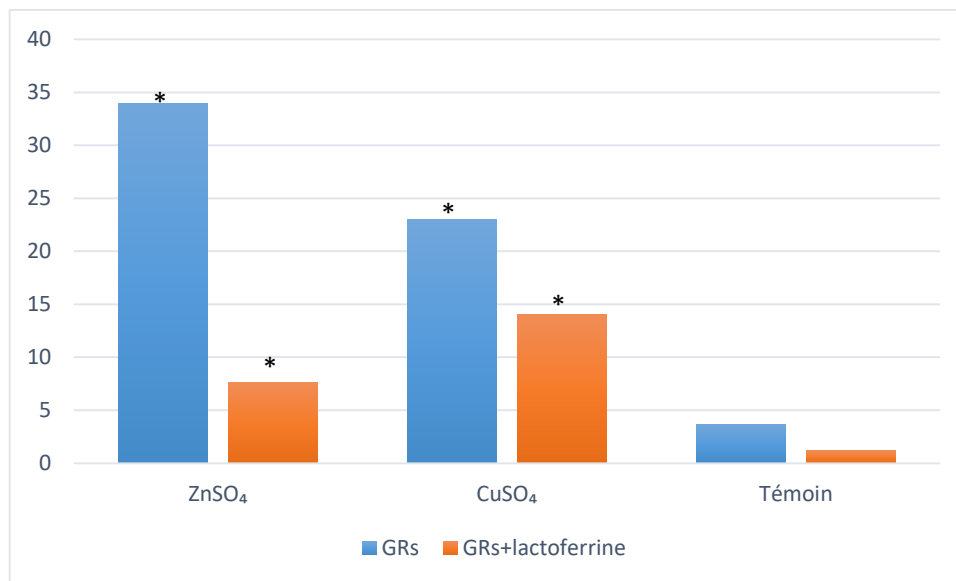


Figure 09 : Taux d'hémolyse d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μM) en l'absence et en présence de la lactoferrine (200 μM) à 37°C.

Les données obtenues et représentées dans la fig. (10) signalent que l'activité anti-hémolytique dans le milieu contenant les GRs en combinaison avec l' α -lactalbumine CuSO_4 est supérieure (2,95%) à celle de la solution qui contient l' α -lactalbumine ZnSO_4 (2,67%).

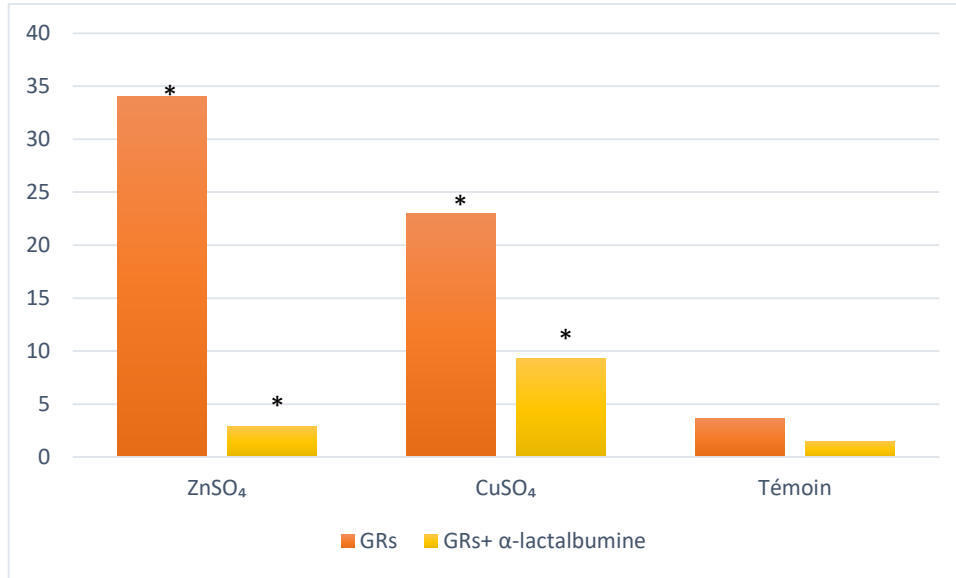


Figure 10 : Taux d'hémolyse d'une solution de GRs à 4% supplémentés en métaux (100 μ M) en l'absence et en présence de l' α -lactalbumine (200 μ M) à 37°C.

4.1.1. Les paramètres du stress oxydatif

4.1.2.1 .L'activité de la catalase (CAT)

L'évolution des taux moyens de la CAT sont exposés dans la figure (11).

Concernant l'activité enzymatique de la catalase (CAT) nos résultats signalent qu'il y a une diminution significative chez les GRs traité par la lactoferrine (CuSO_4) ($0.0524\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) par rapport au témoin ($0.156\text{M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$). La combinaison des GRs et de la lactoferrine ZnSO_4 et celle de GRs et l' α -lactalbumine CuSO_4 ($0.595\text{M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$) augmente également d'une façon significative le taux du CAT et mène à une valeur quadruplée de celle de témoin.

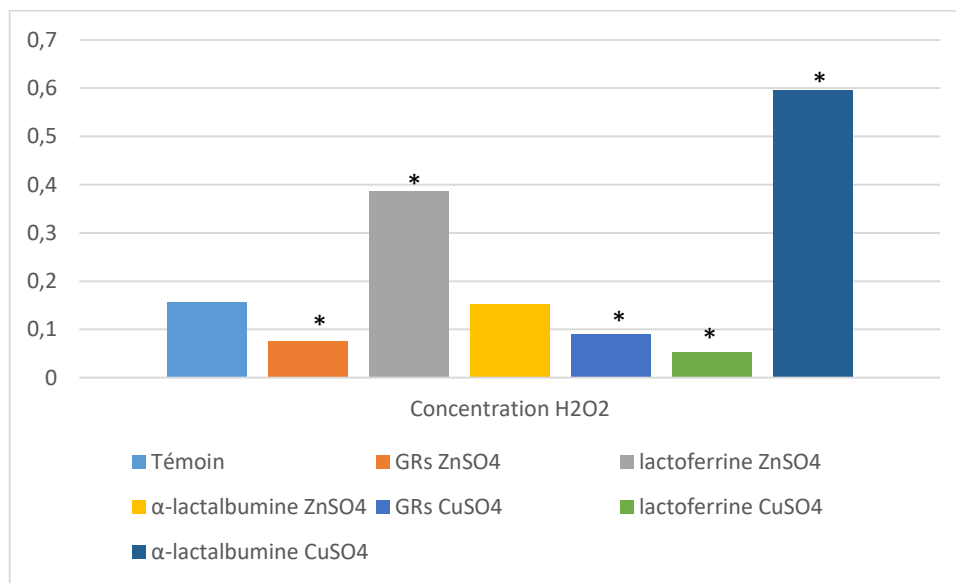


Figure 11 : Teneurs en activité de la catalase d'une solution de globules rouges à 4% supplémentées en métaux ($100\mu\text{M}$) en l'absence et en présence des protéines ($200\mu\text{M}$) à 37°C .

Chaque valeur représente la concentration.

4.1.2.2 Teneurs en glutathion réduit (GSH)

La figure (12) expose l'évolution de taux de GSH. Le traitement statistique des données obtenues signal qu'il y a une augmentation significative de la teneur en glutathion réduit chez l'échantillon de GRs avec la lactoferrine CuSO_4 ($0.0113\text{mM}/\text{cm}^{-1}$) et l' α -lactalbumine CuSO_4 ($0.006\text{ mM}/\text{cm}^{-1}$) quand ils sont tous comparés au témoin ($0.031\text{mM}/\text{cm}^{-1}$), alors que aucune différence significative n'est observée chez le test traité par la lactoferrine ZnSO_4 ($0.0209\text{mM}/\text{cm}^{-1}$).

Tandis que la moitié de la teneur de celle observé chez le témoin est remarquée chez l'échantillon de l' α -lactalbumine ZnSO_4 ($0.0174\text{mM}/\text{cm}^{-1}$).

