

Résumé

Introduction

Le lait maternel confère au nourrisson la défense immunitaire dont il est dépourvu pendant les premiers mois de sa vie, par l'apport d'anticorps produits par la mère. Il est en mesure de satisfaire la plupart des besoins nutritionnels des prématurés, l'ajout de produits d'enrichissement au lait maternel peut éventuellement être nécessaire au début pour maintenir un statut biochimique adéquat. Cependant cet enrichissement permet d'interférer avec certains antioxydant et paramètres biochimiques.

Matériels et Méthodes

La capacité antioxydante de 40 échantillons de plasma provenant de 10 nouveau-nés prématurés allaités au lait maternel (avant l'enrichissement et après), 10 nouveau-nés prématurés allaités au lait artificiel, 10 à terme allaités au lait maternel, tous hospitalisés au niveau du service de néonatalogie, a été mesurée en dosant : l'ORAC, la vit C, et la Catalase.

Résultats

Une diminution significative de l'activité antioxydante chez les prématurés allaités du lait maternel enrichi par rapport aux témoins.

Conclusion

L'enrichissement du lait maternel augmente le stress oxydatif chez les prématurés.

Mots clés Prématurés, lait maternel enrichi, stress oxydatif.

Abstract

Background: Breast milk provides the infant immune defense he lacks during the first months of premature. Adding enrichment products to breast milk may possibly be necessary in the beginning to maintain adequate biochemical status. However enrichment allows interfere with certain antioxidant parameters biochemical.

Materials and Methods: The antioxidant capacity of 40 plasma samples from 10 preterm infants breastfed at (before and after enrichment), 10 preterm infants breastfed infant formula, 10 term breastfed at all hospitalized at the neonatology department, was measured by assaying: ORAC, the vit C, and Catalase.

Results: A significant decrease in antioxidant activity in premature infants breastfed breast milk enriched compared to controls.

Conclusion: The fortification of human milk increases oxidative stress in preterm infants.

Keywords: Premature, breast milk enriched, oxidative stress

AVANT –PROPOS

Je tiens à remercier tout particulièrement les membres du jury pour leur dévotion et leur honorable présence.

- Professeur ARIBI Mourad, le directeur du laboratoire BIOMOLIM, UABT (Faculté SNV/STU).
- Docteur SMAHI Ismat, Maître de conférence A, UABT(Faculté de Médecine).
- Mme BRAHAMI Nabila, Maître assistance A. UABT (Faculté SNV/STU).
- Mr BORSALI Fethi, Maître assistance A. UABT.(Faculté de Médecine).

Je voudrais remercier aussi mes enseignants pour leurs conseils durant mes années d'études. Il me faut remercier également Dr HADDOUCHE Mustapha, Maître de conférences B de son soutien et Dr BENOSMANE S, médecin spécialiste en pédiatrie qui m'a encouragé pour terminer mes études.

Ainsi que Mademoiselle HADJIJ Zineb, et Mademoiselle MEZIANE Warda (Doctorante en Immunologie Appliquée) de leur précieuse aide lors de l'expérimentation ; Les puéricultrices du service de néonatalogie Mlle Sanaa, Nadia, Dounia, Houda, Djawida et toute l'équipe.

Ce travail a pour objectif d'étudier le pouvoir antioxydant chez les prématurés allaités du lait maternel enrichi par l'eoprotine, il a été réalisé au Laboratoire Moléculaire Appliquée et Immunologie. Sous la direction du Dr SMAHI Mohammed C.

Le présent mémoire est structuré en six chapitres : Revue de littérature, Matériels et méthodes, Résultats et interprétation, Discussion, Conclusions et perspective, Bibliographie.

Il s'inscrit dans le cadre de ma formation universitaire pour obtention du grade de Master II d'Alimentation et Nutrition.

Je dédie ce modeste travail à mon père, ma mère qui m'ont encouragé de terminer mes études, à mes fils Akram et Charaf eddine ma fille Ritege à mon mari Mustapha qui m'a beaucoup aidé, ma sœur Wafea, mes frères Hichem et Ilyes, mes neveux Anis et Naila et toutes mes amies du laboratoire secteur sanitaire Chetouane : Naima, Meriem, Asma, Nesrine, ainsi Dr LACHACHI. N et hayet.

