

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABOU BAKR BELKAID TLEMCCEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE PHYSIOPATHOLOGIE ET BIOCHIMIE DE LA
NUTRITION (PPABIONUT)



**MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER
EN BIOLOGIE OPTION PHYSIOPATHOLOGIE CELLULAIRE**

Thème:

**Perturbation de la balance
oxydante/antioxydante chez les femmes
atteintes du syndrome ovarien poly kystique
de la région de Tlemcen**

Présentée par: Mebarki Ibtissem

Soutenu le 08 /06 / 2015 devant le jury:

Présidente : MERZOUK Hafida, Professeur, Université de Tlemcen.

Promotrice : KARAOUZENE Nesrine Samira, Maître de conférences B, Université de Tlemcen

Examinatrice : BOUANANE Samira, Maître de conférences A, Université de Tlemcen

Examinatrice : MALTI Nassima, Maître de conférences B, Université de Tlemcen

Année Universitaire 2014-2015

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord notre Dieu pour ses bienfaits inestimables, de nous avoir permis de terminer nos études ainsi que ce projet dans de bonnes conditions.

Nous adressons nos sincères remerciements à Melle KARAOUZENE Nesrine Samira, Maître de conférences B, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou-Bakr Belkaid de Tlemcen, d'avoir suivi les travaux de recherche dans le cadre de ce mémoire de master. Nous lui exprimons notre profonde gratitude pour tous ses précieux conseils, son aide, son dévouement pour le travail, sa sympathie et toutes les ressources qu'elle a mis à notre disposition. Nous la remercions également pour le temps qu'elle a consacré pour la réalisation de ce mémoire.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à Madame MERZOUK Hafida, Professeur, Université Abou-Bakr Belkaid de Tlemcen, d'avoir accepté de présider ce jury de thèse.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à Madame BOUANANE Samira, Maître de conférences classe A, à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de faire partie de ce jury et examiner notre travail.

Nous remercions Madame MALTI Nassima, Maître de conférences classe B, à l'Université de Tlemcen, pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury. Qu'elle soit assurée de ma sincère reconnaissance.

Nous remercions Madame BERIKSI REGUIG Selma, Doctorante à l'Université Abou-Bakr Belkaid de Tlemcen, pour sa contribution dans l'étude biochimique. Merci de votre aide chaleureuse, veiller trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de notre vive gratitude.

Enfin, nous voulons remercier tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Nous tenons à remercier également tout le personnel du service de Gynécologie Obstétrique de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé Mère-Enfant du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen, et les infirmiers pour leur accueil chaleureux et leur disponibilité lors des prélèvements.



Dédicaces



Plusieurs obstacles auraient été insurmontables sans l'aide du Tout Puissant, le soutien et l'appui dont j'ai bénéficié au cours de l'élaboration de ce travail.

Je remercie ma mère **FATIMA**, qui par dévouement, fidélité, m'a apporté Amour, éducation, et soutien moral, qu'elle trouve dans ce modeste travail le fruit de tant d'années de sacrifice.

Je le dédie aussi à:

- ❖ Mon père, **ABDERRAHMANE** que je l'aime beaucoup, que Dieu lui bénéficie, et j'espère que ce travail va le honorer.
- ❖ Mes frères **MOHAMMED LIMAM, ABDELKADER.**
- ❖ Ma grande mère, mes tantes et mes oncles.
- ❖ Mes cousines **MERIEM, FAYZA, RAFIKA, KHEIRA, MALIKA, FADELA, HALIMA** et tous mes cousins.
- ❖ Mes chers amis **SAIDA, IMAN, FATIMA, HADJA** et **SORAYA.**
- ❖ Toutes personnes qui m'aiment de près ou de loin.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Caractéristiques de la population étudiée	31
---	----

LISTE DES TABLEAUX EN ANNEXE

Tableau A1: Marqueurs du statut oxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	48
Tableau A2: Marqueurs du statut antioxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	48

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Physiologie des ovaires	5
Figure 2 : Développement folliculaire	6
Figure3 : Physiopathogenie du SOPK	10
Figure 4 : Hyperinsulinisme et Hyperandrogénie	11
Figure5 : Cascade radicalaire et les niveaux d'action de certains antioxydants(Enzymes)	16
Figure 6 : Différents antioxydants pour différents compartiments cellulaires	21
Figure 7 : Facteurs intervenant dans l'équilibre de la balance anti/pro-oxydante	25
Figure 8 : Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un stress oxydant primitif ou secondaire	26
Figure 9 : Teneurs plasmatiques en $O_2^{\circ-}$ chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	32
Figure 10 : Teneurs érythrocytaires en $O_2^{\circ-}$ chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	33
Figure 11 : Teneurs érythrocytaires en MDAchez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	34
Figure 12 : Activité de la catalase érythrocytaire chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	36
Figure 13 : Teneurs plasmatiques en vitamine C chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	37

LISTE DES ABREVIATIONS

- ADN:** Acide Désoxyribo Nucléique.
- ALS :** Sclérose latérale amyotrophique.
- ARDS :** Syndrome de détresse respiratoire aigue.
- CoQ10 :** Coenzyme Q10.
- DNID :** Diabète non insulino-dépendant.
- DO:** Densité Optique.
- EOA:** Espèces Oxygénées Activées.
- ERA :** Espèces réactives azotées.
- ERO :** Espèces réactives de l'oxygène.
- FSH:** Follicule Stimulating Hormone.
- GnRH:** Gonadotrophin Releasing Hormone.
- GPX:** Glutathion Peroxydase.
- GSH :** Glutathion réduit.
- GSSG:** Glutathion disulfide.
- H₂O₂:** Peroxyde d'hydrogène.
- IGF-1:** Insulin growth factor-1.
- IGFBP1:** Insulin Growth Factor Binding Protein 1.
- IMC:** Indice de Masse Corporelle.
- LDL:** Low density lipoprotein.
- LH:** Luteinizing Hormone.
- MAP kinases:** Mitogen activated protein kinases.
- MDA Ery:** Malondialdéhyde érythrocytaire.
- MNC:** Cellule mononucléaire.
- NADPH:** Nicotinamide adenine diphosphate réduit.
- NBT:** Nitroblue tetrazolium.
- NO:** Monoxyde d'azote.
- O₂^{•-} Pla :** Anion superoxyde plasmatique.
- O₂^{•-} Ery :** Anion superoxyde érythrocytaire.
- O₂^{•-} :** Anion superoxyde.
- OH:** Radical hydroxyle.
- ONOO⁻ :** Peroxynitrite.
- RL:** Radicaux Libres.

RLO : Radicaux libre oxygénés.

ROOH: Peroxyde lipidique.

ROS: Reactive oxygen species.

RNS: Reactive nitrogen species.

-SH: Groupement thiol.

SHBG: Sex Hormone - Binding Globuline.

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise.

SO: Stress Oxydant.

SOD: Superoxyde dismutases.

SOPK: Syndrome des ovaires polykystiques.

TBA: Acide Thio Barbiturique.

Ti O S₀₄: Titanium Oxyde Sulfate.

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale- α .

TRx: Thiorédoxines.

TRxR : Thiorédoxine réductase.

ϵ : Coefficient d'extinction.

17-HSD: 17- hydroxystéroïde déshydrogénase.

1O₂: Oxygène singulet.

4-HNE: 4-Hydroxynonéal.

8-OHdG:8-hydroxy- 2'-déoxyguanosine.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	3
Physiologie des ovaires	3
Phase folliculaire	4
Ovulation	4
Phase progestative	4
II. Physiopathogénie des ovaires	4
II.1. Définition du syndrome des ovaires polykystiques(SOPK)	4
II.1.1. Description anatomique	7
II.1.2. Définition clinique	7
II.1.3. Définition hormonale	7
II.1.4. Définition échographique	7
II.2. Physiopathogénie du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)	8
II.2.1. Hyperandrogénie	8
II.2.2. Anovulation	8
II.2.3. Syndrome métabolique	9
II.3. SOPK et origine génétique	9
III. Stress oxydatif	12
III.1. Espèces réactive de l'oxygène (ERO)	12
III.1.1. Source de production des ERO	13
III.1.2. Rôle des ERO	13
III.2. Systèmes de défense contre les RLO (radicaux libres oxygénés)	14
III.2.1. Systèmes de défense enzymatiques	14
III.2.1.1. Superoxydedismutase	14
III.2.1.2. Catalase	14
III.2.1.3. Glutathion peroxydase	14
III.2.1.4. Thiorédoxines (TR _x) et thiorédoxine réductase (TR _x R)	15
III.2.2. Systèmes de défense non enzymatiques	15

III.2.2.1. Glutathion	15
III.2.2.2. Acide urique	15
III.2.2.3. Chélateur de métaux	17
III.2.2.4. Coenzyme Q10	17
III.2.2.5. Composés phénoliques	17
III.2.3. Vitamines antioxydantes	17
III.2.3.1. Vitamine C	17
III.2.3.2. Vitamine A, β carotène	18
III.2.3.3. Vitamine E	18
III.2.4. Oligoéléments	18
III.2.4.1. Zinc	19
III.2.4.2. Sélénium	19
III.2.4.3. Manganèse	19
III.2.4.4. Cuivre	20
III.3. Marqueurs biologiques du stress oxydatif	20
III.3.1. Marqueurs de l'oxydation des protéines	20
III.3.2. Marqueurs d'oxydation de l'ADN	20
III.3.3. Marqueurs de la peroxydation lipidique	22
III.4. Facteurs contribuant à augmenter le stress oxydant	22
VI. Stress oxydatif et maladies	22
IV. Stress oxydatif et SOPK	23
MATERIELS ET METHODES	27
I. Population étudiée	27
II. Etude biochimique	27
II.1. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons	27
II.2. Description des méthodes utilisées	28
II.2.1. Marqueurs du statutoxydantchez les femmes témoinset les femmes atteintes du SOPK	28
II.2.1.1. Dosage du MDA érythrocytaire	28
II.2.1.2. Dosage de l'anion superoxyde plasmatique et érythrocytaire	28

II.2.2. Marqueurs du statut antioxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	28
II.2.2.1. Evaluation de l'activité de la catalase érythrocytaire	28
II.2.2.2. Dosage de la vitamine C plasmatique	29
III. Analyse statistique	29
RESULTATS ET INTERPRETATION	30
I. Caractéristiques de la population étudiée	30
II. Marqueurs du statut oxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	30
II. 1. Teneurs plasmatiques en $O_2^{\circ-}$ chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	30
II. 2. Teneurs érythrocytaires en $O_2^{\circ-}$ chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	30
II.3. Teneurs en malondialdéhydes (MDA) érythrocytaires chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	30
III. Marqueurs du statut antioxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	35
III.1. Activité de la catalase érythrocytaire chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	35
III.2. Teneurs plasmatique en vitamine C chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK	35
DISCUSSION	38
CONCLUSION	40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	41
ANNEXE	48

Introduction

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) a été évoqué pour la première dans la littérature médicale moderne par Stein et Leventhal qui, en 1935, décrit sept femmes souffrant d'aménorrhée, l'hirsutisme et une hypertrophie des ovaires avec multiples kystes (Stein et Leventhal, 1935). Il est maintenant reconnu comme un trouble hétérogène et héréditaire affectant les femmes tout au long de leur vie. Le SOPK est caractérisé par une hyperandrogénie, un dysfonctionnement ovulatoire, et des ovaires polykystiques (Sirmans et Pate, 2014).

Des études statistiques ont été établies par Azziz et al. (2000) sur la prévalence des OPK chez 277 femmes, prenant comme critères l'hirsutisme et la dysovulation révèlent une prévalence des OPK de 6% avec des variations de 4.8% chez les femmes Caucasiennes jusqu'à 8% chez les femmes Afro-Américaines. Des valeurs similaires ont été rapportées en Grèce, sur l'île de Lesbos (6.8%) en Espagne (6.5%) ou dans la communauté d'Oxford 8 à 26% (Grigorescu et al., 2007). D'autres auteurs, estiment une prévalence en échographie entre 17% à 22 % de la population générale (Brailly et Young, 2007).

La présentation clinique du SOPK varie largement. Les femmes atteintes du SOPK recherchent souvent des soins pour les troubles menstruels, les manifestations cliniques de l'hyperandrogénisme (Plus de 80% des femmes présentant des symptômes de l'excès d'androgène), et l'infertilité (que 40% des femmes atteintes du SOPK sont infertiles) (Teede et al., 2010).

Le SOPK peut être considéré comme une forme particulière du syndrome métabolique ne touchant que les femmes, d'où le terme "syndrome xx". L'incidence du syndrome métabolique chez les femmes atteintes du SOPK varie de 33% à 46% (Torre et Fernandez, 2007) 50 à 90% des femmes atteintes du SOPK présentent une résistance à l'insulinoresistance et une hyperinsulinémie secondaire favorisant ainsi l'apparition de DNID et des maladies cardiovasculaires (Gonzalez et al., 2006).

En plus des anomalies métaboliques, le stress oxydatif est un facteur important impliqué dans l'apparition de la plupart des pathologies humaines y compris le syndrome des ovaires polykystiques. De nombreux travaux rapportent une augmentation du stress oxydant au cours du SOPK tenant à la fois de l'augmentation des radicaux oxygénés et la diminution des capacités de défense antioxydantes et des taux de vitamines antioxydantes (Defeng et Arthur, 2003 ; kurdogluet al., 2012).

La relation entre le stress oxydatif et le SOPK peut être expliqué par une perturbation de la fonction reproductive altérant l'ovulation, la folliculogénèse, la stéroïdogénèse et conduisant à l'infertilité qui représente le signe majeur du syndrome (Ruder et al., 2008). Le stress oxydatif

Introduction

touche l'ensemble des tissus et des métabolismes et cause des dégâts souvent irréversibles pour la cellule, mutation de l'ADN, destruction des protéines ou oxydation des lipides et du glucose (Pincemail, 2004).

Afin d'évaluer l'importance du stress oxydatif au cours du SOPK, nous avons réalisé cette étude qui porte sur un échantillon de 22 femmes de la région de Tlemcen. Pour cela nous avons dosé deux paramètres oxydants (malondialdéhyde et anion superoxyde) et deux marqueurs antioxydants (activité de la catalase érythrocytaire et vitamine C) chez les femmes atteintes du SOPK et les femmes témoins.

Synthèse bibliographique

I. Physiologie des ovaires

Les ovaires sont des petites billes de 4 centimètres de longueur, de 2 centimètre de largeur et de 1 centimètre d'épaisseur. Ils sont situés de part et d'autre de l'utérus et leur face interne correspond au pavillon de la trompe. Des ligaments les relient aux organes voisins (utérus et trompes), mais ils restent mobiles.

Un ovaire est composé de 2 couches de tissu : au centre la partie médullaire contient les vaisseaux sanguins assurant l'irrigation ; à la périphérie, la partie corticale, qui occupe les deux tiers de la glande, contient à la naissance tous les follicules qui assureront au cours de chaque cycle menstruel la maturation d'un ovocyte et l'expulsion d'un ovule, gamète femelle de la reproduction (Figure1)(Caron et al.,2009).