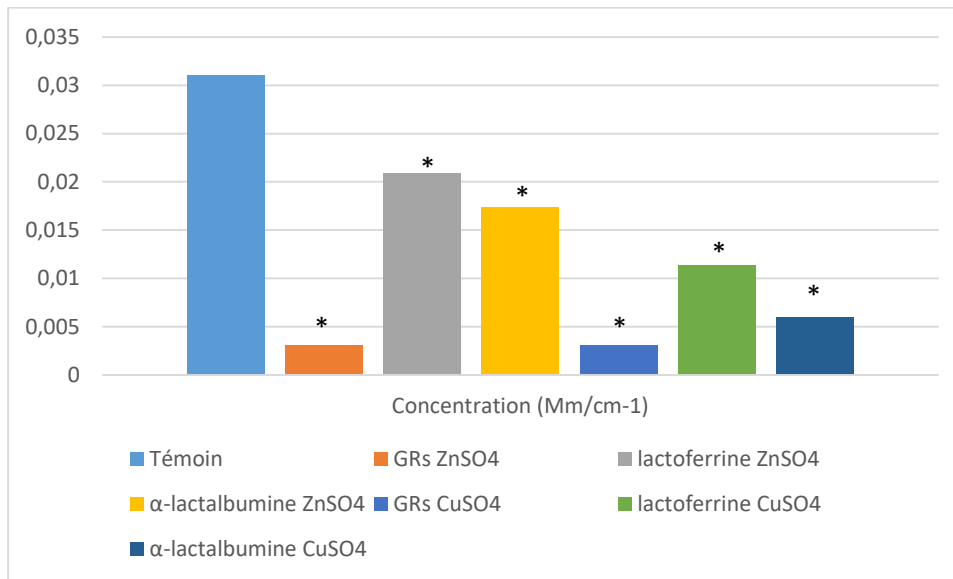


Figure 12 : Teneurs en GSH d'une solution de GRs à 4% supplémentées en métaux ($100\mu\text{M}$) en absence et présence des protéines ($200\mu\text{M}$) à 37°C .

Chaque valeur représente la concentration.

4.1.2.3 Teneurs en protéines totales (PT)

La figure (13) illustre l'effet de l'addition des métaux ($ZnSO_4$; $CuSO_4$) en présence des protéines sériques sur le taux moyen des protéines totales.

La teneur significative la plus élevée est celle de l' α -lactalbumine $ZnSO_4$, elle est de (2.55 g/dL) comparé au témoin (0.77g/dL). Aucune différence significative n'est observée entre la teneur des protéines totales dans la lactoferrine $ZnSO_4$ et l' α -lactalbumine $CuSO_4$. Tandis que chez l'échantillon de la lactoferrine $CuSO_4$ présent une teneur de 2.03g/dL.

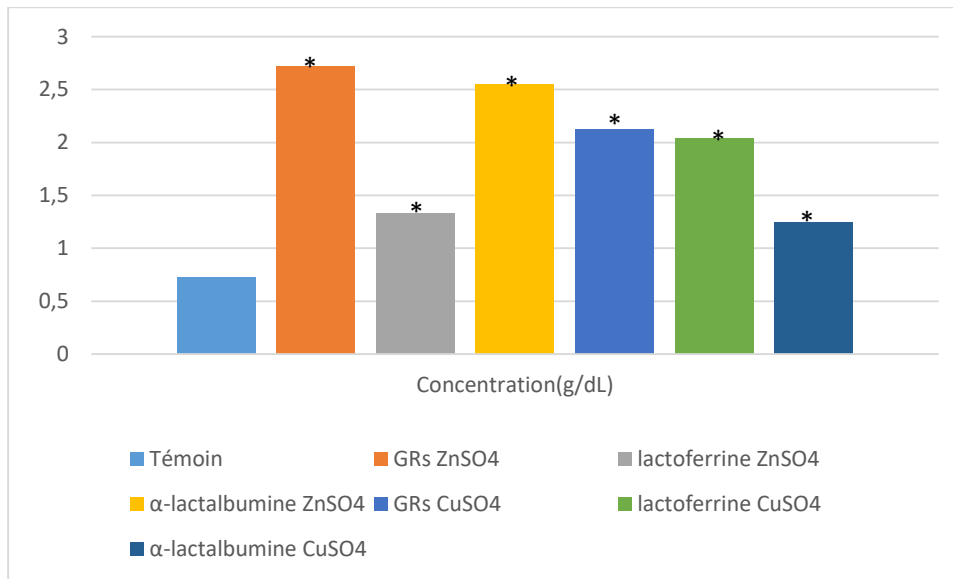


Figure 13 : Teneurs en protéines totales (PT) d'une solution de GRs à 4% supplémentées en métaux ($100\mu M$) en absence et présence des protéines ($200\mu M$) à $37^\circ C$.

Chaque valeur représente la concentration.

4.1.2.4 Teneurs en protéines carbonylées (PC)

Les variations des teneurs en protéines carbonylées au niveau des globules rouges en présence des protéines sériques et des ions de ZnSO₄ et CuSO₄ sont présentées dans la figure (14).

Nous constatons que la lactoferrine CuSO₄ n'a pas d'effet sur la teneur moyenne en protéines carbonylées, par contre, une augmentation de manière significative a été observée dans le test traité par la lactoferrine ZnSO₄ ($4,976.10^{-3}$ mM/cm⁻¹) par rapport au témoin ($1,162.10^{-3}$ mM/cm⁻¹).

La teneur de protéines carbonylées est diminuée d'une manière significative dans les tests traités par l'α-lactalbumine ZnSO₄ ($2,790.10^{-4}$ mM/cm⁻¹) et l'α-lactalbumine CuSO₄ ($2,325.10^{-4}$ mM/cm⁻¹).

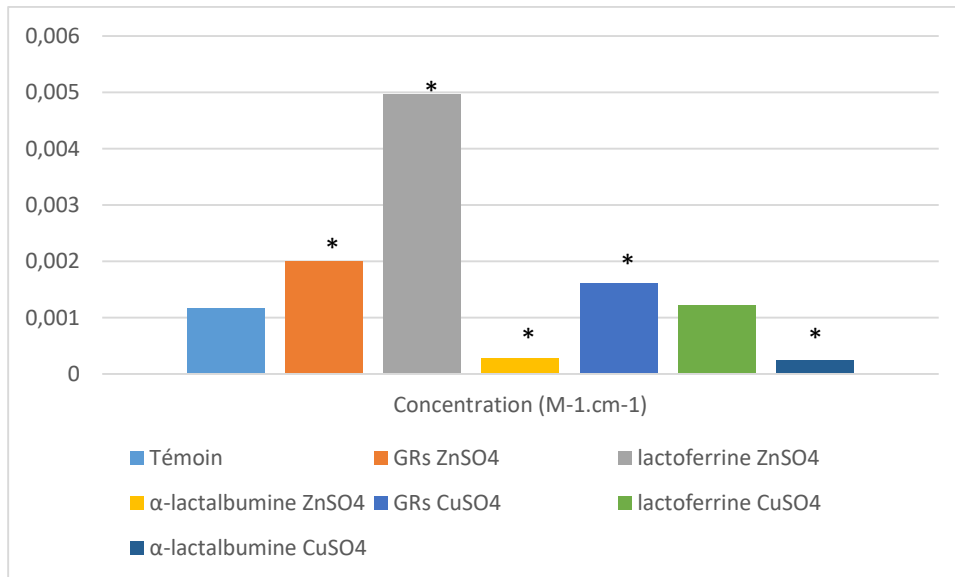


Figure 14 : Teneurs en protéines carbonylées (PC) d'une solution de GRs à 4% supplémentées en métaux (100µM) en absence et présence des protéines (200µM) à 37°C.

Chaque valeur représente la concentration.

4.1.2.5 Teneurs en malondialdéhyde (MDA)

L'effet de l'addition des protéines sériques : la lactoferrine, l' α -lactalbumine et les métaux (ZnSO_4 ; CuSO_4) et leur combinaison sur le taux moyen de MDA est représenté dans la figure (15).

Nous observons que le taux moyen de MDA est significativement diminué dans les échantillons traités par la lactoferrine CuSO_4 ($0,9032 \cdot 10^{-4} \text{mM/cm}^{-1}$) et par l' α -lactalbumine comparé au témoin ($2,258 \cdot 10^{-4} \text{mM/cm}^{-1}$).

Le taux moyen de MDA est diminué à une valeur proche de témoin chez les GRs en présence de la lactoferrine ZnSO_4 ($1,419 \cdot 10^{-4} \text{mM/cm}^{-1}$), l' α -lactalbumine ZnSO_4 ($1,548 \cdot 10^{-4} \text{mM/cm}^{-1}$).