Table des Matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Avant-propos.....	iii
Table des matières.....	iv
Liste des tableaux.....	v
Liste des figures.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	
Chapitre 1. Revue de la littérature	
1.1. Définitions et épidémiologie néo-natale	
1.1.1. Nouveau né à terme.....	2
1.1.2. Nouveau né prématuré.....	2
1.1.2.1. Les prématurés.....	2
1.1.2.2. Prise en charge nutritionnelle des prématurés.....	2
1.1.2.3. Apports nutritionnels recommandés pour les prématurés.....	3
1.1.2.4. Surveillance de la nutrition des prématurés.....	6
1.2. Allaitement maternel.....	7
1.2.1. Définition.....	7
1.2.2. Rappel physiologique.....	7
1.2.3. Régulation.....	7
1.2.4. Variation dans la composition du lait maternel.....	8
1.2.4.1. Selon le stade de la lactation.....	8
1.2.4.2. Selon l'âge de la grossesse.....	9
1.2.5. Composition du lait maternel après un accouchement prématuré ou à terme.....	9
1.2.6. Bénéfices pour l'enfant.....	11
1.2.6.1. Prévention des infections.....	12
1.2.6.2. Prévention des allergies.....	15
1.2.6.3. Prévention de l'obésité.....	17
1.3. Lait maternel enrichie.....	18

1.3.1. Définition.....	18
1.3.3. Les différents suppléments du lait féminin ou maternel et leurs rôles.....	18
Stresse oxydatif.	
2.1. Définition.....	19
2.2. Dérivés réactifs de l’oxygène.....	20
2.2.1. Production des dérivés réactifs de l’oxygène.....	20
2.2.3. Définition des radicaux libres.....	21
2.2.3.1. Les espèces réactives et les radicaux libres.....	22
2.2.3.2. Les espèces réactives de l’oxygène non radicalaire.....	24
2.3. Source.....	25
2.4. Marqueurs de stress oxydatif.....	26
2.4.1. Potentiel antioxydant.....	26
2.4.2. Dommage oxydatifs aux lipides.....	27
2.4.3. Dommage oxydatifs des protéines.....	28
2.5. Défense antioxydant.....	28
2.6. Le stress oxydatif comme facteur de risque des maladies.....	28
2.6.1. Rôle du stress oxydatif dans le développement des maladies chroniques.....	28
2.6.2. Radicaux libres et voie de l’apoptose.....	28
2.6.3. Rôle du stress oxydant dans la réponse immunitaire.....	28
2.7. Evaluation du stress oxydatif.....	29
Chapitre 2. Matériels et méthodes	
3.1. Population étudiée.....	30
3.2. Prélèvement sanguin.....	30
3.3. Enquête alimentaire.....	30
3.4. Dosage des paramètres antioxydants.....	30
3.4.1. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC).....	30
3.4.1.1. Principe.....	31
3.4.1.2. Solution à préparer.....	31
3.4.1.3. Mode opératoire.....	32
3.4.1.4. Calcul.....	32
3.4.2. Vitamine C.....	32

3.4.2.1. Principe.....	32
3.4.2.2. Solution à préparer.....	32
3.4.2.3. Mode opératoire.....	32
3.4.3. Evaluation de l'activité du catalase.....	33
3.4.3.1. Principe.....	33
3.4.3.2. Solution à préparer.....	33
3.4.3.3. Mode opératoire.....	33
3.4.3.4. Calcul.....	34
3.5. Dosage des paramètres biochimiques.....	34
3.5.1. Calcium.....	34
3.5.1.1. Principe.....	34
3.5.1.3. Mode opératoire.....	34
3.5.3.1. Calcul.....	34
3.5.2. Protéines totales.....	35
3.5.2.1. Principe.....	35
3.5.2.3. Mode opératoire.....	35
3.5.2.3. Calcul.....	36
3.5.3. Phosphore.....	36
3.5.3.1. Principe.....	36
3.5.3.2. Mode opératoire.....	36
3.5 3.3. Calcul.....	37
Chapitre 3. Résultat et interprétation.....	47
Chapitre 4. Discussion.....	49
Chapitre 5. Conclusion et perspectives.....	50
Chapitre 6. Références bibliographiques.....
Annexe.....