Les ovaires ont une double fonction : d'une part, ils secrètent des hormones sexuelles féminines (œstrogène et progestérone), d'autre part, ils assurent la fonction de reproduction (maturation des follicules) et libération d'un ovule mûr tous les mois de la puberté à la ménopause (Hazard, 2000).

Le cycle génital féminin comporte 2 phases : la première folliculaire (œstrogénique), la deuxième phase lutéale (progestative) (Hazard, 2000).

Phase folliculaire

Pendant une période de durée variable généralement de 14 jours, l'ovaire a pour rôle de sélectionner un follicule, et de le conduire à sa maturation complète pour l'ovulation. Les follicules : sont de petites structures sacciformes enfouies dans le tissu conjonctif très vascularisé du cortex de l'ovaire. Chaque follicule est formé d'un œuf immature, appelé ovocyte (Figure2) (Marieb, 1999).

La phase folliculaire se divise en 3 parties :

a-Phase de recrutement : de 1^{er} au 5^{ème} jour, caractérisé par la croissance de quelques follicules primordiaux qui seront recrutés selon le nombre de récepteur de la FSH.

b-Phase de sélection : du 6^{ème} au 10^{ème} jour, un des follicules recrutés va se transformer en follicule de Graaf qui contient l'ovocyte mature destiné à l'ovulation.

Synthèse bibliographique

c-Phase de dominance : du 10^{ème} jour jusqu'à l'ovulation. La taille de follicule de Graaf augmente et atteint 20 à 25 mm causant une différenciation de la couche externe en deux parties. La thèque externe qui forme une enveloppe et la thèque interne qui est sécrétoire (Hazard, 2000).

Ovulation

Ensemble des processus de croissance et de maturation fonctionnelle subis par les follicules ovariens, afin d'obtenir un ovocyte apte à la fécondation et au développement lors de chaque cycle ovarien. Ce mécanisme est sous le contrôle des hormones hypothalamo-hypophysaires; GnRH, FSH et LH (Maiter, 2001).

Phase progestative

Après l'ovulation, le corps jaune se forme dans la cicatrice du follicule, si une grossesse survient, le corps jaune persiste et continue à produire la progestérone nécessaire au maintien de la grossesse ou il s'atrophie si l'ovule n'est pas fécondé (Hazard, 2000).

II. Physiopathogénie des ovaires

L'ovaire qui représente l'organe sexuel noble de la femme peut être le siège de plusieurs pathologies, parmi ces pathologies, le syndrome des ovaires polykystiques.

II. 1. Définition du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)

Le syndrome des ovaires polykystiques est un trouble hétérogène qui affecte 5 à 10% des femmes en âge de procréer. C'est un trouble qui affecte les fonctions reproductives, endocriniennes et métaboliques et représente la principale cause de l'anovulation chronique conduisant à l'infertilité (Varalakshmi et al., 2014).

Récemment, un groupe de travail international (consensus de Rotterdam) a proposé ce syndrome comme l'association d'au moins deux des critères suivants (Torre et Fernandez, 2007).

- Oligoanovulation ou anovulation (en pratique, oligoménorrhée ou aménorrhée).
- Taux élevés d'androgènes circulants (hyperandrogénémie) et/ou des manifestations cliniques d'excès d'androgènes (hyperandrogénisme).

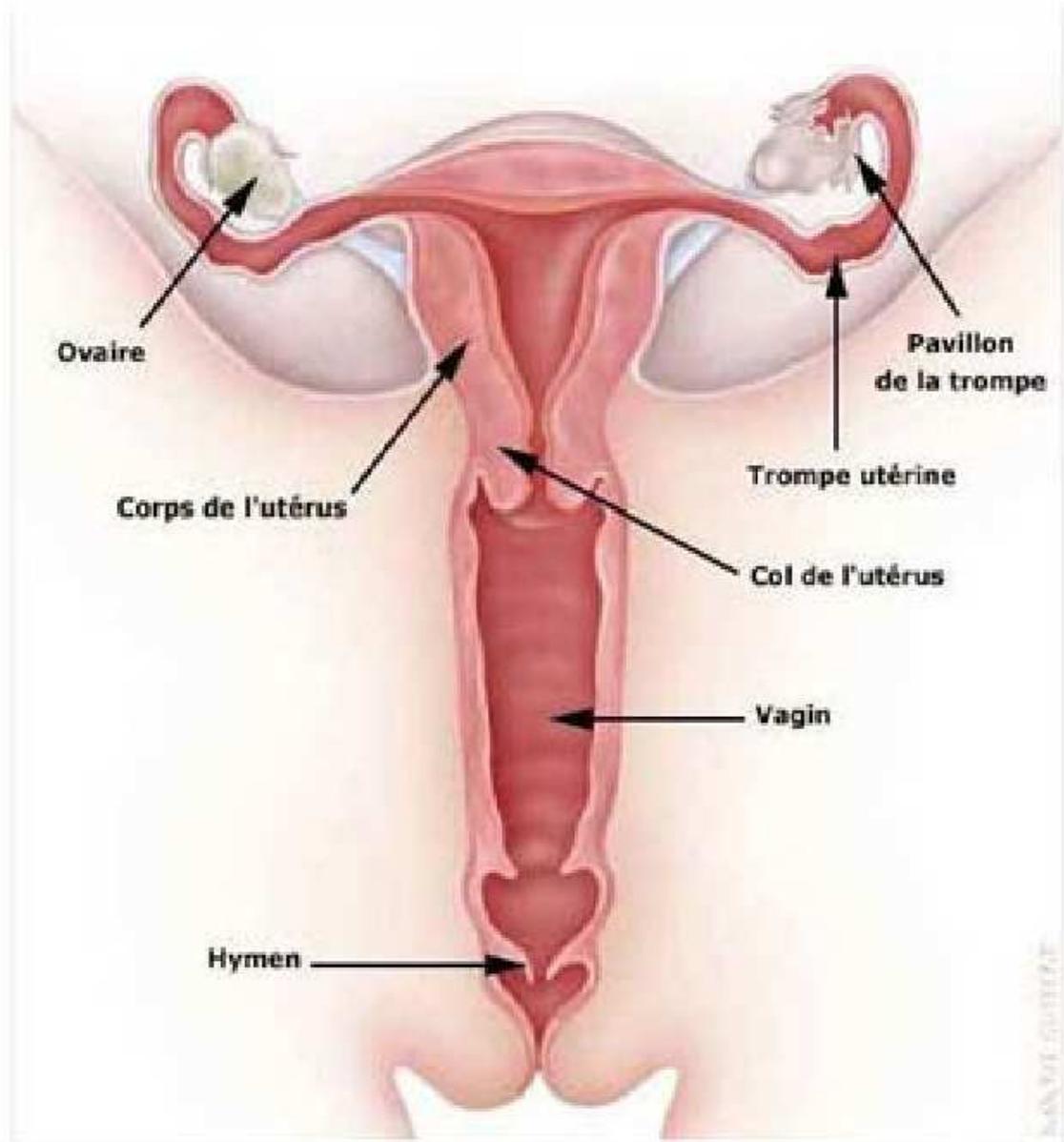


Figure 1 : Physiologie des ovaires (Caron et al., 2009)

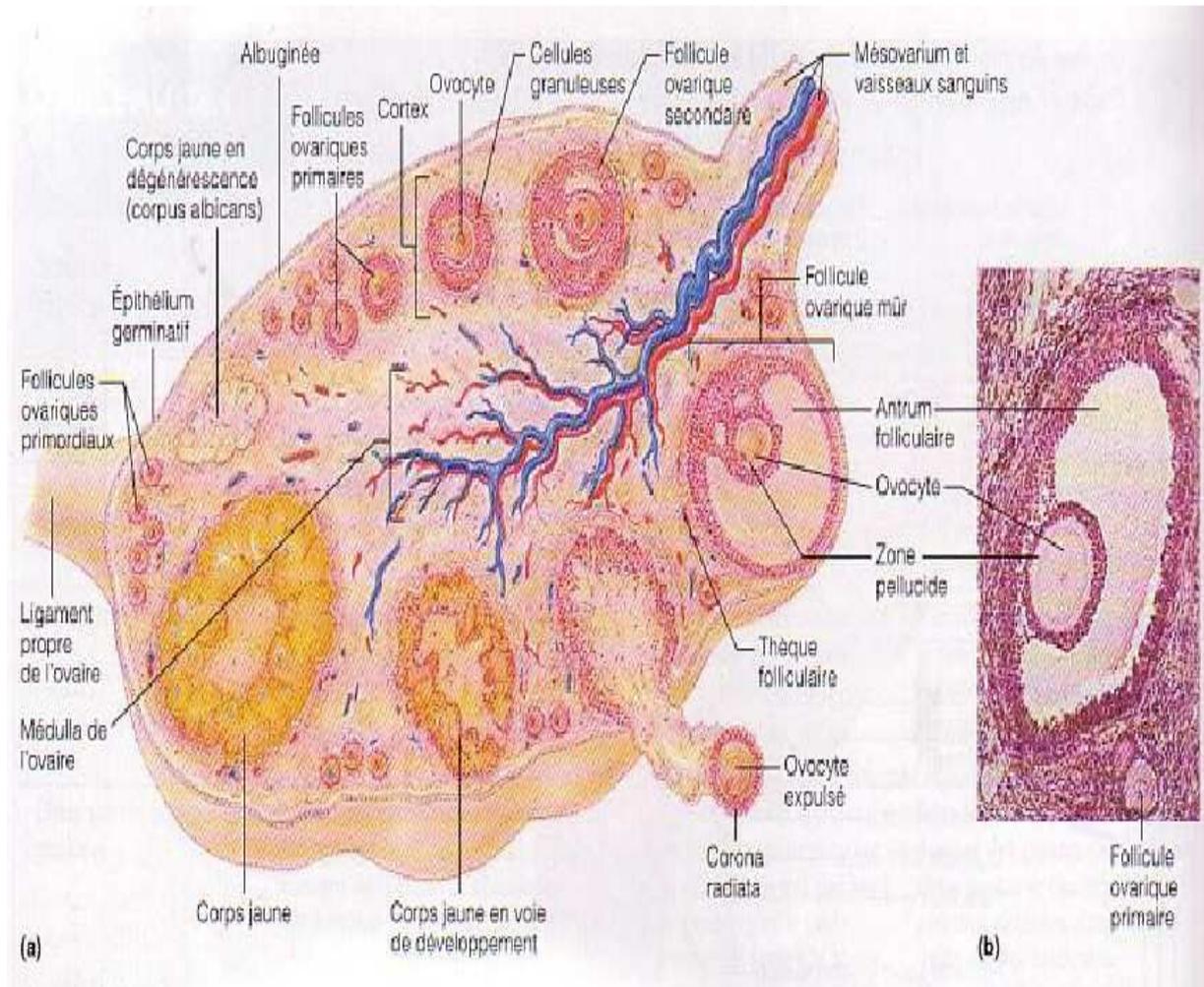


Figure 2: Développement folliculaire

(a) Structure d'un ovaire;

(b) Photomicrographie d'un follicule ovarique mûr (Marieb, 1999).

Synthèse bibliographique

- Ovaire polykystique à l'échographie (plus de 12 follicules de 2 à 9 mm de diamètre sur au moins un ovaire (Torre et Fernandez, 2007).

II.1.1.Description anatomique

Gros ovaires lisses, porcelainés, avec un épaissement de la corticale, sans trace d'ovulation. Sous cette coque fibreuse, on retrouvait histologiquement un grand nombre de follicules de petite taille, décrits comme des microkystes et empêchés dans leur maturation terminale gonadotrophino-dépendante jusqu'au follicule ovulatoire, d'où l'anovulation (Blank et al., 2006).

Il existe plusieurs types de définitions du syndrome des ovaires polykystiques; clinique, hormonale et échographique.

II.1.2.Définition clinique

Le syndrome de Stein-Leventhal se manifeste par plusieurs signes y compris : le diabète de type 2, l'obésité, l'apnée de sommeil, l'infertilité, les troubles des règles et l'hirsutisme qui sont à la base d'une grande partie de la symptomatologie clinique (Torre et Fernandez, 2007).

II.1.3.Définition hormonale

Le syndrome ovarien polykystique est caractérisé par un déséquilibre des gonadotrophines plasmatiques dont le rapport LH/FSH est élevé de façon significative avec un excès de la LH circulante(Dewailly et al., 2010). Cet excès provoque une hyperandrogenie, ce qui va entraîner une maturation folliculaire aberrante. Ainsi qu'une baisse de la SHBG; protéine vecteur de la testostérone et de l'œstradiol plasmatique (Croteau et Bérubé, 2011).

II.1.1.Définition échographique

- Présence d'au moins 12 follicules mesurant 2à9mm de diamètre dans chaque ovaire.
- Volume ovarien augmenté à plus de 10ml.
- Densification du stroma au niveau du hile ovarien (Dewailly et al., 2010).

Synthèse bibliographique

II.2. Physiopathogénie du syndrome des ovaires polykystiques(SOPK)

L'éventail des anomalies rencontrées dans un SOPK ne peut être expliqué par une cause unique, mais la plupart des études mettent en évidence que l'hyperandrogénie d'origine ovarienne, l'anovulation et le syndrome métabolique sont les principaux acteurs du mécanisme physiopathologique du SOPK (Dewailly, 2000) (Figure3).

II.2.1. Hyperandrogénie

En réponse à la LH, la thèque synthétise des androgènes. La biosynthèse des androgènes requiert le cytochrome P-450 c17, enzyme aux activités 17 hydroxylase et 17-20 lyase nécessaire pour synthétiser l'androstènedione. Cet androgène est alors converti par la 17 hydroxysteroid-déshydrogénase (17-HSD) en testostérone ou est aromatisé par l'aromatase(cytochrome P-450 arom) pour former l'estrone. Les études in vivo comme in vitro suggèrent que la thèque des femmes atteintes du SOPK convertirait plus facilement les précurseurs androgènes en testostérone que la thèque des femmes normales, ce qui expliquerait en partie l'hyperandrogénie. L'explication moléculaire du phénomène pourrait impliquer une altération de la voie des *mitogen-activatedprotein* (MAP) kinases des cellules de la thèque (Nelson-Degrave et al. 2005).La LH contrôle la synthèse d'androgène des cellules de la thèque alors que la FSH induit l'activité aromatase des cellules de la granulosa. Quand la sécrétion de LH augmente par rapport à la FSH, les ovaires synthétisent préférentiellement des androgènes. Or, la fréquence de libération de l'hormone gonadolibérante hypothalamique (GnRH) détermine, en partie, la proportion relative de LH et de FSH synthétisée par l'antéhypophyse : plus la fréquence de libération de GnRH est grande plus la synthèse de LH est favorisée au détriment de la FSH (Brailly et Young, 2007). Il semble que les femmes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques aient une fréquence accrue de libération de LH (et donc de GnRH), ce qui contribuerait aussi à l'hyperandrogénie (Brailly et Young, 2007).