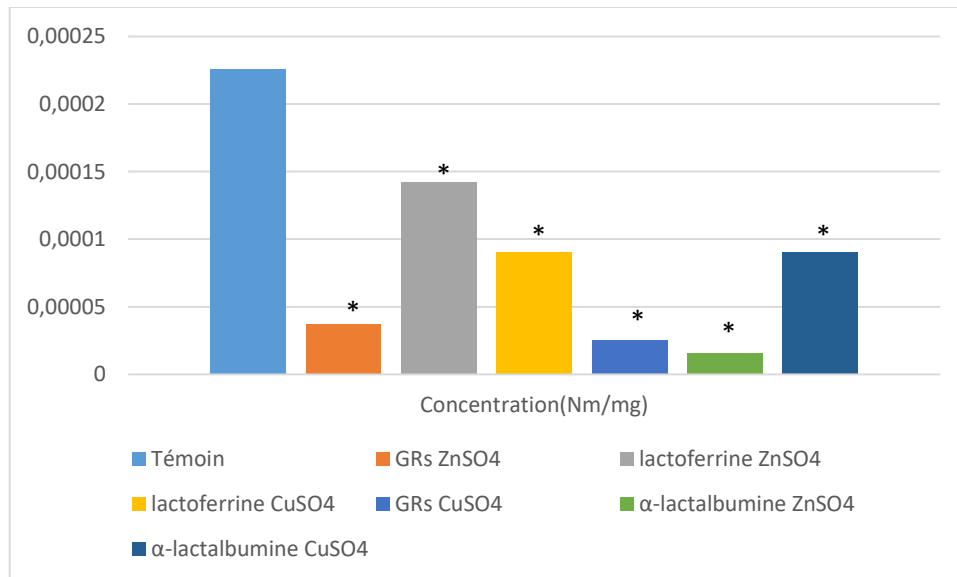


Figure 15 : Teneurs en malondialdéhyde (MDA) d'une solution de GRs à 4% supplémentées en métaux ($100\mu\text{M}$) en absence et présence des protéines ($200\mu\text{M}$) à 37°C .

Chaque valeur représente la concentration.

4.1.1.6 Teneurs en l'aspartate aminotransférase (TGO-ASAT)

D'après nos résultats, l'activité enzymatique du TGO montre une diminution significative chez l'échantillon traité par le lactoferrine ZnSO₄ (5.25UI/l), le lactoferrine CuSO₄ (1.75 UI/l) par rapport au témoin (28UI/l).

La combinaison des GRs et de l' α -lactalbumine ZnSO₄ (15.75UI/l) et l' α -lactalbumine CuSO₄ (1.75UI/l) diminue également d'une façon significative l'activité enzymatique de TGO représenté dans la figure (16).

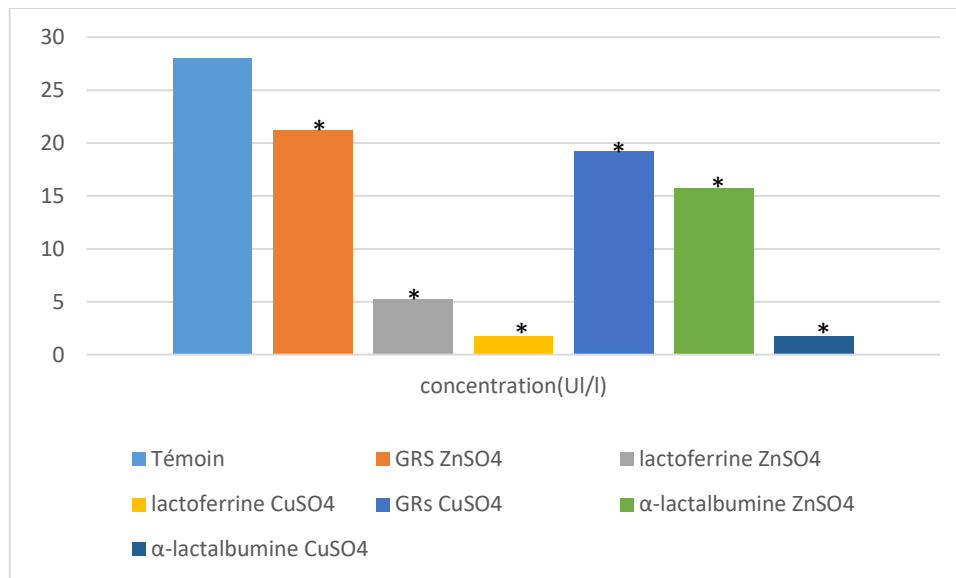


Figure 16 : Teneurs en l'aspartate aminotransférase (GOT-ASAT) d'une solution de GRs à 4% supplémentées en métaux (100 μ M) en absence et présence des protéines (200 μ M) à 37°C.

Chaque valeur représente la concentration.

4.1.1.7 Teneurs en l'alanine aminotransférase (GPT-ALAT)

L'analyse statistique révèle une augmentation significative de l'activité enzymatiques de TGP chez la solution érythrocytaire traité par l' α -lactalbumine ZnSO₄ (22.75UI/l) tandis qu'on remarque une valeur approche à celle du témoin (10.5UI/U) chez les GRs traité par l' α -lactalbumine CuSO₄.

La combinaison des GRs et le lactoferrine ZnSO₄ présente une faible diminution par rapport au témoin (8.75UI/U), alors qu'on observe une diminution significative dans l'échantillon traité par le lactoferrine CuSO₄ (1.75 UI/l) (figure 17).

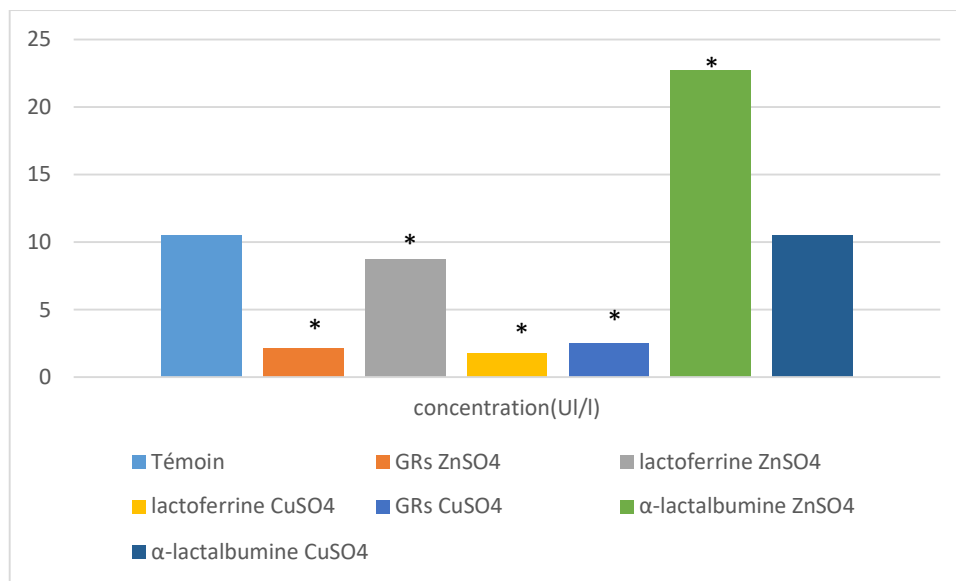


Figure 17 : Teneurs en l'alanine aminotransférase (GPT-ALAT) d'une solution de GRs à 4% supplémentées en métaux (100 μ M) en absence et présence des protéines (200 μ M) à 37°C.

Chaque valeur représente la concentration.

4.2. Discussion**4.2.1. Etude in vitro sur les globules rouges**

Les globules rouges sont parmi les cellules les plus utilisées dans l'évaluation de la toxicité à cause de leur disponibilité, et la facilité de leur surveillance au cours de la lyse cellulaire grâce à la libération de l'hémoglobine, (Situ et Bobek.,2000).

4.2.1.1. Test d'hémolyse

D'après les résultats que nous avons présentés, il semble que l'addition de protéines sériques et de métaux ait une influence significative sur le pourcentage d'hémolyse dans la solution érythrocytaire. La figure (09) montre que la solution contenant la lactoferrine et le CuSO_4 a entraîné une diminution significative du pourcentage d'hémolyse par rapport au groupe témoin (GRs + CuSO_4).

En effet, l'hémolyse peut être considérée comme un indicateur de stress oxydatif, car les espèces réactives de l'oxygène (ERO) produites lors du stress oxydatif peuvent endommager les membranes cellulaires, entraînant ainsi l'hémolyse. Les résultats obtenus indiquent que la lactoferrine, en présence de CuSO_4 , a un effet antioxydant, réduisant ainsi l'hémolyse.