Liste des Tableaux

Tableau1 : Apports recommandés en oligoéléments.....	5
Tableau2 : composition du lait maternel après un accouchement prématuré ou à terme.....	9
Tableau3 : Caractéristiques démographiques	37
Tableau4 : Taux de l'ORAC chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR).....	38
Tableau5 : Taux de la Catalase chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR)	39
Tableau6 : Taux de Vitamine C chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR).....	41
Tableau7 : Taux des protéines chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR).....	42
Tableau8 : Taux du Phosphore chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR).....	44
Tableau9 : Taux du Calcium chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi (PAMR).....	45

Liste des figures

Figure1 : Taux de l'ORAC chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi (PAMR).....	39
Figure2 : Taux de la Catalase chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR)	40
Figure3 : Taux de Vitamine C chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR).....	42
Figure4 : Taux des protéines chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR).....	43
Figure5 : Taux du Phosphore chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR).....	45
Figure6 : Taux du Calcium chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi(PAMR).....	46

Liste des Abréviations

- OMS** : Organisation Mondiale de la santé
- SA** : Semaine d'Aménorrhée
- TG** : Triglycérides
- TGF** : Insulin like Factor
- G6CSF** : Facteur de croissance leucocytaire
- EGF** : Epidermal Growth Factor
- IL**: Interleukin
- TNF** :
- ACTH** :
- TRH** :
- OMA** : Otites Moyen Aigues
- IgA** : Immunoglobuline A
- Hib** : Hémophiles influenzae b
- LM** : Lait maternel
- TCM** : Triglycéride a chaine moyenne
- ADEC** : Vitamine A, D, E, C
- Ca** : Calcium
- ERO** : Espèce réactive de l'oxygène
- NO** : Nitrite oxyde
- ONOO** : Péroxynitrite
- NADH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide
- DRO** : Dérivé Réactif de l'Oxygène
- ROS** : Réactive Oxygen Spécies
- R** : Radical
- ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity
- EHS** : Etablissement Hospitalier Universitaire
- TCA**: Acide trichloroacétique
- SM** : Solution Mère
- ATAM** : A Terme Allaitement Maternel
- PAAR** : Prématuré Allaitement Artificiel
- PAMNR** : Prématuré Allaitement Maternel Non Enrichi
- PAMR** : Prématuré Allaitement Maternel Enrichi

INTRODUCTION

L'assemblée générale de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) a recommandé en mai 2001 un allaitement maternel exclusif pendant les 6 premiers mois de la vie et la poursuite de cet allaitement jusqu'à l'âge de 2 ans voire plus en fonction du désir de la mère (OMS 2001). Le professeur Pierre Royer a dit : « Le lait de femme allie trois qualités idéalement recherchées ailleurs : Le prix revient le plus bas, la qualité la plus élevée et la présentation la plus attirante. » (Beaufrere B *et al* 2000).

Les avancées scientifiques en matière d'allaitement maternel ont été considérables ces 50 dernières années et de nombreux bénéfices lui ont été reconnus tant au niveau de la santé, de la nutrition, de la protection contre les infections virales et bactériennes et du développement de l'enfant. Il existerait un rôle préventif à plus long terme en ce qui concerne certaines pathologies chroniques comme le diabète ou l'hypertension artérielle. Ce serait les enfants nourris au sein au moins 6 mois qui profiteraient de ces avantages. De plus, son bénéfice est reconnu en ce qui concerne la santé des mères et l'organisation de leur vie quotidienne.

L'avantage de l'allaitement maternel est certain au niveau social et économique et il pourrait sauver 1 à 2 millions de vies par an dans le monde (Jackson KM, Nazar AM 2002).

Le lait maternel confère au nourrisson la défense immunitaire dont il est dépourvu pendant les premiers mois de sa vie, par l'apport d'anticorps produits par la mère. Il est en mesure de satisfaire la plupart des besoins nutritionnels des prématurés. Toutefois, lorsqu'ils sont nourris de lait maternel non enrichi, les prématurés n'ont pas une croissance satisfaisante et souffrent de carences. Il existe maintenant divers produits d'enrichissement qui permettent de faire bénéficier les prématurés des avantages du lait maternel tout en leur assurant une croissance optimale. L'ajout de produits d'enrichissement au lait maternel peut éventuellement être nécessaire au début pour maintenir un statut biochimique adéquat. Cependant cet enrichissement permet d'interférer avec certains antioxydants et paramètres biochimiques.

Chapitre 1. Revue de la littérature

1.1. Terminologie néonatale. Définition et épidémiologie néonatale

1.1.1. Nouveau né a terme

Elle est définie comme une naissance après 41,5 semaines après le 1^{er} jour des dernières règles (41,5 SA : semaines d'aménorrhée).