II.2.2. Anovulation

L'anovulation constitue l'un des trois piliers du SOPK (Dewailly, 2000). Elle résulte généralement d'un excès d'androgènes qui va empêcher l'apoptose des cellules de la granulosa

Synthèse bibliographique

ce qui induirait une résistance à la dégénérescence (Jonard et Dewailly, 2004). Cette résistance serait responsables de l'accumulation de petits follicules, la perturbation de la croissance de ces follicules induit un trouble de sélection d'un follicule dominant, ainsi que l'acquisition trop précoce des récepteurs à la LH sur les cellules de la thèque d'ovaires de SOPK pourrait y contribuer en altérant la maturation folliculaire (Dewailly, 2000).

II.2.3 Syndrome métabolique

Le SOPK peut être considéré comme une forme particulière du syndrome métabolique ne touchant que les femmes, car les femmes atteintes de cette maladie ont un risque de développer des troubles métaboliques semblables à ceux rencontrés dans ce syndrome (Glueck et al., 2003). Ces troubles se manifestent par une intolérance au glucose, obésité androïde, dyslipidémie, hypertension artérielle et des maladies cardiovasculaires (Ehrmann, 2002). L'insulinorésistance est la pierre d'angle de la physiopathologie de ces deux syndromes (Ehrmann et al., 2006). Une altération de la voie de signalisation de l'insuline semble être présente dans l'adipocyte et le muscle squelettique, tissu cible de l'action de l'insuline (Dunaif et al., 2001). Cette résistance s'accompagne d'une hyper insulinémie, qui stimule la sécrétion des androgènes en provoquant une forte baisse du taux sérique de la SHBG qui va augmenter le taux sérique de la testostérone "libre" (Goodarzi et al., 2005) ou en stimulant l'activité du système enzymatique cytochrome P450 CYP17 α (Wichenheisser et al., 2004; Christin-Maitre, 2005) (Figure 4).

II.3. SOPK et origine génétique

Plusieurs arguments suggèrent que le syndrome des ovaires poly kystiques pourrait être héréditaire (Azziz, 2000). Parmi les gènes impliqués dans la physiopathologie du SOPK on peut citer le cytochrome P-450 c17 (CYP17), l'enzyme de clivage de la chaîne latérale du cholestérol (CYP11A SSC), la 21 hydroxylase (CYP21), le récepteur aux androgènes, la SHBG, le récepteur à l'insuline, l'insuline, les protéines substrats du récepteur de l'insuline, la calpaïne-10, les PPAR, l'IGF et son récepteur (Carmina, 2003 ; Roldan et al., 2004).

Synthèse bibliographique

La piste la plus sérieuse concerne le locus situé sur le chromosome 19p13.3, proche du gène du récepteur de l'insuline. Ce locus représente un facteur contributif important pour expliquer une concentration plasmatique anormalement élevée de testostérone. Une variante de ce gène

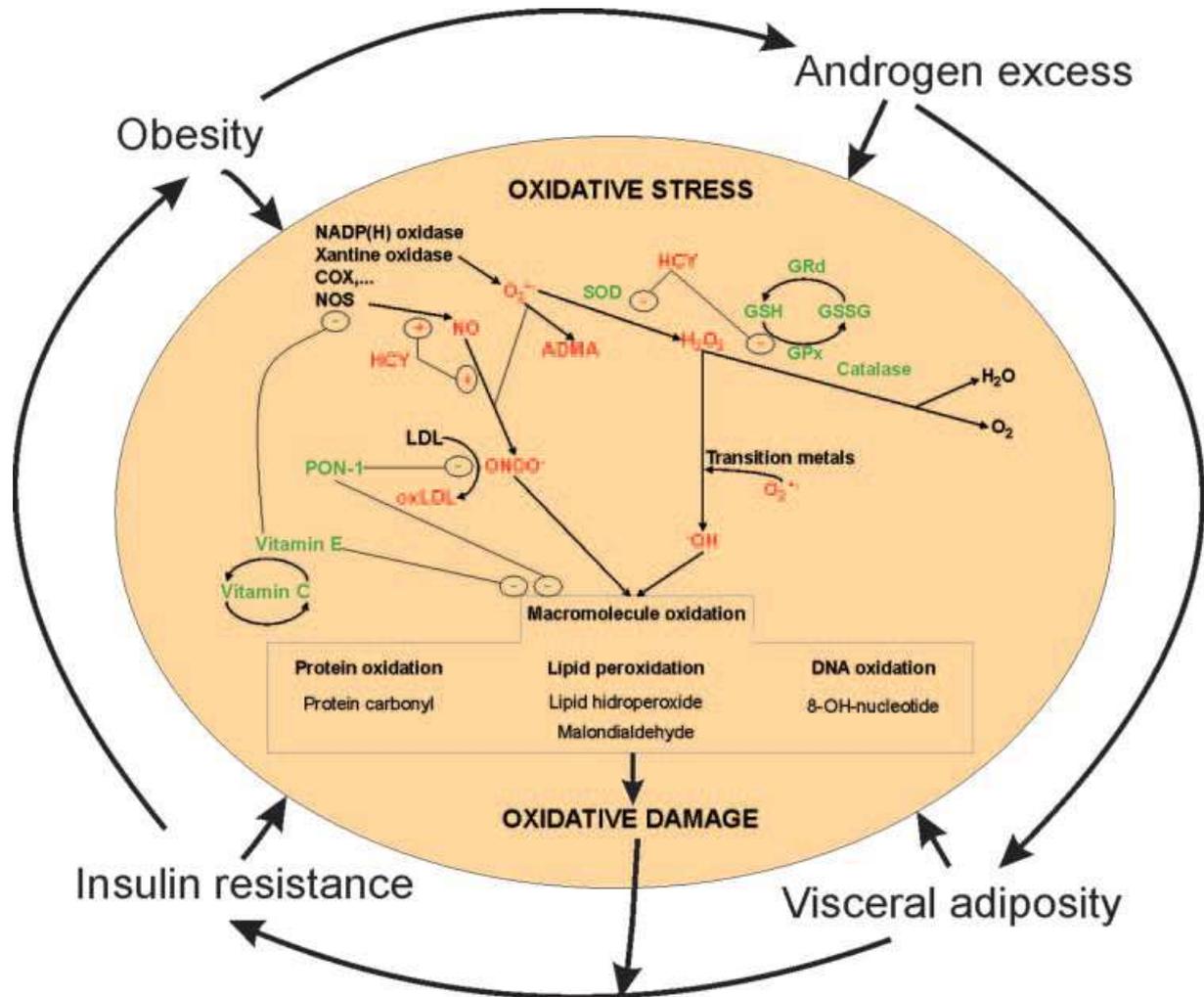


Figure3 : Physiopathogenie du SOPK (Murri et al., 2013)

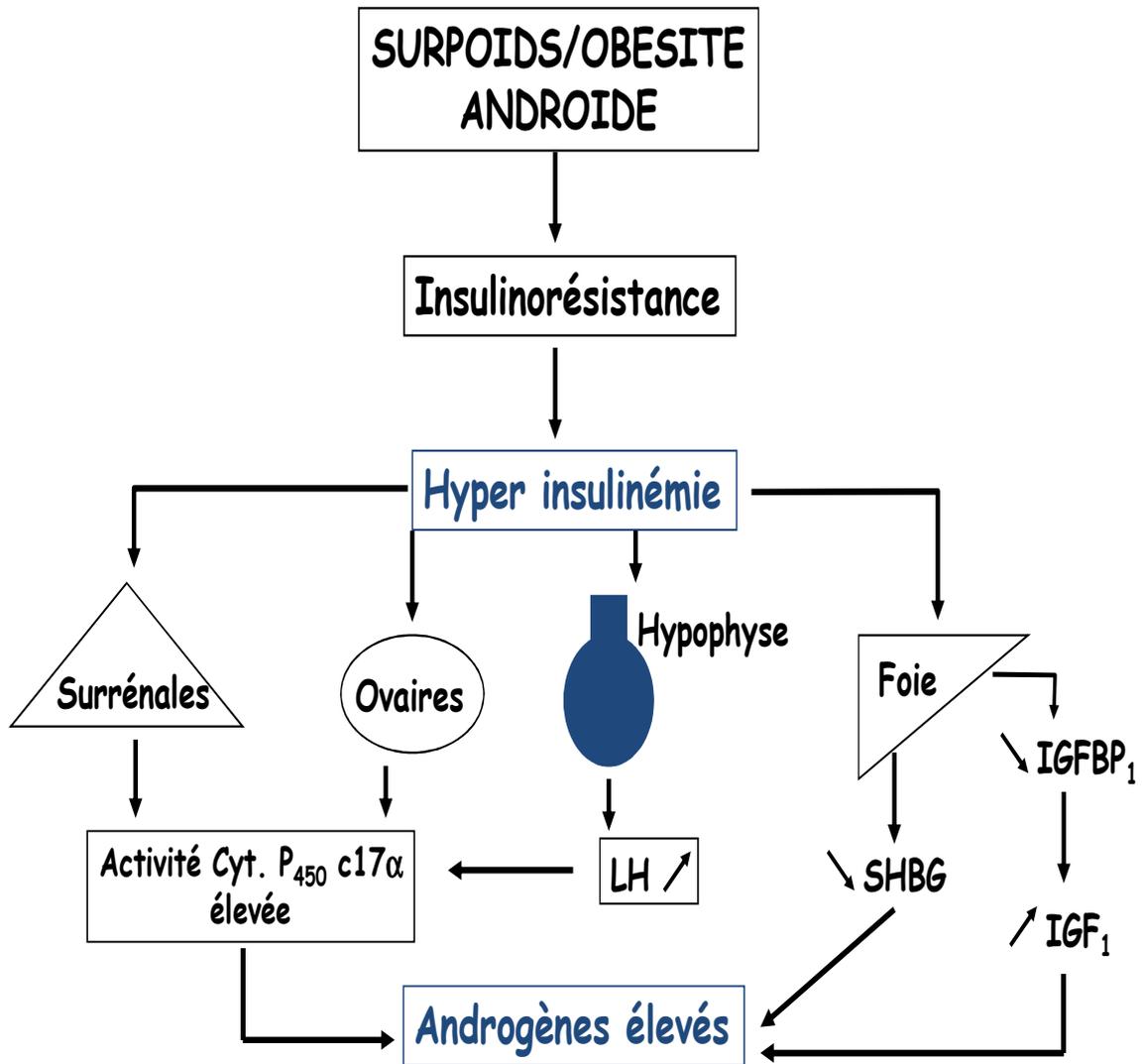


Figure 4: Hyperinsulinisme et Hyperandrogénie (Christin-Maitre, 2005)

Synthèse bibliographique

pourrait prédisposer au phénotype thécal responsable de l'hyperandrogénie (Amato et Simpson, 2004; Mason et al., 2008).

III. Stress oxydatif

Le stress oxydant correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, induite soit par production excessive de radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante (Haleng et al., 2007), reconnu comme une altération de l'homéostasie redox cellulaire (Favier, 2003), il touche l'ensemble des tissus et des métabolismes et de ce fait participe à un grand nombre de pathologies (inflammation, maladies cardiovasculaires, cancers) (Favier, 1997).

Donc, le stress oxydatif, au sens strict, est un déséquilibre profond de la balance entre le niveau de production des prooxydants et les capacités antioxydants de la cellule (Haleng et al., 2007) avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule, mutation de l'ADN, destruction des protéines ou oxydation des lipides et du glucose (Pincemail, 2004).

Par réduction mono électronique, l'oxygène donne naissance à des espèces réactives de l'oxygène (ERO) parmi les quelles figurent les radicaux libres (Pincemail et al., 1999).

III.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

En condition physiologique, l'oxygène, élément indispensable à la vie, produit en permanence au niveau de la mitochondrie des espèces oxygénées activées (EOA) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire. Ces EOA, dont font partie les radicaux libres, sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, glucose,...)(Pincemail, 2004).

On distingue deux classes d'ERO:

* Dérivés radicalaires oxygènes (et azotés)

Les ERO se composent de radicaux libres (RL) centrés sur l'oxygène ou l'azote (Victor et al., 2009). Un radical libre est une espèce chimique, neutre ou chargée caractérisée par un

Synthèse bibliographique

électron libre dit « célibataire » sur son orbitale externe (Favier, 1997). Il est formé par la rupture homolytique d'une liaison covalente ou d'un transfert d'électron (Favier, 1997).

Les dérivés radicalaires sont: l'anion superoxyde $O_2^{\circ-}$, les radicaux hydroxyles HO° , les peroxydes ROO° , les alkoxydes RO° et l'oxyde nitrique $^{\circ}NO$ (Myara, 2005).

* Dérivés non radicalaires

Les ERO incluent également d'autres espèces oxygénées qui ne sont pas des radicaux libres, mais qui sont toutes aussi réactives et même très toxiques il s'agit du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , d'hydroperoxyde $ROOH$, d'oxygène singulet 1O_2 , de l'anion peroxynitrite $ONOO^-$ et de l'hypochlorite ClO^- (Russo et Garbaarino, 2008).

III.1.1. Sources de production des espèces réactives de l'oxygène

La production des ERO est un phénomène permanent au sein de la matière vivante. La chaîne respiratoire mitochondriale, les leucocytes, la xanthine oxydase / xanthine déshydrogénase, la NADPH oxydase, et la NO synthase sont les principaux sources biologiques des radicaux libres (Souchard et al., 2002; Ventura- Clapier et al., 2002) .

En plus des réactions chimiques et enzymatiques, les espèces réactives peuvent être générées par des agents physiques comme les rayonnements, la fumée du tabac et les métaux (Barouki, 2006).

III.1.2. Rôles d'ERO

Les ERO ont un rôle physiologique important en agissant à faible concentration comme des messagers secondaires capables :

- De réguler le phénomène d'apoptose qui est un suicide programmé des cellules évoluant vers un état cancéreux (Curtin et al., 2002).
- D'activer des facteurs de transcription (NF κ B, p38-MAP kinase, ...) eux mêmes responsables de l'activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire (Owuor et al., 2002).
- De moduler l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes antioxydantes (Holgrem, 2003).
- De détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires)

(Levesque, 2006).

- Le monoxyde d'azote joue un rôle primordial dans de nombreux processus physiologiques tels que la vasodilatation et la neurotransmission (Edeas, 2005), il possède une action anti-inflammatoire par son activité inhibitrice de l'activation et l'adhésion des leucocytes à l'endothélium, c'est un antioxydant capable de piéger certains radicaux libres (Souchard et al., 2002).

Par contre, l'excès de production des espèces activées entraîne des effets néfastes en induisant la peroxydation des lipides, le vieillissement des protéines et l'altération de l'ADN (Valko et al., 2006).

III.2. Systèmes de défense contre les RLO (Radicaux Libres Oxygénés)

III.2.1. Systèmes de défense enzymatiques (Figure 5)

III.2.1.1. Superoxyde dismutases

Les superoxyde dismutases (SOD's) constituent la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène. Elles catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , selon la réaction suivante : $2O_2^{\circ} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
La SOD combat le vieillissement des tissus et favorise leur régénération (Levesque, 2006).