Les résultats que nous avons fournis indiquent que le traitement statistique des données obtenues à partir de l'expérience a montré que l'activité anti-hémolytique dans le milieu contenant les GRs en combinaison avec l' α -lactalbumine CuSO_4 est supérieure (2,95%) à celle de la solution contenant l' α -lactalbumine ZnSO_4 (2,67%).

Cela suggère que l' α -lactalbumine peut avoir un effet protecteur contre les dommages oxydatifs causés par les métaux, mais que l'efficacité de cette protection peut varier en fonction du type de métal auquel elle est associée. Dans le cas présent, l' α -lactalbumine associée au CuSO_4 semble offrir une meilleure protection anti-hémolytique que l' α -lactalbumine associée au ZnSO_4 .

Cependant, il est important de noter que la lactoferrine n'a pas eu le même effet antioxydant qu'en présence de l' α -lactalbumine. La solution contenant les GRs et la lactoferrine a réduit le taux d'hémolyse mais de manière moins prononcée que l' α -lactalbumine, ce qui suggère que

les protéines du lactosérum peuvent agir en synergie fournir une meilleure protection antioxydante.

Il est d'autre part important de noter que ces résultats ont été obtenus à partir d'une étude *in vitro* et que des études supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si ces résultats peuvent être observés dans un contexte *in vivo*.

Dans une étude similaire, Ahmadi et *al.* (2017) ont examiné l'effet de la lactoferrine sur la survie des érythrocytes humains soumis à un stress oxydatif induit par le peroxyde d'hydrogène. Ils ont constaté que la lactoferrine avait un effet protecteur sur les érythrocytes en augmentant significativement leur survie. Cependant, leur étude a été réalisée en utilisant du peroxyde d'hydrogène comme stress oxydatif, tandis que notre étude a examiné l'effet de la lactoferrine et du CuSO_4 sur l'hémolyse des érythrocytes.

En résumé, les résultats obtenus suggèrent que la lactoferrine peut être un composant prometteur pour la protection antioxydante, en particulier en présence de métaux.

4.2.2. Les paramètres de stress oxydatif

4.2.2.1. L'activité de la catalase (CAT)

Tout d'abord, la catalase est une enzyme qui joue un rôle crucial dans la décomposition de l'eau oxygénée en eau et en oxygène. Elle est présente dans de nombreuses cellules, y compris les GRs.

Dans cette partie, nous avons examinés l'activité enzymatique de la catalase chez les GRs traités avec différents types de protéines, notamment la lactoferrine CuSO_4 , la lactoferrine ZnSO_4 et l' α -lactalbumine CuSO_4 .

Nos résultats montrent que la lactoferrine CuSO_4 a entraîné une diminution significative de l'activité enzymatique de la catalase par rapport au témoin. Cela peut être dû à l'interaction de la lactoferrine CuSO_4 avec la catalase ou à d'autres processus biochimiques qui ont réduit l'activité de la catalase.

Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent que les protéines que nous avons examinées ont des effets différents sur l'activité enzymatique de la catalase.

Une étude menée par Bandyopadhyay et al, (2011) a montré que la lactoferrine, ainsi que d'autres agents chélateurs du fer, inhibaient l'activité enzymatique de la catalase. L'effet inhibiteur de la lactoferrine sur la catalase était dose-dépendant, ce qui signifie que plus la concentration de lactoferrine était élevée, plus l'inhibition de l'activité de la catalase était importante. Les chercheurs ont également observé que d'autres agents chélateurs du fer, tels que la transferrine et la deferoxamine, présentaient des effets similaires d'inhibition de la catalase.

Les résultats de l'étude menée par Elahi et Matilla (2012) ont démontré que l' α -lactalbumine exerce un effet inhibiteur sur l'activité enzymatique de la catalase. Il a été observé que cette inhibition était proportionnelle à la concentration d' α -lactalbumine, c'est-à-dire que plus la concentration était élevée, plus l'activité de la catalase était inhibée de manière significative. De plus, les chercheurs ont constaté que l'effet inhibiteur de l' α -lactalbumine sur la catalase était réversible, ce qui signifie que l'activité enzymatique de la catalase pouvait être rétablie lorsque l' α -lactalbumine était éliminée du système.

4.2.2.2. Teneurs en glutathion réduit (GSH)

Les résultats de notre étude indiquent une réduction significative de la teneur en glutathion réduit (GSH) chez les échantillons de GRs traités avec de la lactoferrine CuSO_4 et de l' α -lactalbumine CuSO_4 par rapport au témoin, tandis qu'aucune différence significative n'est observée chez les échantillons traités avec de la lactoferrine ZnSO_4 . De plus, les échantillons traités avec de l' α -lactalbumine ZnSO_4 ont montré une réduction de moitié de la teneur en GSH par rapport au témoin.

Le GSH est un antioxydant endogène important qui joue un rôle clé dans la défense contre le stress oxydatif et la protection des cellules contre les dommages oxydatifs. Des niveaux réduits de GSH peuvent indiquer une augmentation du stress oxydatif et un risque accru de dommages cellulaires.

Les résultats suggèrent que la lactoferrine CuSO_4 et l' α -lactalbumine CuSO_4 peuvent avoir un effet négatif sur la teneur en GSH, ce qui peut être préoccupant. Il est également possible que les effets sur la teneur en GSH soient liés à l'activité enzymatique de la catalase.

Des niveaux réduits de CAT peuvent conduire à une accumulation de peroxyde d'hydrogène, ce qui peut réduire les niveaux de GSH. Cela pourrait expliquer pourquoi les échantillons de GRs traités avec de la lactoferrine CuSO_4 et de l' α -lactalbumine CuSO_4 ont montré des niveaux réduits de GSH et de CAT.

Ces résultats indiquent que différents types de lactoferrine et d' α -lactalbumine peuvent avoir des effets différents sur l'activité enzymatique de la catalase et la teneur en GSH.

Une étude menée par Arslan et *al.* (2019) a évalué l'effet protecteur de la protéine de lactosérum bovin sur les cellules hépatiques en utilisant le dosage GSH. Les résultats ont montré une augmentation significative des niveaux de GSH chez les cellules traitées avec la protéine de lactosérum, suggérant un effet protecteur contre les dommages oxydatifs.

Une autre étude menée par Al-Musayeib et *al.* (2017) a évalué l'effet des peptides de lactosérum sur les niveaux de GSH dans les cellules hépatiques exposées à des agents oxydants. Les résultats ont montré que les peptides de lactosérum ont protégé les cellules contre les dommages oxydatifs en augmentant les niveaux de GSH.

4.2.2.3. Teneurs en protéines totales (PT)

Il semble que notre étude ait évalué la teneur en protéines dans différents échantillons, notamment la lactoferrine et l' α -lactalbumine, avec l'ajout de différents sels tels que le (ZnSO_4) et le (CuSO_4).

Les résultats de notre étude ont montré que la teneur en protéines totales dans l' α -lactalbumine avec l'ajout de (ZnSO_4) est significativement plus élevée que celle du témoin.

D'autre part, il n'y a pas de différence significative entre les teneurs en protéines totales de la lactoferrine (ZnSO_4) et de l' α -lactalbumine (CuSO_4). Cela pourrait indiquer que l'ajout de ces molécules n'a pas eu un impact significatif sur la production de protéines dans ces échantillons.

Cependant, la lactoferrine (CuSO_4) a montré une teneur en protéines significativement plus élevée que le témoin. Cela pourrait indiquer que l'ajout de (CuSO_4) a eu un effet positif sur la production de protéines dans cet échantillon.

Il est important de noter que d'autres facteurs peuvent également influencer la production de protéines dans les échantillons, tels que la composition des solutions et les conditions de l'expérience.

Dans une étude menée par Kregiel et *al.* (2018), les chercheurs ont évalué l'activité antioxydante de peptides obtenus à partir de la protéine de lactosérum de chèvre. Les résultats ont montré une augmentation significative des protéines totales dans le groupe traité par rapport au groupe témoin, ce qui indique une activité antioxydante accrue.