1.1.2. Nouveau né prématuré

1.1.2.1 .Les prématurés

La durée normale d'une grossesse est de 41 semaines d'aménorrhée (SA) et une naissance est dite prématurée quand elle survient avant 37 SA. Il existe trois niveaux de prématurité (Dehan M *et al.*,1977) : la prématurité moyenne (32 SA à 36 SA + 6 jours), la grande prématurité (28 SA à 31 SA + 6 jours) et la très grande prématurité (< 28 SA).

L'âge gestationnel et le poids de naissance sont des facteurs importants pour évaluer le pronostic du prématuré et son état trophique, la mortalité étant plus importante chez les hypo-trophies.

La prématurité est " spontanée " lorsque la naissance est issue d'un début de travail spontané, et " induite " s'il y a un déclenchement du travail ou une césarienne avant travail (Foix-L'Helias *et al.*, 20002). Actuellement en France, les naissances prématurées sont spontanées dans 70 % des cas. Dans 30 % des cas, elles sont induites suite à une décision médicale, lorsque le risque pour l'enfant ou la mère est considéré comme plus important que celui d'un accouchement prématuré (retard de croissance intra-utérine, hypertension artérielle, diabète gestationnel...) (Grebille *et al.*, 2002).

1.1.2.2. Prise en charge nutritionnelle des prématurés

La prise en charge des prématurés peut nécessiter l'instauration d'une nutrition artificielle dans les 24 heures qui suivent la naissance afin de corriger ou prévenir une dénutrition et d'assurer une croissance optimale.

L'apport nutritionnel doit être calculé en fonction de l'âge gestationnel, de la trophicité et de l'état clinique de l'enfant. Les apports énergétiques ont pour objectif une croissance optimale et idéalement semblable à celle du fœtus *in utero* au cours du 3eme trimestre de grossesse. Ils sont déterminés en fonction des dépenses énergétiques liées au métabolisme de base, à la thermorégulation, à la synthèse tissulaire, en intégrant la faiblesse des réserves énergétiques (graisses, glycogène). De plus, les stocks d'oligo-éléments et de vitamines n'étant pas totalement constitués chez les prématurés, une supplémentation est nécessaire pour éviter toute carence.

L'administration de tous les nutriments est indispensable à la survie, à la croissance correcte des enfants prématurés et limite le développement de complications (Mayhew et Gonzalez, 2003). Tout excès ou carence peut lui être nuisible et avoir des conséquences délétères à court, moyen ou long terme (i.e.: mauvais développement cérébral) (Colomb *et al.*, 1999). Les apports doivent donc être adaptés aux besoins de chaque enfant.

En fonction de l'état clinique du patient, trois types de prise en charge sont possibles: l'alimentation orale au biberon, la nutrition entérale par une sonde et la nutrition parentérale par voie périphérique ou centrale.

1.1.2.3. Apports nutritionnels recommandés pour les prématurés

Apports énergétiques

Les apports énergétiques sont destinés à couvrir les dépenses liées au métabolisme de base, à la régulation de la température corporelle, à l'activité physique, à la croissance et doivent permettre les fonctions anaboliques. Ils doivent être fournis exclusivement par les glucides et les lipides à l'exclusion des acides aminés dont le rôle est de permettre la synthèse protéique. Un apport énergétique excessif peut entraîner une hyperglycémie, un dépôt de graisses ou des complications hépatiques (stéatose, cholestase) (Colomb *et al.*, 1999), inversement un apport énergétique insuffisant induit une malnutrition ou une dénutrition associées à un retard de croissance ou des troubles de la réponse immunitaire. Les besoins énergétiques du prématuré, notamment pour la croissance, sont très importants mais diminuent avec l'âge. De plus, les organes ayant une forte activité métabolique (foie, cerveau, cœur, reins) représentent une part élevée du poids du corps chez le nourrisson qui diminue également avec l'âge, alors que la croissance du tissu adipeux et musculaire, à faible activité métabolique, augmente.

Apports glucidiques

Les besoins énergétiques du prématuré, notamment pour la croissance, sont très importants mais diminuent avec l'âge. De plus, les organes ayant une forte activité métabolique (foie, cerveau, cœur, reins) représentent une part élevée du poids du corps chez le nourrisson qui diminue également avec l'âge, alors que la croissance du tissu adipeux et musculaire, à faible activité métabolique, augmente.