Il existe trois types de SOD selon leur localisation : une SOD cytoplasmique dimérique à cuivre et zinc, une SOD extracellulaire à cuivre et zinc et une SOD mitochondriale tétramérique à manganèse (Pincemail, 2004).

III.2.1.2. Catalases

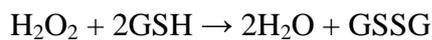
Elles sont présentes dans les peroxysomes, le cytosol, le foie et les érythrocytes.

Les catalases sont des enzymes qui permettent de transformer le peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau. Elles sont composées de quatre sous-unités protéiques d'environ 500 acides aminés, chacune contenant un groupe hémique avec Fe^{3+} lié au site actif (Souchard et al., 2002).

III.2.1.3. Glutathion peroxydases

Synthèse bibliographique

Les glutathion peroxydases (GPx) sont des enzymes tétramériques à sélénium cytoplasmiques et mitochondriales. La GPx a besoin du glutathion et du sélénium pour fonctionner correctement. Son rôle principal est d'une part, d'éliminer les peroxydes lipidiques résultant de l'effet du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés et d'autre part, de réduire le peroxyde d'hydrogène en eau en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion réduit /glutathion oxydé (GSH/GSSG) (Souhard et al., 2002 ; Negre-Salvayre et Salvayre, 2005).



III.2.1.4. Thiorédoxines (TRx) et Thiorédoxine réductase (TRxR)

Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH). Elles jouent aussi un rôle important dans la régulation du système immunitaire (Moran et al., 2001; Hattori et al., 2003). Les TRx sont localisées dans le cytosol, les mitochondries, les peroxysomes, associées au noyau et aux membranes. Une fois oxydée, la thiorédoxine est réduite par la thiorédoxine réductase (TRxR) qui est une enzyme possédant un groupement séléncystéine dans son site actif. La TRxR intervient aussi dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Pincemail, 2004).

III.2.2. Systèmes de défense non enzymatiques (Figure 6)

III.2.2.1. Glutathion

Le glutathion est un tri peptide qui sous la forme réduite (GSH) agit comme antioxydant. Les fonctions du GSH incluent le maintien des thiols des protéines, ainsi que le maintien de certains composés sous leur forme réduite comme les vitamines C ou E. Le GSH est un composé piègeur pouvant réagir avec l'hydroxyle ou un peroxyde pour donner un radical thiol (GS°) pouvant lui-même réagir avec l' O_2 et entraîner une série de réactions à fin de stopper la réaction radicalaire (Souhard et al., 2002).

Le glutathion joue également un rôle dans l'expression de gènes codant pour des protéines pro – et anti – inflammatoires et dans la défense immunitaire (Birben et al., 2012).

III.2.2.2 Acide urique

Il constitue l'antioxydant plasmatique le plus efficace en terme de réactivité avec les EOA (Paula et al., 2008) .C'est le produit terminal majeur du métabolisme des purines.

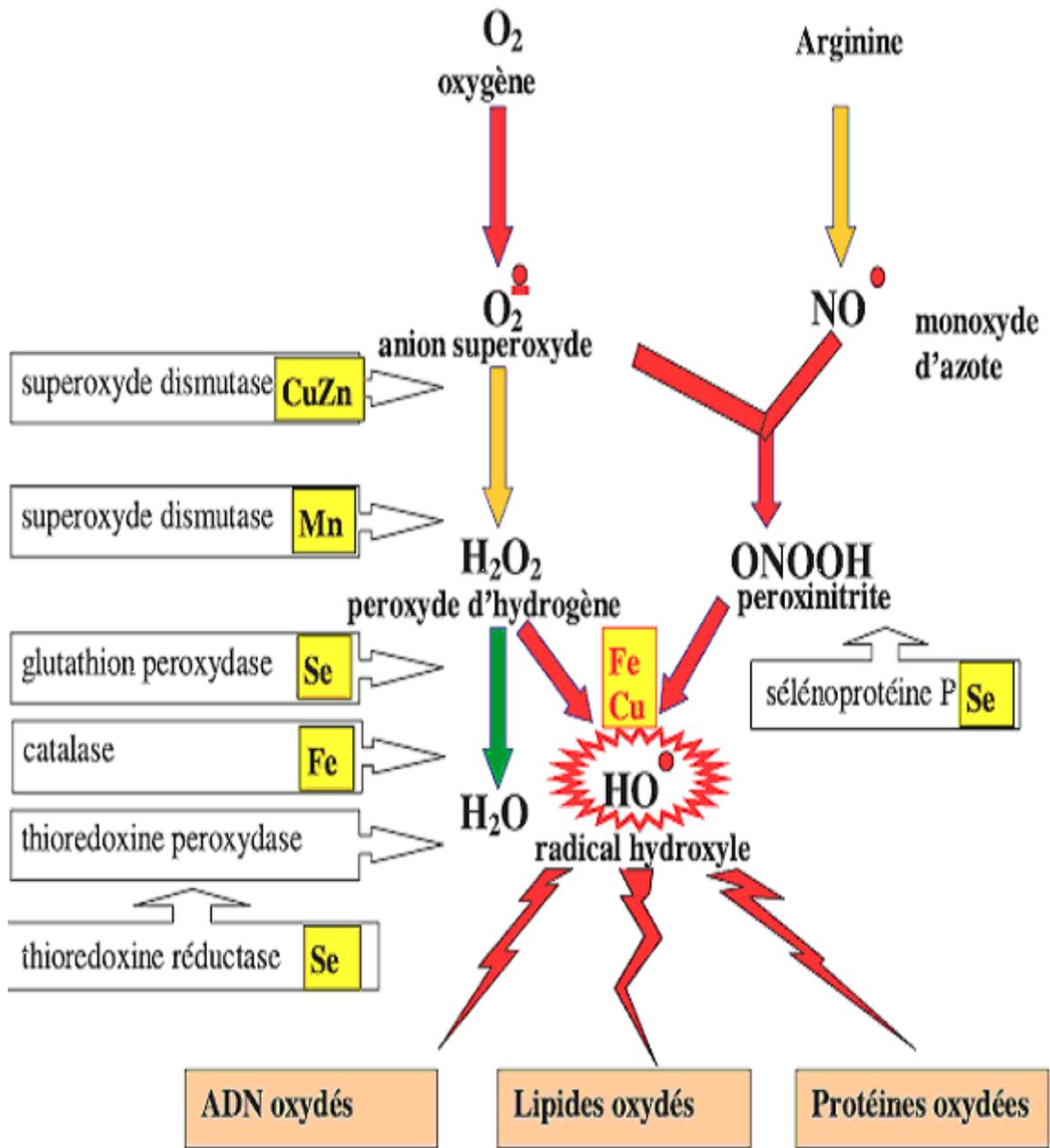


Figure5: Cascade radicalaire et les niveaux d'action de certains antioxydants (Enzymes) (Favier, 2003)

Synthèse bibliographique

L'acide urique possède une fonction de piègeur importante vis-à-vis de certains composés très réactifs, comme l'oxygène singlet, les radicaux peroxydes et tout particulièrement avec le radical hydroxyle, ainsi que l'acide hypochloreux produit par la myéloperoxydase (Souhard et al., 2002).

III.2.2.3. Chélateurs de métaux

Les métaux de transition comme le fer ou le cuivre sont souvent impliqués dans de nombreuses réactions radicalaires, considérés comme antioxydants car en formant de complexes avec certaines molécules (transferrine, ceruloplasmine, lactoferrine, la ferritine, mévallothionéine,...), ces métaux inhibent les réactions de Fenton et de Haber-Weiss, évitant la formation du radical hydroxyle très réactif (Souhard, 2002; Pincemail, 2004).

III.2.2.4. Coenzyme Q10

L'ubiquinone ou CoQ10 est bien connu pour son rôle vital dans la production d'énergie au niveau de la mitochondrie (Pincemail, 2004). Présent dans toutes les cellules animales et végétales, il est un des transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale. Le CoQ10, principalement sous sa forme réduite ubiquinol – 10 ou CoQ10H₂, possède aussi des propriétés antioxydantes intéressantes puisque, tout comme la vitamine E, il est capable d'inhiber la peroxydation lipidique (Pincemail, 2004; Birben et al., 2012).

III.2.2.5. Composés phénoliques

Les polyphénols regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, ce sont des antioxydants qui empêchent de l'oxydation des LDL et ont un effet antiathérogène (Hennebelle et al., 2004).

III.2.3. Vitamines antioxydantes (Figure 6)

III.2.3.1. Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble présente surtout dans les fruits, les légumes frais et crus. Elle est détruite par la chaleur et au contact de l'oxygène (Gorin et al., 2006).

Synthèse bibliographique

L'équilibre réversible: acide ascorbique \leftrightarrow acide déhydroascorbique explique son rôle de transporteur d'ions H^+ . Elle est indispensable à la synthèse du collagène. Elle facilite l'absorption du fer en le réduisant à l'état ferreux. .

La vitamine C est un excellent piègeur des EOA qui peut protéger divers substrats biologiques de l'oxydation (ADN, protéine et LDL). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Chen et al., 2000 ; Majerus et al., 2009).

III.2.3.2. Vitamine A, β -carotène

La vitamine A est l'une des 600 caroténoïdes que l'on trouve dans la nature. Apportée par les aliments d'origine végétale (Gorin et al., 2006). Elle dérive du β -carotène par hydrolyse de la double liaison médiane et formation d'une fonction alcool. Vu sa liposolubilité, elle est absorbée avec les lipides des repas puis être estérifiée par le foie. Elle joue rôle primordial dans la perception visuelle et intervient dans la synthèse des stéroïdes sexuels. Vu sa structure, la vitamine A réagit avec les radicaux peroxydes empêchant l'oxydation de plusieurs substrats biologiques dont les acides gras polyinsaturés (Pincemail, 2004 ; Birben et al., 2012).

III.2.3.3. Vitamine E

L' α -tocophérol ou la vitamine E est la forme la plus active de la classe des tocophérols dont les radicaux tocophéryles sont régénérés par la vitamine C. Elle se trouve dans les huiles végétales mais aussi dans le lait et ses dérivés (beurre, fromage), les œufs, les noix, les germes de céréales et les fruits oléagineux (Gorin et al., 2006).

Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant (Birben et al., 2012)

III.2.4. Oligoéléments

Les oligoéléments sont des minéraux présentent en faible quantité dans l'organisme. Ils agissent comme des cofacteurs nécessaires à l'activité des enzymes antioxydantes.

III.2.4.1.Zinc

Le zinc est un oligo-élément présent dans toutes les cellules. Il est indispensable au bon fonctionnement du programme génétique et joue un rôle dans la multiplication cellulaire, la stabilité des membranes, la fertilité, la maturation fœtale, le développement intellectuel, l'immunité et la cicatrisation. C'est un cofacteur de la superoxyde dismutase. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes comme les métallothionéines, il protège également les groupements thiols des protéines et inhibe partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre. La concentration normale plasmatique du Zinc est 0.7 à 1.2mg/l (Birben et al., 2012).

III.2.4.2.Sélénium

Le sélénium est un minéral essentiel à la protection de l'organisme: il est constitutif de la glutathion peroxydase. Il joue aussi un rôle essentiel dans le fonctionnement du système immunitaire et de la glande thyroïde (Huret, 2004). Son effet antioxydant se traduit par la détoxification des radicaux libres sur l'ADN dont la dégradation serait responsable de la genèse de certaines maladies cancéreuses (Gorin et al., 2006).

La concentration normale plasmatique du sélénium est 94 à 130mg/l (Birben et al., 2012).

III.2.4.3. Manganèse

Le Manganèse (Mn) est un cofacteur de la SOD mitochondriale. C'est un oligoélément indispensable qui aide à l'utilisation des glucides et des lipides par l'organisme (Negre-Salvayre et Salvayre, 2005). Additivement à son rôle dans la croissance des os, la bonne santé des dents et gencives, le manganèse participe à la dépollution de l'organisme et la lutte contre l'oxydation et les radicaux libres (Pincemail, 2004).

La concentration normale plasmatique du manganèse est 2 à 3mg/l (Birben et al., 2012).

III.2.4.4. Cuivre

Le cuivre est un cofacteur de la superoxyde dismutase cytosolique, il intervient dans la synthèse de mélanine et le métabolisme du fer, ainsi que dans l'entretien des cartilages et des os. Il est également essentiel dans la lutte contre les infections et les radicaux libres et est indispensable au bon fonctionnement du cœur.

Un excès en cuivre pourra donc refléter la présence d'un stress oxydatif (Pincemail, 2004).

La concentration normale plasmatique du cuivre est 0.7 à 1.4mg/l.

III.3. Marqueurs biologiques du stress oxydatif

III.3.1. Marqueurs de l'oxydation des protéines

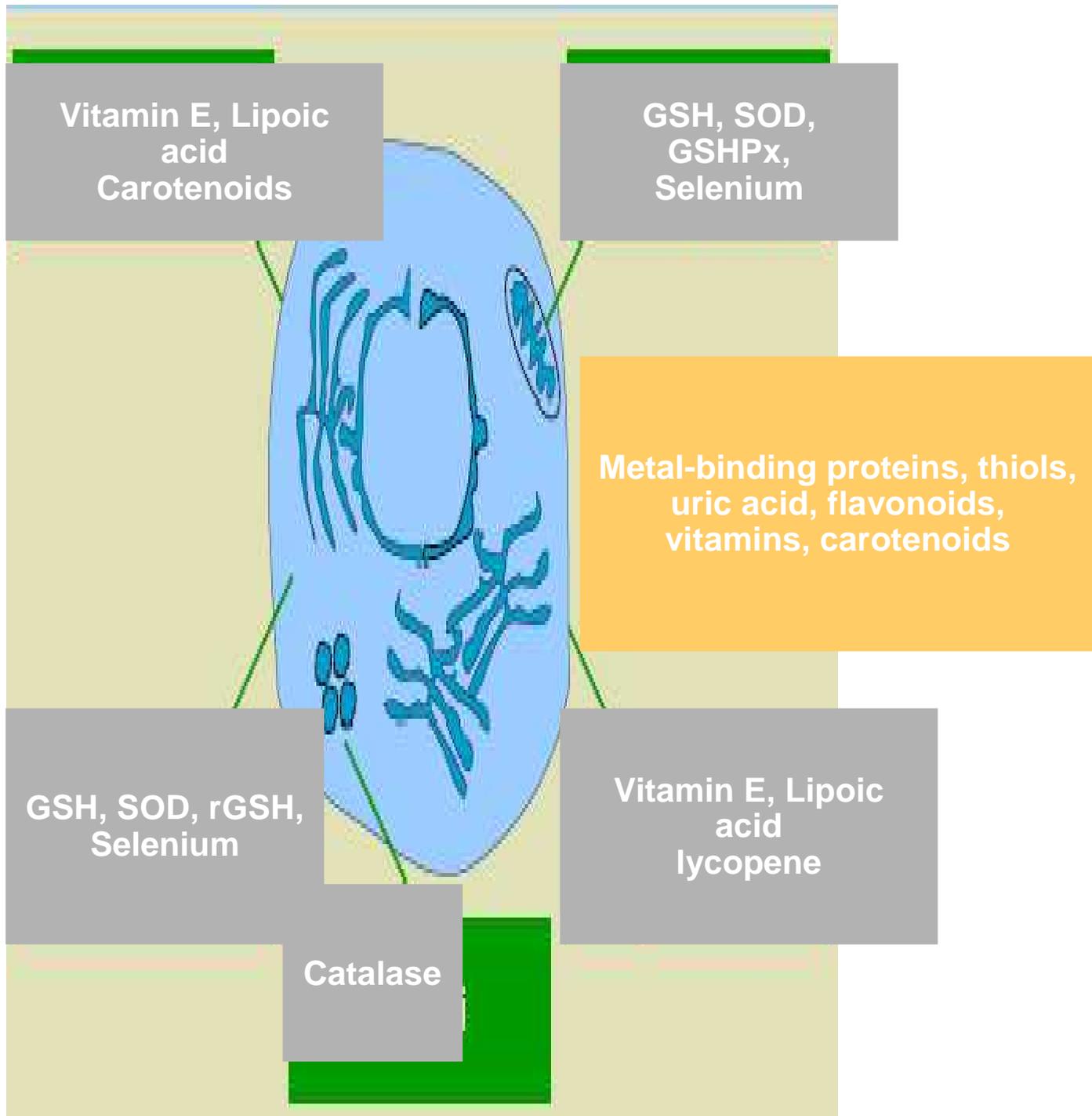
Les modifications des structures des protéines par les EOA sont à la base de la formation de protéines oxydées via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés, conduisant généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (Levine, 2002).