4.2.2.4. Teneurs en protéines carbonylées (PC)

Les résultats concernant la teneur en protéines carbonylées montrent que la lactoferrine CuSO_4 n'a pas d'effet significatif sur la teneur moyenne de ces protéines par rapport au témoin. Cependant, l'utilisation de lactoferrine ZnSO_4 a entraîné une augmentation significative de la teneur en protéines carbonylées par rapport au témoin. De même, l'utilisation d' α -lactalbumine ZnSO_4 et α -lactalbumine CuSO_4 a entraîné une augmentation de la teneur en protéines carbonylées, mais à une valeur proche de celle du témoin.

Les protéines carbonylées sont le résultat d'une oxydation des protéines, ce qui peut indiquer une augmentation du stress oxydatif. Ainsi, l'augmentation significative de la teneur en protéines carbonylées dans le groupe traité par lactoferrine (ZnSO_4) pourrait indiquer une augmentation du stress oxydatif dans ce groupe. En revanche, l'absence d'effet significatif de la lactoferrine (CuSO_4) sur la teneur en protéines carbonylées peut indiquer que cette protéine n'a pas d'effet pro-oxydant.

Il est important de noter que la présence de (ZnSO_4) et (CuSO_4) dans les protéines sériques peut également jouer un rôle dans les résultats observés. Ces ions peuvent interagir avec les protéines et avoir des effets pro-oxydants ou antioxydants, selon les conditions expérimentales.

Une étude menée par Liao et *al.* (2019) a évalué le potentiel antioxydant des peptides de caséine bovine hydrolysée en mesurant les niveaux de protéines carbonylées dans les cellules endothéliales humaines exposées à des stress oxydatifs. Les résultats ont montré que les peptides de caséine avaient un effet protecteur contre les dommages oxydatifs, ce qui était soutenu par une diminution significative des niveaux de protéines carbonylées.

Une autre étude menée par Kumar *et al.* (2016) a évalué l'activité antioxydante des extraits de feuilles de moringa en utilisant le dosage des protéines carbonylées. Les résultats ont montré que l'extrait de feuilles de moringa avait une forte activité antioxydante, ce qui était corroboré par une diminution significative des niveaux de protéines carbonylées dans les cellules traitées.

4.2.2.5. Teneurs en malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est un marqueur important du stress oxydatif dans l'organisme et peut avoir des effets néfastes sur la santé. La détection précoce du MDA et la mise en place de mesures préventives peuvent aider à réduire le risque de maladies chroniques liées au stress oxydatif.

Les résultats indiquent que la lactoferrine et l' α -lactalbumine traitées avec CuSO_4 ont entraîné une diminution significative du taux moyen de MDA par rapport au témoin, ce qui suggère une capacité antioxydante de ces protéines. En revanche, les échantillons traités avec la lactoferrine ZnSO_4 et l' α -lactalbumine ZnSO_4 ont montré une diminution significative du taux moyen de MDA, mais à une valeur proche de celle du témoin, ce qui suggère que l'effet antioxydant est plus faible dans ces conditions.

Il est important de noter que les résultats de cette étude suggèrent que la lactoferrine et l' α -lactalbumine peuvent avoir des effets différents selon le type de sel métallique utilisé dans le traitement. Les résultats indiquent également que ces protéines peuvent avoir des effets différents sur différents paramètres d'oxydation tels que le GSH, la CAT et le MDA.

Une étude menée par Zhong *et al.* (2018) a également examiné l'effet antioxydant des protéines de lactosérum de chèvre sur les cellules sanguines. Les résultats ont montré une réduction significative des niveaux de MDA après traitement avec les protéines de lactosérum de chèvre, ce qui suggère une réduction de la peroxydation lipidique et une augmentation de la capacité antioxydante.

Dans une autre étude, Jiao *et al.* (2019) ont évalué les effets antioxydants des peptides de lactosérum de yak sur les cellules hépatiques. Les résultats ont montré que les peptides de lactosérum de yak ont réduit les niveaux de MDA et augmenté l'activité antioxydante de la

catalase, de la glutathion peroxydase et du superoxyde dismutase, suggérant une amélioration globale de la santé hépatique.

4.2.2.6. Teneurs en l'aspartate aminotransférase (TGO-ASAT)

Ces résultats suggèrent que les composés étudiés, ont un effet significatif sur l'activité de l'enzyme (TGO). La diminution de l'activité de la (TGO) dans les échantillons traités par le lactoferrine ($ZnSO_4$), le lactoferrine ($CuSO_4$) et la combinaison de GRs et d' α -lactalbumine ($ZnSO_4$) et ($CuSO_4$) par rapport au témoin, suggère que ces composés ont un effet inhibiteur sur l'activité de la TGO.

La lactoferrine est une glycoprotéine qui a des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Cette protéine est connue pour lier les ions métalliques tels que le fer et le zinc, ce qui pourrait contribuer à son effet inhibiteur sur l'activité de la TGO. L' α -lactalbumine est également une protéine laitière, qui est des propriétés bioactives et sont connues pour avoir des effets bénéfiques sur la santé.

La diminution significative de l'activité enzymatique de la TGO dans l'échantillon traité par la combinaison de GRs et d' α lactalbumine ($ZnSO_4$) et ($CuSO_4$) suggère une interaction synergique entre ces composés et leur effet combiné sur l'enzyme. Cette observation pourrait avoir des implications importantes dans le développement de traitements pour les maladies liées à l'activité de la TGO.

D'autres études ont également examiné les effets de différents composés sur l'activité enzymatique de la TGO. Par exemple, une étude menée par Al-Attar et coll, (2017) a examiné les effets de l'extrait de feuilles de guava sur l'activité de la TGO chez des rats diabétiques. Les résultats ont montré que l'extrait de feuilles de guava réduisait significativement l'activité de la TGO chez les rats diabétiques.

Une autre étude menée par Yildirim et coll. (2019) a examiné les effets de la supplémentation en sélénium sur l'activité de la TGO chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Les résultats ont montré que la supplémentation en sélénium réduisait significativement l'activité de la TGO chez ces patients. Dans l'ensemble, ces études suggèrent que différents composés peuvent avoir des effets significatifs sur l'activité enzymatique de la TGO. Les résultats de l'étude actuelle sont cohérents avec ces études

antérieures, suggérant que la lactoferrine et l' α -lactalbumine combinées à du $ZnSO_4$ ou du $CuSO_4$ pourraient avoir des effets bénéfiques sur la santé en réduisant l'activité de la TGO.

4.2.2.7. Teneurs en l'alanine aminotransférase (GPT-ALAT)

Tout d'abord, il y a une augmentation significative de l'activité enzymatique de la TGP dans la solution érythrocytaire traitée par l' α -lactalbumine ($ZnSO_4$). Cette augmentation pourrait être due à l'interaction de l' α -lactalbumine avec le ($ZnSO_4$), qui a déjà été signalée comme étant capable de stimuler la croissance cellulaire et d'augmenter l'activité enzymatique dans d'autres études. Il est également important de noter que la solution érythrocytaire diffère des GRs et de la combinaison GRs et l' α -lactalbumine ($ZnSO_4$), donc il est possible que les effets sur l'activité enzymatique de la TGP soient dus à des différences dans les interactions entre les composants et les cellules.

En ce qui concerne les GRs traités avec l' α -lactalbumine ($CuSO_4$), on remarque une valeur proche de celle du témoin, ce qui suggère que ce traitement n'a pas eu d'effet significatif sur l'activité enzymatique de la TGP dans ce type de cellules.

En ce qui concerne la combinaison de GRs et de l' α -lactalbumine ($ZnSO_4$), il y a une diminution significative de l'activité enzymatique de la TGP. Cela peut être dû à une inhibition de l'activité de la TGP par l'un des composants ou à une interaction négative entre les composants.

La combinaison de GRs et de lactoferrine ($ZnSO_4$) présente une faible diminution par rapport au témoin, ce qui suggère que ces composés n'ont pas eu d'effet significatif sur l'activité enzymatique de la TGP. En revanche, l'échantillon traité par la lactoferrine ($CuSO_4$) a montré une diminution significative de l'activité enzymatique de la TGP, ce qui suggère un effet inhibiteur potentiel de ce composé sur la TGP.

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que les différents traitements ont des effets différents sur l'activité enzymatique de la TGP dans différents types de cellules.

Des études antérieures ont examiné l'effet de différents composés sur l'activité enzymatique de la TGP. Par exemple, une étude de Jafari et *al.* (2017) a examiné l'effet de la vitamine E sur

les niveaux de TGP chez des patients atteints d'une maladie du foie gras non alcoolique. Les résultats ont montré que la vitamine E avait un effet significatif sur les niveaux de TGP, suggérant qu'elle pourrait être utile pour traiter cette maladie.