Apports lipidiques

Les lipides constituent une source importante d'énergie et apportent les acides gras essentiels. L'introduction des lipides permet de diminuer les apports énergétiques d'origine

glucidique, mais leur administration précoce reste controversée. En effet, le métabolisme des lipides est immature ; une administration trop précoce peut conduire à un stockage excessif (Thureen *et al.*, 2007). L'oxydation des lipides dépend des apports et dépenses énergétiques, de la quantité de glucides apportée, du ratio glucides/lipides, de l'âge gestationnel et du poids de l'enfant.

Elle est maximale quand l'apport lipidique représente 40 % de l'apport énergétique non protéique. Chez les prématurés, un apport maximal de 3 g/kg/j en perfusion continue est généralement bien toléré. Les lipides sont apportés par voie périphérique sous forme d'émulsions lipidiques qui permettent de couvrir les besoins en acides gras essentiels et d'apporter les vitamines E et K. Certains mélanges sont riches en triglycérides à chaînes longues (Intralipide®, Ivélipé®), d'autres sont des mélanges de triglycérides à chaînes longues et moyennes (Médialipide®) (Chambrier *et al.*, 2006). Une surveillance particulière doit être assurée chez les prématurés de moins de 1 000 g car la tolérance peut être diminuée.

Apports recommandés en eau

Le pourcentage d'eau totale du corps est maximal (> 80 %) au cours du cinquième mois de grossesse et diminue progressivement pour atteindre 50 % à l'âge adulte. Les besoins en eau dépendent notamment de l'immaturité cutanée, qui conduit à d'importantes pertes d'eau par évaporation, favorisées par la mise en couveuse. L'immaturité rénale et le traitement par photothérapie augmentent aussi les pertes hydriques. Il est donc recommandé d'augmenter les apports progressivement, pour prévenir tout risque de déshydratation. Les besoins doivent être calculés en tenant compte des apports entéraux, du volume d'émulsion lipidique, des médicaments et des pertes hydriques insensibles (cutanées, respiratoires, fécales).

Les recommandations de 2005 distinguent trois périodes : la phase de transition qui correspond à la première semaine de vie, la phase intermédiaire au cours de laquelle les pertes insensibles cutanées sont diminuées et la phase de croissance stable caractérisée par une prise de poids régulière.

Des apports en sodium, chlore et potassium doivent être débutés entre le 3^e et le 6^e jour aux doses recommandées de 3 mmol/kg/j pour le sodium, 2 mmol/kg/j pour le potassium et 5 mmol/kg/j pour les chlorures. Pour le potassium, les apports peuvent également être modulés en fonction des apports en acides aminés (Koletzko, 2005).

Apports protidiques

Les enfants prématurés de faible poids de naissance présentent fréquemment un retard de croissance postnatal, à la fin de leur hospitalisation, la plupart ont un poids inférieur au 10^e percentile du poids de référence du fœtus (Chambrier *et al.*, 2006). En outre, leur prise de poids correspond à une prise de masse grasse plutôt que de masse maigre (Lucas *et al.*, 1994), car ils reçoivent des apports glucidiques et lipidiques supérieurs et des apports protéiques moindres que le fœtus *in utero* (Thureen et Heird, 2005).

Apports en oligo-éléments et en sels minéraux

Les oligo-éléments sont normalement apportés chez le nouveau-né par le lait maternel. La nutrition parentérale

Eléments	Apports recommandés
Fer	200 lg/kg/j
Molybdène	1 lg/kg/j
Sélénium	2 – 3 lg/kg/l
Zinc	450-500 lg/kg/j
Calcium	1 – 4 mmol/kg/j
Phosphore	0,75 – 3 mmol/kg/j avec un ratio Ca/P \cong 1,3

Tableau 1. Apports recommandés en oligoéléments (Koletzko, 2005).

Apports en vitamines

Les vitamines ne sont pas synthétisées par l'organisme, mais participent à la croissance et au développement des enfants.

Parmi les vitamines liposolubles, la vitamine A aurait un rôle protecteur vis-à-vis des dysplasies broncho-pulmonaires, la vitamine E a un rôle antioxydant, la vitamine D intervient dans le métabolisme phosphocalcique et la vitamine K joue un rôle dans la synthèse des facteurs de la coagulation (Koletzko, 2005).

Les prématurés ont des réserves particulièrement faibles en vitamines à cause de leur mauvais passage à travers le placenta.