Les deux principaux marqueurs biologiques de l'oxydation des protéines sont la formation de carbonyles protéinés et de groupes nitrotyrosines. Les carbonyles protéinés sont formés lorsque les espèces réactives à l'oxygène attaquent les résidus d'acides aminés. Histidine, proline, arginine et lysine, tandis que la formation de nitrotyrosines est due au peroxy-nitrite hautement toxique, produit par la réaction de l'oxyde nitrique et de superoxyde (Alamovitch et al., 2007).

III.3.2. Marqueurs d'oxydation de l'ADN

Comme les protéines, l'ADN est vulnérable aux dégâts oxydatifs. La plupart de ces dégâts sur l'ADN sont ainsi corrigés sans créer de maladie. Ces dégâts peuvent résulter en des cassures de brins, des enchaînements croisés protéines-ADN et des modifications de bases.

Le marqueur biologique de l'oxydation de l'ADN le plus largement utilisé est la détection de bases modifiées dont la base la plus étudiée est la 8-hydroxy- 2'-désoxyguanosine (8-OHdG) qui est formée à partir de l'attaque des radicaux hydroxyles sur la désoxyguanosine (Pincemail, 1997).



Synthèse bibliographique

Figure6: Différents antioxydants pour différents compartiments cellulaires (Negre-Salvayreet Salvayre, 2005)

Synthèse bibliographique

Une autre forme de dommage sur ADN résulte de l'ajout des aldéhydes issus de la peroxydation lipidique (dont le MDA et le 4-HNE) au groupe amine des bases de l'ADN (Blair, 2001).

III.3.3. Marqueurs de la peroxydation lipidique

L'oxydation des lipoprotéines est l'un des nombreux indices de stress oxydatif. Les acides gras polyinsaturés sont les cibles des radicaux libres, ils se transforment en peroxydes lipidiques (ROOH). Sous l'action de métaux de transition (fer, cuivre), les peroxydes lipidiques se décomposent ensuite en aldéhydes et hydrocarbures (Pincemail et al., 1999). Les principaux marqueurs de l'oxydation lipidique sont le malondialdéhyde (MDA), les diènes conjugués, les hydroperoxydes lipidiques, le 4-hydroxynonanal (4-HNE) et les isoprostanes (Guichardant et al., 2006).

III.4. Facteurs contribuant à augmenter le stress oxydant (Figure 7)

Plusieurs facteurs biochimiques et enzymatiques peuvent être à l'origine d'une production accrue d'EOA :

- Altération de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie.
- Activation des globules blancs sous l'action d'agents étrangers.
- Activation de la xanthine oxydase et l'oxydation de l'hémoglobine.
- L'environnement dans lequel nous vivons et notre mode de vie sont aussi à l'origine d'une augmentation du stress oxydant.
- Exposition prolongée au soleil et aux radiations.
- Contacts avec des agents cancérigènes (amiante).
- Tabagisme et consommation excessive d'alcool.
- Inflammation chronique.
- Alimentation déséquilibrée pauvre en fruits et légumes (Pincemail, 2004).

IV. Stress oxydatif et maladies (Figure 8)

Plusieurs études mettant en évidence le stress oxydant comme un des facteurs responsables de certaines pathologies à cause de la relation étroite entre l'altération des systèmes de défense

Synthèse bibliographique

antioxydants et le développement de plus de 200 pathophysiologies différentes allant de l'athérosclérose au cancer en passant par le SIDA, les maladies inflammatoires, le diabète et le vieillissement. C'est pour cette raison que la détermination du statut de stress oxydant d'un individu devient actuellement un sujet de priorité en terme de prévention de maladies (Pincemail, 2004).

V. Stress oxydatif et SOPK

Le stress oxydant est impliqué dans la plupart des grandes pathologies. De nombreux études prouvent que les femmes atteintes du SOPK ont souvent une résistance à l'insuline (González, 2006). L'hyperglycémie joue un rôle dans l'inflammation par la production de facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) à partir de cellules mononucléaires (MNC). Ces MNC produisent également des EOA entraînant des dommages cellulaires activant ainsi le facteur nucléaire-kB, un facteur de transcription proinflammatoire qui favorise la transcription de TNF- α , un médiateur connu de résistance à l'insuline.

Le stress oxydatif augmente la production d'androgène chez les femmes atteintes de SOPK (González, 2006). Cependant, des études expérimentales récentes suggèrent qu'un excès d'androgènes chez ces femmes augmente la génération leucocytaire des EOA, l'expression du gène de p47phox et TBARS plasmatiques d'où le promouvoir du stress oxydatif dans la présence de l'hyperglycémie chez les femmes maigres en bonne santé. Ainsi dans le SOPK, l'hyperandrogénie peut être l'ancêtre du stress oxydatif induite par l'alimentation indépendante de l'obésité ou de l'excès d'adiposité abdominale (González et al., 2012). Ceci pourrait expliquer la présence d'un stress oxydant, même en absence de l'obésité chez les femmes atteintes de SOPK.

Dans le SOPK, le stress oxydatif joue un rôle important dans la perturbation des phénomènes reproductives chez la femme en altérant la stéroïdogénèse; ce qui contribue à l'hyperandrogénie, en arrêtant le développement des follicules et par la suite l'ovulation et en provoquant l'infertilité (Lee et al., 2010).

SO et folliculogénèse: Lors du développement des follicules, il se produit une génération des EOR tel que le H₂O₂. Cette espèce réactive est dégradée par la catalase. Lorsqu' il y'a une défaillance du système de défense antioxydant, le SOPK peut s'installer (Ruder et al., 2008).

Synthèse bibliographique

SO et stéroïdogénèse: Le H_2O_2 est responsable d'une surproduction des androgènes. Si son taux augmente par réduction de l'activité des enzymes érythrocytaires, le SOPK peut s'installer (Ruder et al., 2008).

SO et ovulation : De nombreuses études suggèrent que le stress oxydatif peut entraîner l'anovulation par la peroxydation des lipides et l'oxydation de l'ADN mitochondriale (Chao et al., 2005).

SO et fertilité : Lors de la fécondation, l'augmentation de la production des antioxydants, en particulier la SOD inhibe l'activité des EOA. Mais un déséquilibre entre cette production et le taux de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) peut affecter la fusion des gamètes et provoque une infertilité (Ruder et al., 2008; Lee et al., 2010).

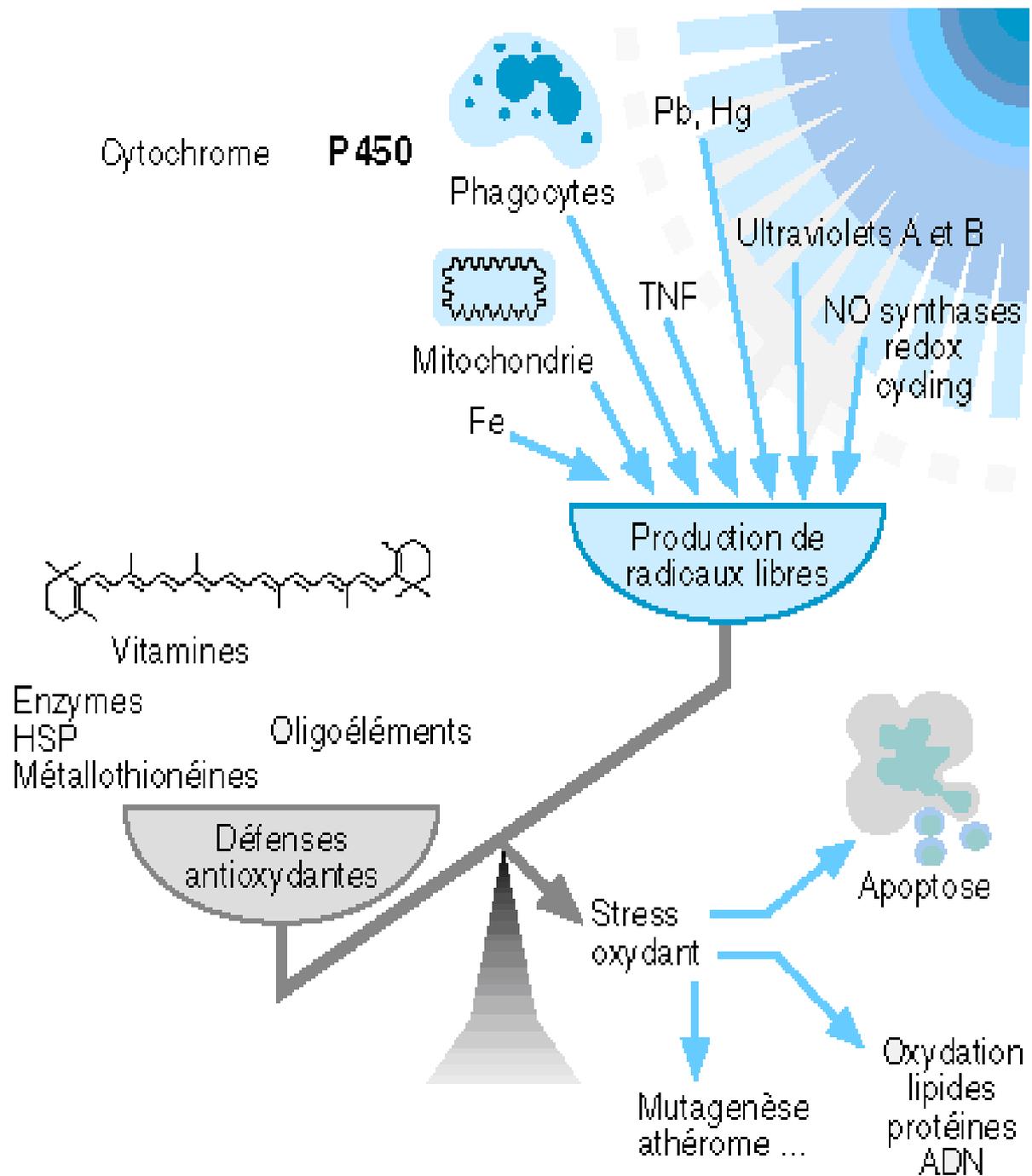


Figure7 : Facteurs intervenant dans l'équilibre de la balance anti/pro-oxydante. TNF: facteur nécrosant des tumeurs; HSP: protéines du choc thermique (Favier, 1997)

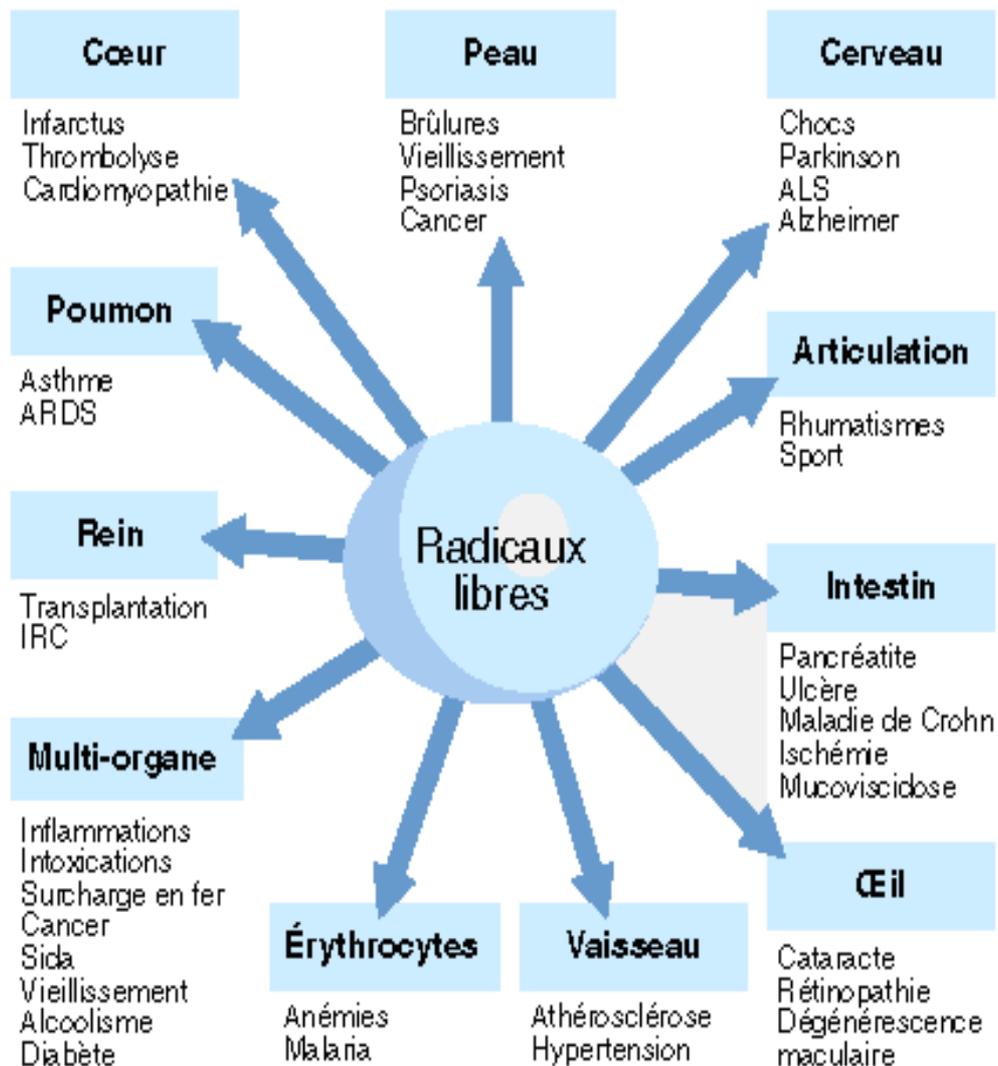


Figure 8: Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un stress oxydant primitif ou secondaire (Favier, 1997)

ARDS: Syndrome de détresse respiratoire aiguë; **sida:** Syndrome d'immunodéficience acquise; **ALS:** Sclérose latérale amyotrophique.