Une autre étude menée par Lee et *al.* (2018) a examiné l'effet de différents types d'huile de poisson sur les niveaux de TGP chez des patients atteints d'une maladie hépatique. Les résultats ont montré que l'utilisation de certaines huiles de poisson était associée à une réduction significative des niveaux de TGP, suggérant que ces huiles pourraient être utiles pour traiter cette maladie.

Conclusion

Conclusion

Notre étude a démontré l'importance du pouvoir antioxydant des protéines de lactosérum camelin, en particulier la lactoferrine et l' α -lactalbumine. À travers différents tests, nous avons observé des résultats significatifs qui mettent en évidence l'influence de ces protéines sur plusieurs paramètres liés au stress oxydatif et à la préservation de l'intégrité cellulaire.

Dans le test d'hémolyse, nous avons constaté une diminution significative du pourcentage d'hémolyse dans les échantillons contenant la lactoferrine en présence de CuSO_4 , suggérant un effet antioxydant de cette protéine. Des variations significatives ont été observées pour la lactoferrine et l' α -lactalbumine en fonction des différentes combinaisons de protéines et de métaux, avec des différences dans l'effet des protéines en fonction du type de métal associé. De plus, l'activité anti-hémolytique dans les échantillons contenant l' α -lactalbumine en combinaison avec CuSO_4 était supérieure à celle des échantillons contenant l' α -lactalbumine avec ZnSO_4 .

En conclusion, nos résultats soulignent l'impact des protéines de lactosérum camelin sur différents aspects liés à l'équilibre oxydatif. Les interactions produites entre la lactoferrine CuSO_4 et d'autres composants, ainsi que les variations en fonction des différents métaux, indiquent que ces protéines peuvent jouer un rôle important dans la modulation de l'équilibre oxydatif. Les différences dans les réponses antioxydantes entre les différentes protéines et les métaux soulignent la complexité des interactions et des effets dans ce système. Ces résultats ouvrent la voie à des recherches futures pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et les effets des protéines de lactosérum camelin sur l'équilibre oxydatif.

En somme, l'évaluation du pouvoir antioxydant des protéines de lactosérum camelin peut contribuer à la recherche de nouveaux moyens de prévention et de traitement des maladies liées au stress oxydatif.

Références Bibliographiques

A

- Abdal Dayem, A., Hossain, M. K., Lee, S. B., Kim, K., Saha, S. K., Yang, G. M., Choi, H. Y., & Cho, S. G. (2017). The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 120. <https://doi.org/10.3390/ijms 18010120>.
- Ahmadi, F., Kiana, A., & Karimi, M. (2017). The protective effect of lactoferrin on hydrogen peroxide-induced oxidative stress in human erythrocytes. *Drug research*, 67(3), 163-167.
- Al-Attar, A. M., Abu-Zaid, A. M., Al-Rikabi, A. C., & Al-Kuraishy, H. M. (2017). Antihyperglycemic and antioxidant effect of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 7(3), 155-160. <https://doi.org/10.4103/ijabmr.IJABMR 358 16>
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., & Morgan, D. Raff. M., Roberts, K., and Walter, P.(2014). *Molecular Biology of the Cell*. *Garland Science, NY*.
- Al-Musayeib, N. M., Muharram, M. M., Al-Eissa, R. A., & Mohamed, S. A. (2017). Whey protein hydrolysate protects against hydrogen peroxide-induced oxidative stress injury in human hepatoma cells. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 23(3), 365-375.
- Arfa, AB, Khorchani, T., Hammadi, M., Chammem, M., El-Hatmi, H., El-Jeni, H., & Cheniti, TL (2004). Digestibilité et ingestion de la végétation d'un parcours d'halophytes par le dromadaire dans le Sud tunisien. *Cahiers Options Méditerranéennes*, (62), 301-305.
- Arner, E. S. J. (2009). Focus on mammalian thioredoxin reductases – Important selenoproteins with versatile functions. *Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects*, 1790(6), 495-526.
- Arslan, S., Ozdemir, S., & Arslan, O. (2019). Protective effect of whey protein isolate against oxidative stress-induced cell death in human hepatoma cells. *Journal of Food Science and Technology*, 56(7), 3115-3122.

B

- Bandyopadhyay, U., Chakraborty, D. P., & Chakraborty, M. (2011). Inhibition of catalase activity by lactoferrin and other iron-chelating agents. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 404(1), 277-281.
- Barbana, C., Pérez, M. D., Sánchez, L., Pocovi, C., Calvo, M., Alvarenga, N., & Canada, J. (2007). Caractérisation d'une fraction d'alpha-lactalbumine humaine isolée des caséines supposés active contre la croissance de la lignée cellulaire " Human colon adenocarcinoma" caco-2.
- Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.
- Bergmeyer, H. U., Bowes Jr, G. N., Hörder, M., & Moss, D. W. (1976). Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clinica Chimica Acta*, 70(2), F19-F42.
- Bergmeyer, HU., & Horder, M. (1980, janvier). Méthodes IFCC pour la mesure de la concentration catalytique des enzymes. III. Méthode IFCC pour l'alanine aminotransférase. Dans *Journal européen de chimie clinique et de biochimie clinique : journal du Forum des sociétés européennes de chimie clinique* 18 (8), 521-534.
- Bergmeyer, HU., Scheibe, P., & Wahlefeld, AW (1978). Optimisation des méthodes pour l'aspartate aminotransférase et l'alanine aminotransférase. *Chimie clinique*, 24 (1), 58-73.
- Beshkar, P., Sattari, M., & Gholamzadeh, S. (2020). Protective effect of basil leaves extract on oxidative stress-induced hemolysis of human erythrocytes. *Comparative Clinical Pathology*, 29(2), 423-429.
- Bilsborough, S., & Mann, N. (2006). Un examen des questions d'apport en protéines alimentaires chez l'homme. *Journal international de la nutrition sportive et du métabolisme de l'exercice*, 16 (2), 129-152.

Binyameen, B., Rahim, M. A., Khalid, W., Nasir, N., Ilyas, S., Afzal, F., ... & Israr, H. (2021). A Comprehensive Review on Functional Role and Additive Application of Lactoferrin. *Acta Scientific NUTRITIONAL HEALTH (ISSN: 2582-1423)*, 5(10).

Bokkhim, Huma & Bhandari, Bhesh (2021). Lactoferrin. Encyclopedia of dairy sciences. Amsterdam, Netherlands: Elsevier.925-932.

Bushmarina, NA., Blanchet, C., Vernier, G., & Forge, V. (2005, novembre). Repliement des proteines : exemple de l' α -lactalbumine. Dans *Journal de physique IV (actes)* 130, 209-228.

C

Cesar, NT., Deby-Dupont, G., Monique, T., Angenot, L., Frederich, M., Kohnen, S., Mouithys-Mickalad, A., Serteyn, D.,& Franck, T. (2012)). Teneur en polyphénols et activités modulatrices de certains extraits de plantes alimentaires tropicales sur les activités oxydantes des neutrophiles et de la myéloperoxydase. *Journal international des sciences moléculaires* , 13 (1), 628-650.

Clairborne, A. (1985). Dosage de la catalase. *Manuel des méthodes de recherche sur les radicaux libres d'oxygène*, 283-284.

Colin J.2008. Mise en évidence, par spectroscopies de Résonance Paramagnétique Electronique et d'absorption électronique UV-visible, de la formation de Radicaux Tryptophanyles et Tyrosylyes par transfert d'électron intramoléculaire vers l'hème dans les catalases monofonctionnelles et peroxydase bifonctionnelle.Thèse de doctorat de l'universite paris VI

D

Deby, C., & Deby-Dupont, G. Université de Liège - Centre de l'Oxygène, Recherche et Développement (CORD) L'oxygène et la vie: Tome 1 - Initiation au métabolisme de l'oxygène Chapitre VII : Propriétés des espèces oxygénées activées (ROS et RNOS).

Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63.

Desmet, J., & Van Cauwelaert, F. (1988). Calorimetric experiments of Mn²⁺-binding to α -lactalbumin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 957(3), 411-419.

Desmier, T. (2016). Les antioxydants de nos jours: définition et applications [Thèse en ligne]. *Limoges: Université de Limoges*.

Draper, H. & Hadley, M. (1990) [43] Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods in enzymology*, 186, 421-431.