Les vitamines hydrosolubles comprennent entre autres la vitamine C, la vitamine B1 (thiamine), la vitamine B2 (riboflavine), la vitamine B6 (pyridoxine), la vitamine B12 (cobalamine) et l'acide folique. Peu d'informations sont disponibles quant aux quantités optimales de vitamines à apporter aux enfants prématurés (Koletzko, 2005).

1.1.2.4. Surveillance de la nutrition des prématurés

Une surveillance du prématuré est indispensable pour évaluer l'efficacité de la nutrition et dépister les signes d'éventuelles complications. La surveillance clinique doit être réalisée quotidiennement. L'évolution du poids appréciée quotidiennement, de la taille et du périmètre crânien mesurés de façon hebdomadaire sont des paramètres importants à suivre. La mesure du poids doit toujours être réalisée dans les mêmes conditions et nécessite l'utilisation d'une balance calibrée. Elle permet d'ajuster les apports nutritionnels et de détecter d'éventuelles anomalies (Ehrenkranz *et al.*, 1999). L'objectif de la nutrition parentérale est d'assurer une prise de poids de 10 à 20 g/kg/j pour un enfant de moins de 2,5 kg. L'enfant perdant 7 à 10 % de son poids de naissance au cours de ses premiers jours de vie, les pédiatres surveillent avec attention le délai de retour au poids de naissance, qui est généralement de 7 à 10 jours, voire 10 à 15 jours pour les plus immatures. Toute perte ou gain de poids brutal doit être pris en considération et faire soupçonner une anomalie. Une prise pondérale excessive peut être causée par une rétention hydrosodée qui peut avoir des conséquences respiratoires et une perte de poids brutale doit faire penser à une perte hydrique rénale ou extra-rénale.

D'autres paramètres cliniques doivent être surveillés tels que le rythme cardiaque, la tension artérielle, la courbe de température, le transit intestinal et la position du cathéter ou de la sonde. La surveillance clinique doit s'accompagner d'une surveillance biologique de la glycémie pour évaluer la tolérance au glucose, de l'ionogramme sanguin et d'un dosage des protéines plasmatiques.

La malnutrition in utero, qu'elle résulte d'apports maternels inappropriés avant ou durant la grossesse, d'un transport inadéquat des nutriments ou d'un trouble du transfert transplacentaire, n'a pas seulement des conséquences sur le poids de naissance et le développement ultérieur des petits (Goldberg et Prentice, 1994). Nous avons vu qu'elle "programmait" en quelque sorte l'organisation même et le fonctionnement de toute une série de systèmes et d'autres arguments suggèrent qu'elle pourrait influencer de manière permanente l'activité de systèmes enzymatiques, et interférer avec la mise en place de récepteurs hormonaux et de mécanismes de rétrocontrôle (Rey, Bress, Brunser, Carrazza, Gracey, Nichols, Senterre, 1995). La malnutrition in utero pourrait ainsi avoir des conséquences à l'âge adulte qui dépassent de très loin ce que l'on imaginait jusqu'ici, en favorisant le développement de l'athérome, de l'hypertension, de la résistance à l'insuline, et de bien d'autres fonctions métaboliques et endocriniennes connues pour leur importance en pathologie humaine (Barker, 1995 ; Wharton, 1992 ; Lucas, Bock, Whelan, 1991). C'est ce qu'il est convenu d'appeler l'hypothèse de Barker (Paneth et Susser, 1995).

1.2. Allaitement maternel

1.2.1 Définition

Le lait maternel est produit par les glandes mammaires des femmes après accouchement, et permet de nourrir le nouveau né. Il contient tous les nutriments nécessaires au bon développement de l'enfant, et sa composition se modifie au cours du temps pour s'adapter aux besoins du nourrisson. Le colostrum, ou lait des premiers jours, laisse sa place au lait mature.

1.2.2. Rappel physiologique

La glande mammaire est une glande exocrine. Pendant la grossesse on assiste à une croissance de la glande avec début de la sécrétion lactée au 2ème trimestre (Tsang, Uauy , Koletzko, Zlotkin, 2005).