I. Population étudiée

Notre travail est réalisé dans le laboratoire de Physiologie Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition (PPABIONUT) au sein du département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université ABOU-BAKR BELKAID, TLEMCEM. Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau du service de Gynécologie Obstétrique de l'Établissement Hospitalier Spécialisé Mère-Enfant du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen.

Notre étude a porté sur une population de 22 femmes, dont 10 atteintes du syndrome des ovaires polykystiques dont le diagnostic est confirmé par un examen échographique des ovaires et un dosage des hormones gonadotrophines (LH/FSH supérieur 1) et 12 femmes témoins (en bonne santé et exemptes de pathologies) toutes âgées entre 25 et 29 ans.

Le but de notre travail est soigneusement expliqué à toutes les personnes volontaires et leurs consentements écrits sont obtenus préalablement (formulaire de consentement donné en annexe).

Dans un premier temps, l'âge, le poids et la taille de chaque patiente et témoin sont notés. Ensuite, l'IMC (Indice de Masse Corporelle) est calculé en divisant le poids par la taille au carré (Kg/m^2).

II. Etude biochimique

II.1. Prélèvements sanguins et Préparation des échantillons

Les prélèvements se font le matin à jeûn au niveau de la veine du pli du coude.

10 ml de sang sont recueillis dans deux tubes EDTA ou citraté préalablement étiquetés et numérotés pour chaque patiente.

Après centrifugation à 3000 tours / min pendant 10 minutes à température ambiante, le plasma est séparé du culot ; ce plasma sert à la détermination des marqueurs du stress oxydatif plasmatiques. Le culot restant est lavé avec l'eau physiologique, les érythrocytes sont lysés par addition d'eau distillée glacée. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 4000 tours / min pendant 10 minutes. Le lysat érythrocytaire est ensuite récupéré afin de doser les paramètres du statut oxydant / antioxydant érythrocytaires.

Remarque

Le dosage de la vitamine C et de l' O_2^- se font le jour même du prélèvement.

Les échantillons ont été stockés dans le congélateur pendant une période assez courte (Inférieure à un mois) afin d'éviter la dénaturation des protéines et l'oxydation des lipides.

II.2. Description des méthodes utilisées

II.2.1. Marqueurs du statutoxydantchez les femmes témoinset les femmes atteintes du SOPK

II.2.1.1. Dosage du malondialdéhyde (MDA) érythrocytaire

Les taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau du lysat érythrocytaire sont déterminés par la méthode biochimique selon Nourooz-Zadeh et al. (1996).

Le MDA est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage.

Après traitement acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique de couleur rose et /ou jaune consistant en deux molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à 532 nm. La concentration en MDA érythrocytaire, exprimée en $\mu\text{mol} / \text{L}$, analysée sur le lysat, est calculée en utilisant une courbe étalon de MDA ou seulement le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1.56.10^5 \text{ mol}^{-1} .\text{l. cm}^{-1}$).

II.2.1.2.Dosage de l'anion superoxyde plasmatique et érythrocytaire (Auclair et al., 1985)

La méthode est basée sur la réduction de nitrobluetetrazolium (NBT) en monoformazon en présence des radicaux superoxydes. La couleur jaune obtenue est mesurée à 550 nm.

II.2.2. Marqueurs du statut antioxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

II.2.2.1. Evaluation de l'activité de la catalase érythrocytaire

Cette activité enzymatique est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène selon la méthode de Aebi (1974). Le milieu réactionnel contient le lysat érythrocytaire (source de l'enzyme catalase), la solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le réactif de coloration titanium oxyde sulfate (Ti O SO_4). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de H_2O_2 restantes en fonction du temps.

La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations en H_2O_2 restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H_2O_2 . L'activité de la catalase est exprimée en U / minutes / mL.

II.2.2.2. Dosage de la vitamine C plasmatique

Les concentrations en vitamine C plasmatiques sont déterminées selon la méthode de Jacota et Dana. (1982) utilisant le réactif de folincicalteau et une gamme étalon d'acide ascorbique. Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (10 %) et centrifugation, le surnageant est incubé en présence du réactif de coloration folincicalteau dilué pendant quinze minutes à 37°C. La vitamine C présente dans le plasma réduit le réactif de folin donnant une coloration jaune. La lecture de l'absorbance est réalisée à une longueur d'onde de 769 nm. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C présente dans l'échantillon. La concentration exprimée en µg / mL est déterminée à partir de la courbe étalon obtenue grâce à une solution d'acide ascorbique.

III. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm Ecart type. La comparaison des moyennes entre femmes témoins et femmes atteintes du SOPK est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance

* $p < 0,05$ différence significative.

** $p < 0,01$ différence très significative.

*** $p < 0,001$ différence hautement significative.

Tous les calculs sont réalisés à l'aide d'un logiciel STATISTICA, version 4.1 (STATSOFT, TULSA, OK).

I. Caractéristiques de la population étudiée (Tableau 1)

Notre population est composée de 12 femmes témoins et 10 femmes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques. Toutes ces patientes étaient atteintes du SOPK selon les critères de Rotterdam et présentaient un hirsutisme et une anovulation. Ainsi, elles ont bénéficié d'une exploration endocrinologique à la suite de laquelle des paramètres hormonaux (FSH, LH et testostérone) ont été recueillis.

Les caractéristiques cliniques de chaque membre de cette population ont été notées ; âge, taille, poids, l'IMC et le diagnostic médical. L'ensemble de ces caractéristiques est résumé dans le Tableau 1.

L'analyse statistique des caractéristiques de la population étudiée montre qu'il n'existe aucune différence significative entre la taille, le poids, l'IMC et l'âge des femmes témoins et celles qui présentent un SOPK.

II. Marqueurs du statut oxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

II. 1. Teneurs plasmatiques en $O_2^{\circ-}$ chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK (Figure 9 et Tableau A1 en annexe)

Les teneurs plasmatiques en $O_2^{\circ-}$ ne varient pas significativement entre les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK.

II. 2. Teneurs érythrocytaires en $O_2^{\circ-}$ chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK (Figure 10 et Tableau A1 en annexe)

Une augmentation hautement significative des teneurs érythrocytaires en $O_2^{\circ-}$ est notée chez les femmes atteintes du SOPK par rapport aux femmes témoins.

II. 3. Teneurs érythrocytaires en MDA chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK (Figure 11 et Tableau A1 en annexe)

Une augmentation très significative des teneurs érythrocytaires en MDA est notée chez les femmes atteintes du SOPK par rapport aux femmes témoins.

Résultats et interprétations

Tableau 1: Caractéristiques de la population étudiée

Caractéristiques	Femmes témoins	Femmes atteintes du SOPK
Nombre	12	10
Age (ans)	24,20±1,99	26,25±1,89
Taille (m)	1,77±0,06	1,66±0,07
Poids (Kg)	72,00±8,63	65,5±12,09
IMC (Kg/m ²)	22,98±2,22	23,76±2,52
Diagnostic médical	-Aucune pathologie endocrinienne -Aucun problème gynécologique	-Hirsutisme -Anovulation

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type. IMC: Indice de masse corporelle; poids/taille² (Kg/m²).

La comparaison des moyennes entre les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK est effectuée par le test " t " de Student après analyse de variance.

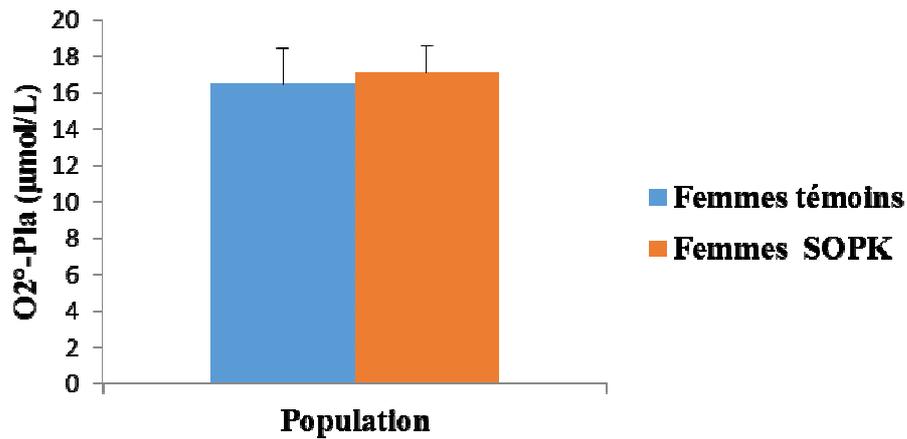


Figure 9 : Teneurs plasmatiques en O₂[°]- chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type ; SOPK : syndrome ovarien poly kystique ; O₂[°]- Pla : anion superoxyde plasmatique. La comparaison des moyennes entre femmes témoins et femmes atteintes du SOPK est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance.

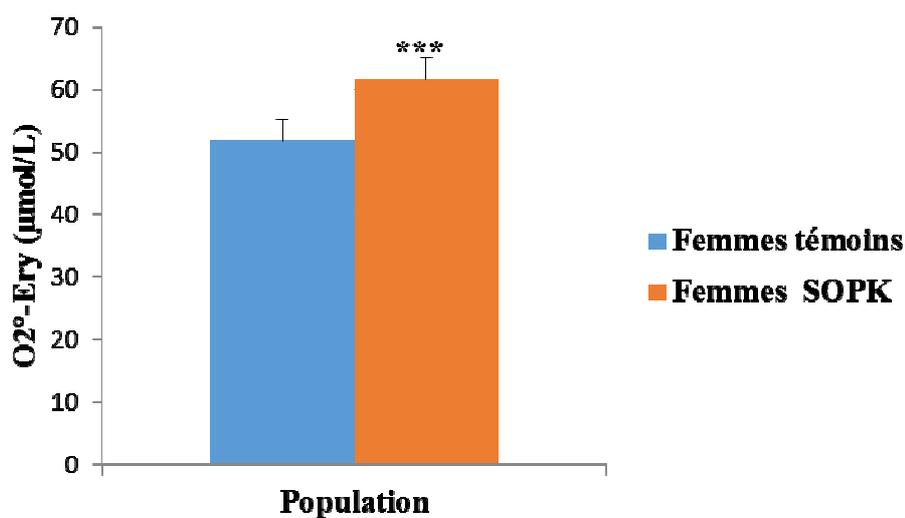


Figure 10 : Teneurs érythrocytaires en O₂[°]- chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type ; SOPK : syndrome ovarien poly kystique ; O₂[°]-Ery : anion superoxyde érythrocytaire. La comparaison des moyennes entre femmes témoins et femmes atteintes du SOPK est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

*** $p < 0,001$ différence hautement significative.

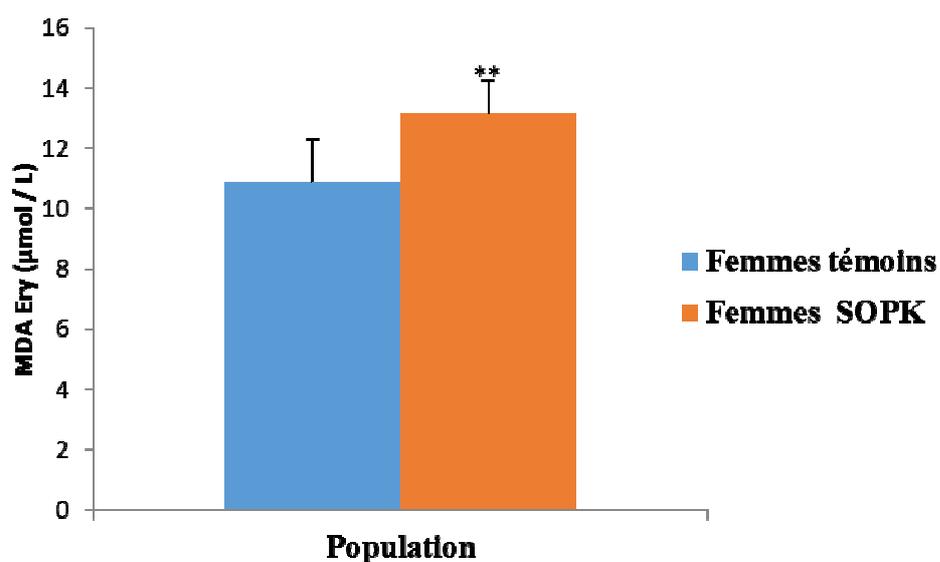


Figure 11 : Teneurs érythrocytaires en MDA chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type ; SOPK : syndrome ovarien poly kystique ; MDA Ery: malondialdéhyde érythrocytaire. La comparaison des moyennes entre femmes témoins et femmes atteintes du SOPK est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

** $p < 0,01$ différence très significative.

III. Marqueurs du statut antioxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

III. 1. Activité de la catalase érythrocytaire chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK (Figure 12 et Tableau A2 en annexe)

Une diminution très significative de l'activité de la catalase érythrocytaire est notée chez les femmes atteintes du SOPK par rapport aux femmes témoins.

III. 2. Teneurs plasmatiques en vitamine C chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK (Figure 13 et Tableau A2 en annexe)

Une diminution hautement significative des teneurs plasmatiques en vitamine C est notée chez les femmes atteintes du SOPK par rapport aux femmes témoins.