E

Elahi, S., & Matilla, P. (2012). Inhibitory effect of α -lactalbumin on catalase activity in liquid model systems. *Food Chemistry*, 133(4), 1477-1484.

Ellman, G. L. (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, 82, 70-77.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108 (10), 863-832.

Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises*. Elsevier Masson, 64 (6), 390-396.

Feig, D. I., & Johnson, R. J. (2008). Hyperuricemia in childhood primary hypertension. *Hypertension*, 52(2), 215-221.

Fetoni, A. R., Paciello, F., Rolesi, R., Paludetti, G., & Troiani, D. (2019). Targeting dysregulation of redox homeostasis in noise-induced hearing loss: oxidative stress and ROS signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 135, 46-59.

Fukai, T., & Ushio-Fukai, M. (2011). Superoxide dismutases: Role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(6), 1583-1606.

G

Gagaoua, M., Dib, A. L., & Bererhi, E. H. (2022). Recent Advances in Dromedary Camels and Their Products. *Animals*, 12(2), 162.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh, Z., Jore D. (2003) Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'actualité chimique*, 91-96.

Gifford, JL, Hunter, HN et Vogel, HJ (2005). Lactoferricine : Lactoferricine : Un peptide dérivé de la lactoferrine aux propriétés antimicrobiennes, antivirales, antitumorales et immunologiques. *Sciences de la vie cellulaire et moléculaire*, 62, 2588-2598.

Giustarini, D., Tsikas, D., Colombo, G., Milzani, A., Dalle-Donne, I., Fanti, P., & Rossi, R. (2016). Les écueils de l'analyse de l'antioxydant physiologique glutathion (GSH) et de son disulfure (GSSG) dans les échantillons biologiques : Un éléphant dans la chambre. *Journal of Chromatography B*, 1019, 21-28.

Gupta, C., Pacheco, C., & Prakash, D. (2019). Lactoserum: As a Complete Nutraceutical. In *Nutraceutical and Functional Foods in Disease Prevention*: IGI Global, 432-456.

H

HÅKANSSON, A., Zhivotovsky, B., Orrenius, S., SABHARWAL, HEMANT et Svanborg, C. (1995). Apoptose induite par une protéine du lait humain. *Actes de l'Académie nationale des sciences*, 92 (17), 8064-8068.

Halliwell B (2006) Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry*, 97 (6), 1634–1658.

Halliwell, B., & Gutteridge, JM., (2015). *Les radicaux libres en biologie et en médecine* (5th ed.). Presse universitaire d'Oxford, États-Unis.

Hermas, S.A. (1998). Amélioration génétique et rôle futur du chameau dans le monde arabe : problèmes et opportunités. Dans *Actes de la troisième réunion annuelle sur la production animale dans des conditions arides*, 2, 56-68.

Hider, R. C., & Kong, X. (2013). Chemistry and biology of ferritin. *Protein & Cell*, 4(9), 641-650.

J

Jafari, E., Alinejad, A., Ghorbani, Z., & Alizadeh, M. (2017). The effect of vitamin E on liver enzymes in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Research in Medical Sciences*, 22, 7. https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS_1031_16

Jiao, Y., Gao, M., Zhang, R., Zhu, J., Wu, J., Xu, Y., ... & Li, B. (2019). Antioxidant activities of yak milk-derived peptides and identification of three novel antioxidant peptides from the α s1-casein protein. *Food & Function*, 10(6), 3569-3580.

Johnson, W. M., Wilson-Delfosse, A. L., & Mieyal, J. J. (2012). Dysregulation of glutathione homeostasis in neurodegenerative diseases. *Nutrients*, 4(10), 1399–1440. <https://doi.org/10.3390/nu4101399>

K

Kasamba, I. É., Balaka, E. M., Mulumba, K. D., Kalumba, K. A., Ilunga, N. J., Lunga, A., Kalenga, M. K. P., & Malaga, M. E. R. (Jan-Feb 2020). Stress oxydatif et dommage sur le DNA au cours de l'infection à VIH, Rôle du Yaourt Probiotique dans la prévention. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 15, 51-56.

Khan, UM, & Selamoglu, Z. (2019). Perspectives nutritionnelles et médicales de la protéine de lactosérum : un aperçu historique. *Tourillon des soins pharmaceutiques*, 112-117.

- Kiremitli, T., Kiremitli, S., Erel, O., Oguz, E., Dinc, K., Nayki, U., Turkler, C., & Kirkinci, A. (2021). Homéostasie dynamique des thiols/disulfures et taux d'albumine modifiée ischémique dans les oligohydramnios isolés. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 60(6), 1038-1042.
- Kirkman, HN, & Gaetani, GF (1984). Catalase : une enzyme tétramérique avec quatre molécules étroitement liées de NADPH. *Actes de l'Académie nationale des sciences*, 81 (14), 4343-4347.
- Koc, A., & Atasever, S. (2016). Production and characteristics of camel milk. In *Proceedings of the I International Selçuk-Ephesus Symposium on Culture of Camel-Dealing and Camel Wrestling*.
- Kregiel, D., Pawlikowska, E., & Antolak, H. (2018). Goat whey protein hydrolysate with antiradical activity obtained by enzymatic hydrolysis. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 367-377.
- Kula, J. (2016). Medicinal values of camel milk. *Int J Vet Sci Res*, 2(1), 018-025.
- Kumar, R. S., Narasingappa, R. B., Joshi, C. G., Girish, T. K., Prasada Rao, U. J., & Danagoudar, A. (2017). Evaluation of *Cassia tora* Linn. against Oxidative Stress-induced DNA and Cell Membrane Damage. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 9(1), 33-43. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.206215>
- Kumar, S., et al. (2016). Antioxidant activity and protective effect of *Moringa oleifera* leaves against oxidative stress induced by hydrogen peroxide and ferrous sulfate in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 180(2), 299-316.

L

- Lee, H. A., Han, K., Kim, J. H., Kim, W., & Lee, H. J. (2018). Effect of fish oil supplementation on liver function in patients with chronic liver.

Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., ... & Stadtman, E. R. (1990). [49] Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In *Methods in enzymology*, 186, 464-478.

Lewis, E. D., Meydani, S. N., & Wu, D. (2019). Regulatory role of vitamin E in the immune system and inflammation. *IUBMB life*, 71(4), 487–494.
<https://doi.org/10.1002/iub.1976>

Li, Y. Q., & Guo, C. (2021). A review on lactoferrin and central nervous system diseases. *Cells*, 10(7), 1810.

Liao, H., et al. (2019). Protective effect of bovine casein hydrolysates against oxidative stress in endothelial cells. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 4646-4655.

M

Magali H. (2010) Etude des systèmes antioxydants dans le métabolisme et la virulence de *Salmonella typhimurium*. Thèse de doctorat de l'université de la Méditerranée. Aix-Marseille II .30.

Magder, S. (2006). Espèces réactives de l'oxygène : molécules toxiques ou étincelle de vie ? *Soins intensifs*, 10 (1), 1-8.

Matsumoto, H., Shimokawa, Y., Ushida, Y., Toida, T. & Hayasawa, H. (2001). Nouvelle fonction biologique de l' α -lactalbumine bovine : effet protecteur contre les lésions de la muqueuse gastrique induites par l'éthanol et le stress chez le rat. *Bioscience, biotechnologie et biochimie*, 65 (5), 1104-1111.

Werninghaus K , Meydani M , Bhawan J , Margolis R , Blumberg JB , Gilchrest BA. Évaluation de l'effet photoprotecteur de la supplémentation orale en vitamine E. *ArchDermatol*. 1994;130(10):1257-1261.

<https://doi:10.1001/archderm.1994.01690100041005>

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant [Reactive oxygen species and oxidative stress]. *Medecine sciences : M/S*, 27(4), 405–412.

<https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>

Mollea, C., Marmo, L., & Bosco, F. (2013). Valorisation of cheese whey, a by-product from the dairy industry. In *Food industry*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/53159>

Moncada, S., & Higgs, EA (2006). L'oxyde nitrique et l'endothélium vasculaire. *L'endothélium vasculaire I*, 213-254.

Mosbah, S., Boudjenah-Haroun, S., Dahia, M., Boual, Z., & Siboueur, O. (2017). Qualité microbiologie du lait de chamelle (*Camelus dromedaruis*) élevée en système semi intensif dans la localitede Ghardaïa (SUD D'ALGERIE).*Revue des BioRessources*,7(2), 43- 52.