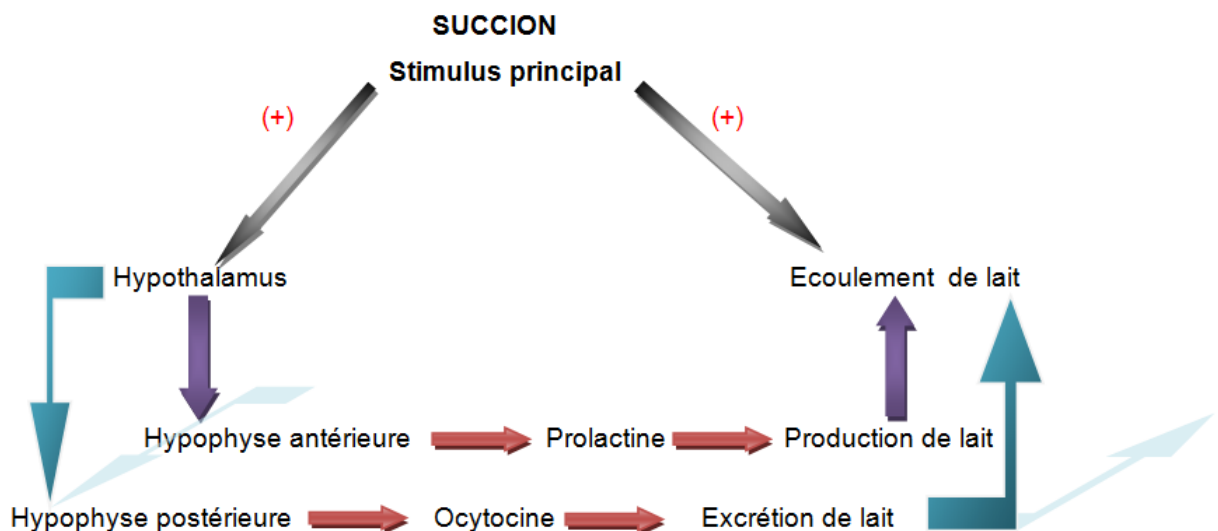


Figure 1 : Régulation : Neuro-hormonale

1.2.3. Régulation

C'est la prolactine qui stimule la production du lait. Le maximum de sécrétion se voit après 36-48 h et le soir. La production du lait augmente :

- Lors de la succion du mamelon
- Lors des tétées nocturnes

L'ocytocine provoque le réflexe d'éjection : La production de lait est régie par la loi d'offre et de demande ; plus il y a des tétées répétées, il y a production de lait et inversement (Tsang, Uauy, Koletzko, Zlotkin, 2005).

1.2.4. Variations dans la composition du lait maternel

1.2.4.1. Selon le stade de la lactation

En fonction de l'âge de l'enfant

Le lait de femme est évolutif, il passe par différentes phases. Dans le post-partum immédiat de 0 à 5 jours, on l'appelle le colostrum. On parle ensuite de lait de transition jusqu'au 12^{ième} jour. Au delà, on parle de lait mature.

Le colostrum est beaucoup moins riche en lipides, en lactose et en caséine que le lait mature avec donc une densité énergétique moindre (450 à 480 kcal par litre contre 650 à 700 kcal par litre). Son principal rôle est d'assurer la protection initiale du nouveau-né. En effet par rapport au lait mature il est dix fois plus riche en cellules immunocompétentes, deux fois plus riches en protéines solubles dont une partie à un rôle antibactérien comme nous l'avons vu plus haut, et deux fois plus riche en oligosaccharides.

Cette phase colostrale est beaucoup plus longue en cas d'accouchement prématuré. Le lait est alors plus riche en acides gras poly-insaturés, qui sont indispensables à une maturation cérébrale correcte du nourrisson (Tsang , Uauy , Koletzko , Zlotki, 2005).

Après la phase colostrale, la composition du lait varie progressivement, c'est le lait de transition Il s'enrichit en lactose, lipides et caséines tandis que les concentrations en protéines solubles s'abaissent. Il devient le lait mature, au-delà du 14^e jour. On lui retrouve alors la composition moyenne décrite dans les paragraphes précédents. Il continuera son évolution en fonction des besoins nutritionnels de l'enfant qui grandit (Tsang, Uauy, Koletzko, Zlotkin, 2005).

Évolution du lait au cours de la tétée

Au début de la tétée, le lait est riche en lactose, en eau et en sels minéraux avec une faible densité énergétique (40kcal pour 100ml), il est alors surtout désaltérant. Au cours de la tétée il s'enrichit en lipides et gagne en densités énergétiques (400 kcal pour 100 ml) (Tsang, Uauy, Koletzko, Zlotkin, 2005).