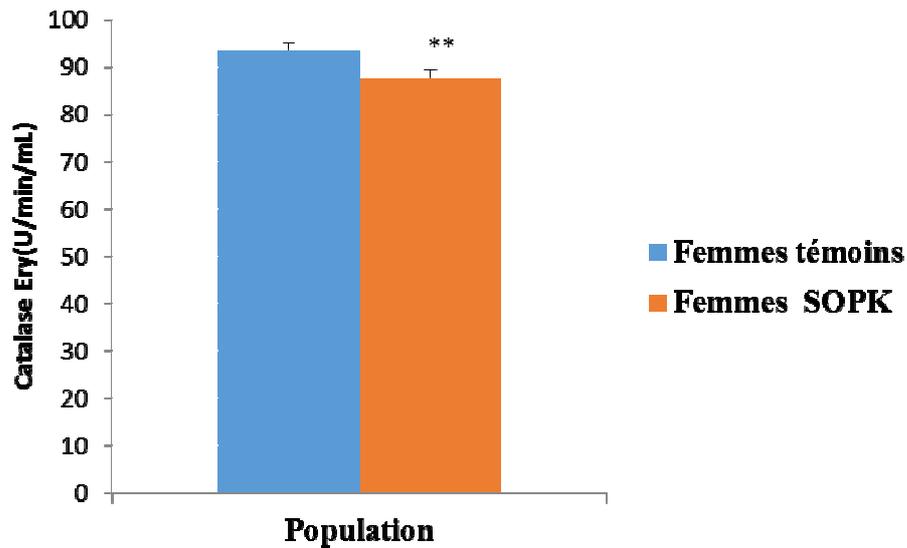


Figure 12: Activité de la catalase érythrocytaire chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type ; SOPK : syndrome ovarien poly kystique ; Ery : érythrocytaire. La comparaison des moyennes entre femmes témoins et femmes atteintes du SOPK est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

** $p < 0,01$ différence très significative.

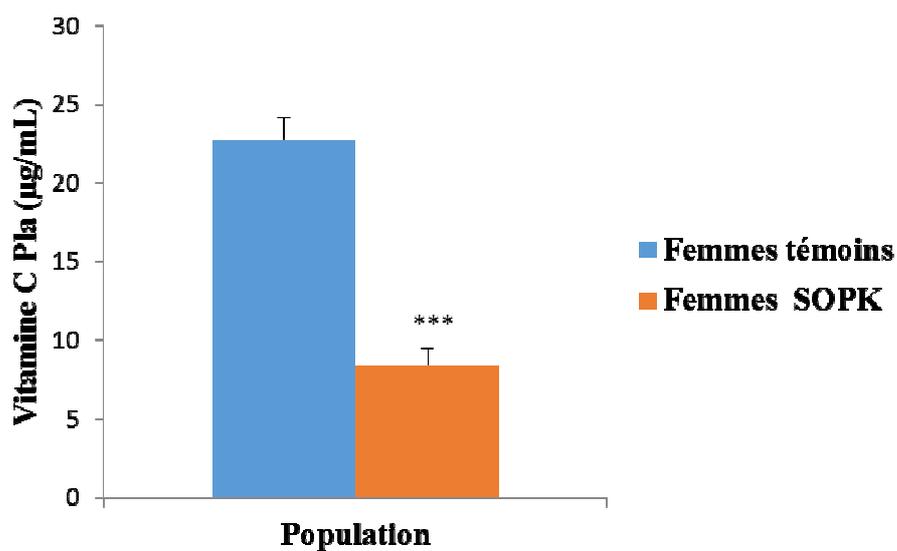


Figure 13: Teneurs plasmatiques en vitamine C chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type ; SOPK : syndrome ovarien poly kystique ; Pla : plasmatique. La comparaison des moyennes entre femmes témoins et femmes atteintes du SOPK est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

*** $p < 0,001$ différence hautement significative.

Discussion

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est une affection fréquente chez la femme en période d'activité génitale qui peut toucher au moins 5 % des femmes (Ehrmann, 2005). Il ne s'agit pas seulement de perturbations gynécologiques mais aussi d'un syndrome associant des anomalies endocriniennes et métaboliques aux conséquences immédiates (hirsutisme, infertilité) et tardives (Lefebvre et al., 2004). Le SOPK est un syndrome aggravant de l'insulinorésistance et accentue le risque de diabète type 2 et de maladies cardiovasculaires.

De nombreuses études ont montré une augmentation du stress oxydatif chez les femmes atteintes du SOPK. (Escobar Morreale et al., 2005).

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre de la balance redox dérivé de la formation excessive d'oxydants en présence de défenses antioxydantes limitées (Turrens, 2003).

Une surproduction des radicaux libres et des oxydants génèrent un processus délétère qui peut sérieusement altérer les membranes cellulaires et d'autres structures telles que les protéines, les lipides, les lipoprotéines, et l'acide désoxyribonucléique (ADN) (Droge, 2002). Le stress oxydatif peut survenir lorsque les cellules ne peuvent pas détruire adéquatement l'excès de radicaux libres formés. En d'autres termes, c'est le résultat d'un déséquilibre entre la formation et la neutralisation des ROS / RNS, qui peut induire une variété de maladies chroniques et dégénératives, ainsi que le processus de vieillissement et de certaines pathologies aiguës.

Le stress oxydatif est considéré comme un facteur important dans le SOPK car il est impliqué dans tous les processus reproductifs de la femme, notamment dans la folliculogénèse, l'ovulation, la stéroïdogénèse et la fertilité (Ruder et al., 2008).

Plusieurs techniques de dosage ont été développées pour évaluer l'état du stress oxydatif dans les différentes pathologies, en revanche, la difficulté de détection des ERO *in vivo* à cause de leur durée de vie, qui est très courte ainsi que le manque de standardisation des méthodes peuvent compliquer l'interprétation des résultats.

Afin d'évaluer l'importance de la relation entre le SOPK et le stress oxydatif, nous réalisons une étude dans la région de Tlemcen. Cette étude est menée sur un échantillon de 22 femmes, dont 10 atteintes du SOPK et 12 témoins saines. Nous nous sommes intéressés au dosage de quelques marqueurs du statut oxydant (MDA érythrocytaire, anion superoxyde au niveau plasmatique et érythrocytaire) et antioxydant (vitamine C plasmatique et activité de la catalase érythrocytaire) chez les deux populations étudiées.

La peroxydation lipidique représente le premier marqueur du stress oxydatif intra et extracellulaire (Guichardant et al., 2006). Elle se produit par une réaction radicalaire en chaîne causée par un excès de peroxyde d'hydrogène et de radical hydroxyle qui se propage rapidement

Discussion

et affecte un grand nombre de molécules de lipide (Pencemail, 2004).

L'endommagement des lipides entraîne surtout la libération des aldéhydes qui, à fortes concentrations, s'avèrent toxiques pour les cellules (Guichardant et al., 2006). L'aldéhyde le mieux étudié est le malondialdéhyde (MDA).

Le MDA est un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés provoquée par les radicaux libres. Nos résultats montrent une augmentation très significative des teneurs en MDA érythrocytaire chez les femmes atteintes du SOPK comparées aux témoins indiquant l'existence d'un stress oxydatif intracellulaire. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Yilmaz et al. (2005) et par Kusçu et Var (2009).

Par ailleurs, nous avons dosé l'anion superoxyde plasmatique et érythrocytaire, nos résultats ne montrent aucune différence significative en $O_2^{\circ-}$ plasmatique entre les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK. En revanche, les teneurs érythrocytaires sont augmentées significativement chez les femmes atteintes du SOPK. Le $O_2^{\circ-}$ est un radical libre, l'augmentation de la production de l' $O_2^{\circ-}$ reflète un stress oxydatif évident chez les patientes atteintes du SOPK (Alamovitch et al., 2007).

L'organisme humain possède des systèmes de défenses antioxydants pour se protéger des effets néfastes des radicaux libres, ces systèmes peuvent être des molécules capables de capter rapidement les EOR ou des systèmes enzymatiques qui catalysent la conversion des molécules prooxydantes (Haleng et al., 2007). Ainsi le radical superoxyde est dismuté en H_2O_2 grâce à la SOD, le H_2O_2 est éliminé par la catalase et la glutathion peroxydase.

Nos résultats montrent une diminution très significative de l'activité érythrocytaire de la catalase chez les femmes atteintes du SOPK par rapport aux femmes témoins. La diminution des enzymes antioxydantes est un signe de l'augmentation du stress oxydatif. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Behl et Pandey. (2002) et kurdoglu et al. (2012).

D'autre part, nous avons mesuré un autre marqueur antioxydant. Il s'agit de la vitamine C plasmatique, nos résultats suggèrent une diminution significative chez les femmes atteintes du SOPK par rapport aux femmes témoins. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Kurdoglu et al. (2012).

Tous ces résultats indiquent que le SOPK entraîne une altération du statut oxydant /antioxydant. Ces résultats peuvent être responsables d'importantes complications à long terme. Un suivi médical et une prise en charge d'ordre nutritionnelle est nécessaire chez les femmes atteintes du SOPK pour prévenir les effets néfastes des dommages oxydatifs. Une supplémentation en antioxydants, une alimentation riche en fruits et légumes sont à conseiller chez ces personnes.

Conclusion

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est reconnu comme l'endocrinopathie la plus fréquente chez les femmes en âge de procréer . Il est caractérisé par une hyperandrogénie et une anovulation conduisant à l'infertilité dont les symptômes varient avec l'âge, la race, le poids.....

Stress oxydatif, radicaux libres, espèces oxygénées activées et antioxydants sont devenus des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même le grand public. Une augmentation du stress oxydant chez un individu est potentiellement une cause d'apparition de plusieurs maladies y compris le SOPK. Nos résultats montrent une augmentation du taux des marqueurs de la peroxydation lipidique (MDA érythrocytaire) et des teneurs de l'anion superoxyde chez les femmes atteintes du SOPK comparées aux témoins. En revanche, on observe une diminution des marqueurs antioxydants (vitamine C plasmatique et activité de la catalase érythrocytaire) chez les femmes atteintes du SOPK par rapport aux femmes témoins. Tous ces résultats prouvent l'existence d'un stress oxydatif accru avec diminution des antioxydants et augmentation des oxydants, ce qui confirme le lien entre le SOPK et le stress oxydatif.

Une perturbation de la balance oxydante/antioxydante chez les femmes atteintes du SOPK peut être la cause d'importantes complications à long terme (diabète de type II et maladies cardiovasculaires), ce qui exige une surveillance particulière en plus d'une alimentation saine riche en antioxydants afin de prévenir les graves conséquences du déséquilibre oxydatif.

Nous souhaiterons développer et avancer dans cette recherche par une étude plus vaste et plus profonde sur une plus grande panoplie de marqueurs du stress oxydatif associé au SOPK. Le dosage de l'insuline nous semble intéressant pour mettre en évidence une insulino-résistance. Du fait du lien entre le SOPK et les dyslipidémies, nous espérons compléter ce travail par l'étude des altérations du métabolisme des lipides et des lipoprotéines. C'est vrai qu'il ya beaucoup des lacunes et des difficultés mais avec la volonté, rien n'est impossible.

Références bibliographiques

1. Aebi H (1974). Evaluation de l'activité de la catalase. Catalase In methods of enzymatic analysis 2nd ed. H.U. Bergmeyer. Verlagchimie GmbH. Weinheim. 2: 673 - 684.
2. Alamovitch C, Lean MEJ, Burns J (2007). Tentatives pharmacologiques et nutritionnelles pour corriger le stress oxydatif. Diabetes. 48: 176 - 181.
3. Amato P, Simpson JL (2004). Genetic of polycystic ovary syndrome. Best practice and research clinical obstetrics and Gynaecology. 18: 707-718.
4. Auclair C, Voisin E (1985). Nitroblue et razolium reduction, In Greenwald R A (Ed) : Handbook of methods for oxygen radicals research. 123-132. CRC Press, Inc, Boca Raton.
5. Azziz R, Kashar-Miller MD (2000). Family history as a risk factor for the polycystic ovary syndrome. J Pediatr Endocrinol Metab.5: 1303-1306.
6. Barouki R (2006). Stress oxydant et vieillissement. Médecine/Sciences. 22:266-272.
7. Behl R, Pandey RS (2002). FSH stimulation of catalase activity in goat granulosa cells in vitro. Anim Reprod Sci. 70: 215-221.
8. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. World allergy organ. 5(1):9-12.
9. Blair IA (2001). Lipid hydroperoxide-mediated DNA damage. Experimental Gerontologie. 36: 1473-1481.
10. Blank SK, Mc Cartney CR, Marshall JC (2006).The origin and sequelea of abnormal neuroendocrine function in PCOS. Human Reproduction UP date. 12(4): 351-361.
11. Brailly S, Young J (2007). Présentation clinique et Exploration hormonale du SOPK. J Clin Endo Metab. 10:751-756.
12. Carmina E (2003). Genetic and environmental aspect of polycystic ovary syndrome. J Endocrinol Invest. 26:(11)1151-1159.
13. Caron J, Colomer F, Hasterok R, Schott N (2009). Larousse medical. Page 693-694.
14. Chao HT, Lee HM, Liao TL, Wei YH, Kao SH (2005). Repeated ovarian stimulations induce oxidative damage and mitochondrial DNA mutations in mouse ovaries. Ann NY Acad Sci. 1042: 148-156.
15. Chen K, Suh J, Carr A, Morrow J, Zeind J, Frei B (2000). Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. Am J Physiol Endocrinol Metab. 279: 1406-1412.

Références bibliographiques

16. Christin-Maitre S (2005). Syndrome des ovaires polykystiques et insulino-résistance. *Médecine de la reproduction*. 7: 69-72.
17. Croteau M, Bérubé V (2011). Diagnostic et traitement des ovaires polykystiques, êtes vous polyvalent? *Médecin de Québec*. 46(3): 41-46.
18. Curtin JF, Donovan M, Cotter TG (2002). Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol methods*. 265:49-72.
19. Defeng W, Arthur IC (2003). Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Alcohol Research & Health*. 27(4): 277-284.
20. Dewailly D (2000). Le syndrome des ovaires polymicrokystiques. *J de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la reproduction*. 29(3): 298-301.
21. Dewailly D, Hieronimus S, Mirakian P, Hugues JN (2010). Polycystic ovary syndrome (PCOS). *Annals of endocrinology*. 17: 9-14.
22. Dewailly D (1999). Physiopathology of polycystic ovary syndrome. *Ann Endocrinol* 60:(2)123-130.
23. Droge W (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. Review. *Physiol. Rev.* 82:47-95.
24. Dunaif A (1997). Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev*. 18:(6)774-800.
25. Dunaif A, Wu X, Lee A, Diamanti-Kandarakis E (2001). Defects in insulin receptor signaling in vivo in the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 281:(2)392-399.
26. Edeas M (2005). Les antioxydants dans la tourmente. *Phytothérapie*. 6: 271-273.
27. Ehrmann DA (2002). Insulin resistance and polycystic ovary syndrome. *Current diabetes reports*. 2(1):71-76.
28. Ehrmann DA, Liljenquist DR, Kasza K, Azziz R, Legro RS, Ghazzi MN (2006). Prevalence and predictors of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 91:(1)48-53.
29. Escobar-Morreale HF, Luque-Ramirez M, San Millan JL (2005). The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev*. 26:251-282.
30. Favier A (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annales de Biologie Clinique*. 55(1): 9 - 16.