N

Nitta, K., & Sugai, S. (1989). The evolution of lysozyme and α -lactalbumin. *European Journal of Biochemistry*, 182(1), 111-118.

P

Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315-424.

Patel, D., Pinto, S., & Pal, M. A (2022). Comprehensive Review on the Properties of Camel Milk and Milk Products. *culture*, 6(2), 200-207.

Permyakov, E. A., Yarmolenko, V. V., Kalinichenko, L. P., Morozova, L. A., & Burstein, E. A. (1981). Liaison du calcium à l' α -lactalbumine : réarrangement structurel et évaluation de la constante d'association au moyen de modifications intrinsèques de la fluorescence des protéines. *Communications de recherche biochimique et biophysique*, 100 (1), 191-197.

R

Rahmeh, R., Alomirah, H., Akbar, A., & Sidhu, J. (2019). Composition and properties of camel milk. *Milk production, processing and marketing*. Chapitre (03),43-146. <https://doi.org/10.5772/interchopen.82592>.

Redington, J., Breydo, L., A Almehdar, H., M Redwan, E., & N Uversky, V. (2016). α -Lactalbumin: Of camels and cows. *Protein and peptide letters*, 23(12), 1072-1080.

S

Sboui, A., Khorchani, T., Djegham, M., & Belhadj, O. (2009). Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien ; variation du pH et de l'acidité à différentes températures. *Afrique science : revue internationale des sciences et technologie*, 5(2).

Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biology*, 11, 613-619. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>

Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature reviews Molecular cell biology*, 21(7), 363-383.

Singh, R., Kumar, D., & Singh, R. B. (2017). Camel milk: A potential therapy for diabetes mellitus. *Advances in Dairy Research*, 5(1), 1-7.

Sisein, E. A. (2014). Biochemistry of free radicals and antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, 2(2), 110-118.

Situ, H., & Bobek, LA (2000). Évaluation in vitro du potentiel thérapeutique antifongique de l'histatin-5 salivaire, de deux variantes de l'histatin-5 et du domaine 1 de la mucine salivaire (MUC7). *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*, 44 (6), 1485-1493.

T

Titaouine, M., Mohamdi, H., & Mohamdi, N. (2016). Les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des laits des quatre espèces animales élevées dans la région aride.

<http://depot.umc.edu.dz/handle/123456789/13019>

Tsumbu, CN, Deby-Dupont, G., Tits, M., Angenot, L., Frederich, M., Kohnen, S., ... & Franck, T. (2012). Teneur en polyphénols et activités modulatrices de certains extraits de plantes alimentaires tropicales sur les activités oxydantes des neutrophiles et de la myéloperoxydase. *Journal international des sciences moléculaires*, 13 (1), 628-650.

Y

Yildirim, M., Karatay, S., Erdem, T., Senel, K., Melikoglu, M. A., & Ugur, M. (2019). The effect of selenium supplementation on oxidative stress parameters in patients with rheumatoid arthritis. *Journal of Clinical Medicine Research*, 11(5), 334-338.

Z

Zhong, X., Zhang, X., Liu, L., Zhou, T., Jiang, H., & Liu, Y. (2018). Goat whey protein hydrolysates reduce oxidative stress and inflammatory response in LPS-stimulated RAW264. 7 macrophages. *Journal of Functional Foods*, 41, 151-156.

Annexes

Annexes

1. Les absorbances à 545nm de la 1^{ère} préparation (surnageant)

Les solutions	Absorbances
200µl de α-lactalbumine	0,0222
100µl de α-lactalbumine	0,0258
200µl de lactoferrine	0,0179
100µl de lactoferrine	0,0124
Le témoin	0,0300

2. Les absorbances à 545nm de la 2^{ème} préparation (surnageant)

Les solutions	Sans l'eau glacé (800µl de solution)	Avec l'eau glacé (1,5ml de S. + 3ml E.D)
200µl de lactoferrine ZnSO ₄	0,1154	1,5213
200µl de α-lactalbumine ZnSO ₄	0,0401	1,4139
200µl de lactoferrine CuSO ₄	0,2101	1,2147
200µl de α-lactalbumine CuSO ₄	0,0443	0,4751
Le témoin	0,0613	1,6659

3. Le taux d'hémolyse de la lactoferrine

/	GRs	GRs + lactoferrine
ZnSO ₄	34	7,66
CuSO ₄	23	14
Témoin	3,66	1,19

4. Le taux d'hémolyse de l' α -lactalbumine

/	GRs	GRs + α -lactalbumine
ZnSO ₄	34	2,67
CuSO ₄	23	2,95
Témoin	3,66	1,48

5. L'activité de la catalase (CAT)

/	Absorbance	Concentration H ₂ O ₂
Témoin	0,099	0,15658791
GRs ZnSO ₄	0,0475	0,075
lactoferrine ZnSO ₄	0,214	0,38686424
lactoferrine CuSO ₄	0,047	0,05246296
GRs CuSO ₄	0,0816	0,091
α -lactalbumine ZnSO ₄	0,097	0,1525831
α -lactalbumine CuSO ₄	0,318	0,59511414

6. Teneurs en glutathion réduct (GSH)

/	Absorbance	Concentration (Mm/cm ⁻¹)
Témoin	0,43	0,031
GRs ZnSO ₄	0,00129	0,003
lactoferrine ZnSO ₄	0,285	0,0209
lactoferrine CuSO ₄	0,154	0,0113
GRs CuSO ₄	0,0408	0,003
α -lactalbumine ZnSO ₄	0,237	0,0174
α -lactalbumine CuSO ₄	0,089	0,006

7. Teneurs en protéines totales (PT)

/	Absorbance	Concentration(g/dL)
Témoin	0,036	0,722
GRs ZnSO ₄	0,1356	2,72
lactoferrine ZnSO ₄	0,027	1,335
lactoferrine CuSO ₄	0,034	2,034
GRs CuSO ₄	2,12	2,12
α -lactalbumine ZnSO ₄	0,023	2,55
α -lactalbumine CuSO ₄	0,02	1,25

Standard	Absorbance
Témoin	0,349
lactoferrine ZnSO ₄	0,141
lactoferrine CuSO ₄	0,117
α -lactalbumine ZnSO ₄	0,063
α -lactalbumine CuSO ₄	0,112

7. Teneurs en protéines carbonylées (PC)

/	Absorbance	Concentration (M ⁻¹ .cm ⁻¹)
Témoin	0,025	1,162.10 ⁻³
GRs ZnSO ₄	0,0430	2.10 ⁻³
lactoferrine ZnSO ₄	0,107	4,976.10 ⁻³
lactoferrine CuSO ₄	0,026	1,209.10 ⁻³
GRs CuSO ₄	0,0344	16.10 ⁻⁴
α-lactalbumine ZnSO ₄	0,006	2,790.10 ⁻⁴
α-lactalbumine CuSO ₄	0,005	2,325.10 ⁻⁴

8. Teneurs en malondialdéhyde (MDA)

/	Absorbance	Concentration(Nm/mg)
Témoin	0,035	2,2580.10 ⁻⁴
GRs ZnSO ₄	0,0573	37.10 ⁻⁵
lactoferrine ZnSO ₄	0,022	1,4193.10 ⁻⁴
lactoferrine CuSO ₄	0,014	9,03225.10 ⁻⁵
GRs CuSO ₄	0,0387	25.10 ⁻⁵
α-lactalbumine ZnSO ₄	0,024	1,54838.10 ⁻⁵
α-lactalbumine CuSO ₄	0,014	9,032.10 ⁻⁵

9. Teneurs en l'aspartate aminotransférase (GOT-ASAT)

/	Absorbance	concentration(UI/l)
Témoin	0,016	28
GRs ZnSO ₄	0,0121	21,23
lactoferrine ZnSO ₄	0,003	5,25
lactoferrine CuSO ₄	0,001	1,75
GRs CuSO ₄	0,011	19,28
α-lactalbumine ZnSO ₄	0,009	15,75
α-lactalbumine CuSO ₄	0,001	1,75

10. Teneurs en l'alanine aminotransférase (GPT-ALAT)

/	Absorbance	concentration(UI/l)
Témoin	0,006	10,5
GRs ZnSO ₄	0,0012	2,12
lactoferrine ZnSO ₄	0,005	8,75
lactoferrine CuSO ₄	0,001	1,75
GRs CuSO ₄	0,0014	2,52
α -lactalbumine ZnSO ₄	0,013	22,75
α -lactalbumine CuSO ₄	0,006	10,5