Références bibliographiques

31. Favier A (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108 - 115.
32. Glueck CJ, Papanna R, Wang P, Goldenberg N, Sieve-Smith L(2003). Incidence and treatment of metabolic syndrome in newly referred women with confirmed polycystic ovarian syndrome. *Metabolism*. 52:(7)908-915.
33. González F, KS Nair, Daniels JK, Basal E, Schimke JM, Blair HE (2012). Hyperandrogenism sensitizes leukocytes to hyperglycemia to promote oxidative stress in lean reproductive-age women. *J Clin Endocrinol Metab*. 97:2836–2843.
34. González F, Rote NS, Minium J, Kirwan JP (2006). Reactive oxygen species-induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*.91:336–340.
35. Goodarzi MO, Erickson S, Port SC, Jennrich RI, Korenman SG (2005). B-cell function: A key pathological determinant in PCOS. *J Clin Endocrinol Metab*. 90(1): 310-315.
36. Gorin S, Gottraux (2006). Cancer et statut vitaminique: quelles relations ? *Am J ClinNutr*. 77: 133 - 138.
37. Grigorescu F, Lefebvre P, Bringer J (2007). Le SOPK: épidémiologie et génétique. *J Clin EndoMetab*. 10: 748-751.
38. Guichardant M, Bacot S, Moliere P, Lagarde M (2006). Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. *Oléagineux, corps gras, lipides*. 13(1): 31-34.
39. Haleng J, Pincemail J, Defraigne J, Charlier C, Chapelle J (2007). Oxidative stress. *Rev Med Liege*. 62: 628-638.
40. Hattori I, Nakamura H, Masutai H (2003). Thioredoxin-dependent redox regulation – implication in aging and neurological diseases. Critical review of oxidative stress and aging. Vol II RG Cutler and H Rodriguez Eds. World Scientific. 87 - 101.
41. Hazard J, Perlemuter L, Bourgeon M, Kahal Z, Kretz S, Ledoyen S, Morin N, Louis Thomas J (2000). *Livre endocrinology: Masson, Paris* (page 333-334) .
42. Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. 12(1): 3-6.
43. Holgrem A (2003). Redox regulation of genes and cell function. In: Critical review of oxidative stress and aging. Vol II. RG Cutler and H Rodriguez Eds. World Scientific.102 -111

Références bibliographiques

44. Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM (1994). Tumor necrosis factor α inhibits signalling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci* 91:4854–4858.
45. Huret H (2004). Le sélénium: un rempart contre le stress oxydatif. *Lancet*. 364: 1219 - 1228.
46. Jacota H, Dana HM (1982) Dosage de la vitamine C plasmatique. A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry*. 127: 178 - 182.
47. Jonard S, Dewailly D (2004). The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Hum Reprod Update*. 10:(2)107-117.
48. Kaynar H, Meral M, Turhan H, Keles M, Celik G, Akcay F (2005). Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Lett.* 227: 133-139.
49. Kusçu NK, Var A (2009). Oxidative stress but not endothelial dysfunction exists in non obese, young group of patients with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 88:6127.
50. Lee JY, Baw C-K, Gupta S, Aziz N, Agarwal A (2010). Role of oxidative stress in polycystic ovary syndrome. *Current Women's Health Reviews*. 6: 96-107.
51. Lefebvre P, Raingeard I, Renard E, Bringer J (2004). Long-term risks of polycystic ovaries syndrome. *Gynecol Obstet Fertil*. 32 : 193-198.
52. Leibel NI, Baumann EE, Kocherginsky M, Rosenfield RL (2006). Relationship of adolescent polycystic ovary syndrome to parental metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 91(4). 1275-1283.
53. Levesque E (2006). Oligo-elements et stress oxydant. *Revue de presse .Favier lab Bioch Grenoble*. 10 – 15.
54. Levine RL (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med*. 32: 790-796.
55. Maiter D (2001). Les ovaires micropolykystiques. Mécanismes étiopathogéniques. *Louvain Med*. 120: 172-179.

Références bibliographiques

56. Majerus V, Bertin P, Lutts S (2009). Abscisic acid & oxidative stress implications in overall ferritin synthesis by African rice (*Oryzabambusa*) seedlings exposed to short term iron toxicity. *Plant Soil*. 324: 253-265.
57. Marieb EN (1999). Anatomie et physiologie humaine. 4^{ème} édition américaine de Boeck Université. 1053-1056.
58. Mason H, Colao A, Blume-Peytavi U, Rice S, Qureshi A, Pellatt L, Orio F, Atkin SL (2008). PCOS trilogy: a translational & clinical review. *Clinical Endo*. 69: 831-844.
59. Mora M, Luque-Ramírez M, Mariánsens, Ojeda-Ojeda M, Hector F. Escobar-Morreale (2013). Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS) a systematic review and meta-analysis *Human Reproduction Update*. pp. 1–21.
60. Moran LK, Gutteridge JM, Quinlan GL (2001). Thiols in cellular redox signalling and control. *Curr Med Chem*. 8: 763 - 772.
61. Myara J (2005). Capacité de gérontologie. Vieillesse et stress oxydant. Laboratoire de biochimie. P1-36.
62. Negre-Salvayre A, Salvayre R (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif: implication en physiopathologie vasculaire. *OCL*. 12(5): 433-438.
63. Nelson VL, Legro RS, Strauss JF, McAllister JM (1999). Augmented androgen production is a stable steroidogenic phenotype of propagated theca cells from polycystic ovaries. *Mol Endocrinol*. 13:(6)946-957.
64. Nelson-Degrave VL, Wickenheisser JK, Hendricks KL, Asano T, Fujishiro M, Legro RS (2005). Alterations in mitogen-activated protein kinase and extracellular regulated kinase signaling in theca cells contribute to excessive androgen production in polycystic ovary syndrome. *Mol Endocrinol*. 19:(2) 379-390.
65. Nourooz - Zadeh J, Tajaddidi - Sarmadi J, Lingkle, Wolff SP (1996). Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in plasma. *Biochem J*. 313: 781 - 786.
66. Owuor E, Kong A (2002). Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol*. 64: 765 - 770.
67. Paula G, Costabe D, Poli-De-Ce Figueiredo, Antonello Ic (2008). L'acide urique peut-il fournir des informations sur l'état de la mère et le pronostic fœtal chez les femmes enceintes souffrant d'hypertension? *Grossesse Hypertens*. 27:413-420.
68. Pincemail J (2004). Comment évaluer votre état de stress oxydant ? *J Santé*. 2- 4.

Références bibliographiques

69. Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne Jo (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour la médecine. *Vaisseaux, cœur, poumons*. 4(5) :1-7.
70. Barnes PJ, Karin M (1997). Nuclear factor-kB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med*. 336:1066–1071.
71. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (2004). *Fertil Steril*. 81:(1)19-25.
72. Roldan B, San Millan JL, Escobar-Morreale HF(2004). Genetic basis of metabolic abnormalities in polycystic ovary syndrome: implications for therapy. *Am J Pharmacogenomics*. 4:(2)93-107.
73. Ruder EH, Hartman TJ, Blumberg J, Goldman MB (2008). Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. *Human Reproduction*. 10: 1-13.
74. Russo A, Garbarino J (2008). *Solidago chilensis* Meyen et *Kageneckia Oblonga* Ruiz & Pav: Phytothérapie. 6: 333-341.
75. Sirmans MS, Pate K A (2014). Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol*. 6: 1–13.
76. Souchard J P, Arnal J F, Rochette L (2002). Les radicaux libres et le stress oxydatif radicalaire. *Techniques en biologie*. 23: 245 - 257.
77. Stein et Leventhal ML(1935). Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol*. 29:181–191.
78. Teede H, Deeks A, Moran L (2010). Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the life span. *BMC Med*. 8:41.
79. Torre A, Fernandez H (2007). Le syndrome des ovaires polykystiques. *J Gynecol Obstet Reprod Biol*. 36: 423-446.
80. Turrens JF (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*. 552:335–344.
81. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress- induced cancer. *Chemico-biological interactions*. 160: 1-4
82. Varalakshmi DNRP, Suchitra MM, Alok S, Srinivasa RVLN, Aparna RR (2014). Oxidative Stress in Non-Obese Women with Polycystic Ovarian Syndrome. *J Clin Diagn Res*. 8(7): 1–3.

Références bibliographiques

83. Ventura- Clapier A, Lombèr A, Babuty D, Carrier L, Duperray A, Gryberg A, Loirand G, Samuel J (2002). Mitochondrie et pathologie. In Pinet F, biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. Médecine-science. Flammarion eddition. 290-295p.
84. Victor VM, Rocha M, Banuls C, Sanchez-Serrano M, Sola E, Hernandez-Mijares A (2009). Mitochondrial complex I impairment in leukocytes from PCOS patients with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 94: 3505-3512.
85. Wichenheisser JK, Nelson-De Grave VL, Quinn PG, Mc Alester JM (2004). Increased cytochrome P450 17 α hydroxylase promoter function in theca cells isolated from patients with PCOS involves Nuclear Factor1. *Mol Endocrinol.* 18(3): 588-605.
86. Willis DS, Watson H, Mason HD, Galea R, Brincat M, Franks S (1998). Premature response to luteinizing hormone of granulosa cells from anovulatory women with polycystic ovary syndrome: relevance to mechanism of anovulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 83:(11)3984-3991.
87. Wood JR, Nelson VL, Ho C, Jansen E, Wang CY, Urbanek M (2003). The molecular phenotype of polycystic ovary syndrome (PCOS) theca cells and new candidate PCOS genes defined by microarray analysis. *J BiolChem.* 278:(29)26380-26390.
88. Yilmaz M, Bukan N, Ayvaz G, Karakoç A, Törüner F, Cakir N (2005). The effects of rosiglitazone and metformin on oxidative stress and homocysteine levels in lean patients with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 20:3333–3340.

CONSENTEMENT

Je soussignée,

Madame/Mademoiselle.....

Après avoir pris connaissance des objectifs et des méthodologies relatifs au projet de thèse de master intitulé :Perturbation de la balance oxydante/antioxydante chez les femmes atteintes du syndrome ovarien poly kystique de la région de Tlemcen.,sous la responsabilité de Melle MEBARKI IBTISSEM, Etudiante à l'université de Tlemcen, en collaboration avec le CHU de Tlemcen, et le laboratoire de Recherche «Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition sous la direction de Melle KARAOUZENE NESRINE SAMIRA (M.C.B, Université de Tlemcen, Algérie). J'accepte de participer à ce projet, en répondant à différentes questions et en fournissant un prélèvement sanguin.

Signature

Annexes

Tableau A1: Marqueurs du statut oxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

Marqueurs	Femmes témoins	Femmes SOPK
O ₂ [°] -Pla (µmol/L)	16,49±1,93	17,11±1,45
O ₂ [°] -Ery (µmol/L)	51,76±3,52	61,59±3,39***
MDA Ery (µmol / L)	10,87±1,43	13,16±1,08**

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type ; SOPK : syndrome ovarien polykystique; O₂[°]-Pla : anion superoxydeplasmatic; O₂[°]-Ery : anion superoxydeérythrocytaire ; MDA Ery: malondialdéhyde érythrocytaire. La comparaison des moyennes entre femmes témoins et femmes atteintes du SOPK est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

** p < 0,01 différence très significative.

*** p < 0,001 différence hautement significative.

Tableau A2: Marqueurs du statut antioxydant chez les femmes témoins et les femmes atteintes du SOPK

Marqueurs	Femmes témoins	Femmes SOPK
Catalase Ery (U/min/mL)	93,58±1,35	87,66±1,82**
Vitamine C Pla (µg/mL)	22,75±2,86	8,37±1,65***

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type ; SOPK : syndrome ovarien polykystique ; Ery : érythrocytaire; Pla : plasmatic. La comparaison des moyennes entre femmes témoins et femmes atteintes du SOPK est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance:

** p < 0,01 différence très significative.

*** p < 0,001 différence hautement significative.

Résumé

Le syndrome des ovaires polykystiques est une anomalie endocrinienne fréquente chez les femmes en âge de procréer. Les femmes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques présentent une combinaison diversifiée de complications cliniques y compris, des altérations de la reproduction et des séquelles métaboliques. Plusieurs études ont montré l'existence d'un état de stress oxydatif chez les femmes atteintes du SOPK.

Pour mieux comprendre la relation entre le stress oxydatif et le SOPK, nous avons réalisé une étude sur 22 femmes dont 10 atteintes du SOPK et 12 témoins âgées entre 25 et 29 ans. Quelques marqueurs du statut oxydant (MDA, anion superoxyde) et antioxydant (catalase, vitamine C) ont été analysés.

D'importantes altérations de la balance oxydante (augmentation du MDA et $O_2^{\circ-}$ érythrocytaires) et antioxydante (diminution de la catalase érythrocytaire et de la vitamine C plasmatique) sont notées chez les femmes atteintes du SOPK. Une prévention d'ordre nutritionnelle est nécessaire pour diminuer cette pathologie et surtout, éviter ses effets néfastes et ses graves conséquences à long terme.

Mots clés: Marqueur oxydant, marqueur antioxydant, stress oxydatif, syndrome des ovaires polykystiques (SOPK).

Abstract

The polycystic ovary syndrome is a common endocrine abnormality in reproductive-age women. The pathophysiology of this condition remains unclear. Women with polycystic ovary syndrome present a diverse combination of clinical complications including, reproductive alterations and metabolic sequelae. Several studies have shown the existence of a state of oxidative stress in women with PCOS.

To better understand the relationship between oxidative stress and PCOS, we conducted a study on 22 women, including 10 with PCOS and 12 controls aged between 25 and 29 years old. Some markers of oxidative status (MDA, superoxyde anion) and antioxydant (catalase, vitamin C) were analysed.

Significant alterations of the oxidative balance (increased in MDA and $O_2^{\circ-}$ erythrocyte) and antioxydant (decreased erythrocyte catalase and plasma vitamin C) are noted in women with PCOS. Nutritional prevention order is necessary to reduce this pathology and especially avoid its adverse effects and serious long-term consequences.

Keywords: Oxidative marker, antioxydant markers, oxidative stress, polycystic ovary syndrome (PCOS)

ملخص

أكثر اضطرابات الغدد الصماء شيوعاً عند النساء في سن الإنجاب، تعاني النساء المصابات بداء تكيس المبايض من داء تكيس المبايض هو أحد نظام التأكسد عند النساء المصابات بهذا وقد أثبتت الدراسات وجود خلل في تمازج المضاعفات السريرية بما في ذلك تعقيدات ومشاكل في الإنجاب المرض.

لتأكيد العلاقة بين النظام التأكسدي وداء تكيس المبايض قمنا بفحص 22 امرأة تتراوح أعمارهن من 25 إلى 29 سنة من بينهم 10 نساء مصابات بهذا المرض و12 امرأة في صحة جيدة وذلك لفحص بعض علامات الأكسدة (المالون الثنائي الدهيد والانيون سوبر أكسيد) والمضادات للأكسدة (انزيم الكاتالاز والفيتامين C).

تمت ملاحظة اضطرابات كثيرة في ميزان الأكسدة (زيادة المالون ثنائي الدهيد و الانيون سوبر اوكسيد في خضاب الدم) عند النساء المصابات بداء تكيس المبايض اما بالنسبة لمضادات الأكسدة فقد سجل انخفاض في معدل انزيم الكاتالاز في خضاب الدم والفيتامين C على مستوى البلازما و في الختام يمكن القول ان الوقاية وخاصة على مستوى التغذية ضرورية للتقليل من هذا الداء وعواقبه الوخيمة على المدى البعيد.

الكلمات الرئيسية: علامة تأكسدية، علامة مضادة للأكسدة، النظام التأكسدي، داء تكيس المبايض