Variations liées à l'état nutritionnel et à l'alimentation de la mère

L'état nutritionnel et l'alimentation de la mère n'influencent pas le volume de lait produit et n'influencent que très peu la composition du lait, à l'exception de la composition et de la quantité en acides gras et de la concentration en certains micronutriments (vitamines, iode et sélénium).

1.2.4.2. Selon l'âge de la grossesse

En cas d'accouchement à terme

La composition du lait maternel évolue au cours de la lactation. Il contient plus de protéines, de lactose, de lipides et plus riche en sodium (Tsang *et al.*, 2005).

En cas d'accouchement prématuré

Le lait maternel a une composition parfaitement adaptée aux besoins du prématuré. Il est très riche en protéines, en lactose, lipides et TG à chaînes moyennes (Tsang *et al.*, 2005).

Le lait de mère ayant accouché prématurément a une teneur en protéines et en électrolytes plus élevée (Mohrbacher, Nancy, Stock, 1999).

1.2.5. Composition du lait maternel après un accouchement prématuré ou à terme

La composition du lait maternel après un accouchement prématuré et à terme est représentée dans le tableau 2.

Période de lactation	Naissance prématurée		Naissance à terme
	Transition	Mature	Mature
Protéines (g/l)	19 ± 0,5	15 ± 1	12 ± 1,5
Lipides (g/l)	34 ± 6	36 ± 7	34 ± 4
Glucides (g/l)	63 ± 5	67 ± 4	67 ± 5
Calories (Kcal/l)	660 ± 60	690 ± 50	640 ± 80
Na (mmol/l)	11,6 ± 6	8,8 ± 2	9 ± 4,1

Tableau 2 : composition du lait maternel après un accouchement prématuré ou à terme (Bombell *et al.*, 2010).

1/ Les protéines

La teneur en protéines du lait de femme, comprise entre 0.8 et 1.2 g pour 100ml, est nettement inférieure à celle des autres mammifères. Néanmoins, elle est parfaitement adaptée aux besoins du nourrisson en raison d'une excellente absorption et d'une parfaite adéquation du profil de ses acides aminés.

Les protéines sont constituées essentiellement par les caséines et les protéines solubles. (THIRION, 1999).

Les caséines

Elles sont présentes à un faible taux dans le lait maternel (40%, contre 80 % pour le lait de vache), de ce fait la coagulation du lait de femme est plus fine, ce qui permet une vidange gastrique plus rapide.

La dégradation des caséines libère des peptides à activité biologique (activité opioïde ou anti-infectieuse) ou encore des fractions glycopeptidiques stimulant la croissance des bifidobactéries dans le tube digestif du nourrisson.

Les protéines solubles

Ce sont les protéines qui ne précipitent pas avec les caséines, elles se composent essentiellement :

Des immunoglobulines et des lysozymes, intervenants indispensables dans les défenses immunitaires du nourrisson.

La lactotransferrine, qui est une protéine de transport spécifique pour le fer, pour lequel elle possède une très forte avidité. Ainsi le fer maternel présent à un taux plus faible que dans les préparations industrielles est grâce à cette protéine, capté de manière optimale par le nourrisson (Kunz , Rudloff , Baier , Klein, Strobel, 2000).

La lactotransferrine, en s'emparant du fer nécessaire au développement de certaines bactéries pathogènes dans le tube digestif du nourrisson, aurait aussi un effet protecteur anti infectieux.

Des facteurs de croissance comme l'Insuline-like Factor (TGF), les facteurs de croissance leucocytaire (G-CSF) et l'Epidermal Growth Factor (EGF), qui a une action trophique sur les muqueuses gastrique et intestinale.

On trouve aussi de l'érythropoïétine, des protéines de liaison des folates, des vitamines B12 et D, de la thyroxine et des corticostéroïdes, et différents cytokines, pro-inflammatoires (TNF-gamma, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18) ou anti-inflammatoires (IL-10, TGF-beta, IL-2), dont le rôle physiologique reste à préciser (Hamosh M 2001).

2/Les glucides

Le lait de femme est plus riche en glucides que le lait de vache (7.5 contre 4.5g pour 100 ml). Alors que le lait de vache ne comporte que du lactose, chez celui de la femme 15 % des glucides sont des oligosaccharides. Ces derniers sont formés de cinq sucres élémentaires (glucose, galactose, N-acétylglucosamine, fucose, acide sialique), de structure ramifiée, ils sont au nombre de plus de 130 .

Ces sucres ont démontré leur rôle dans la mise en place de l'écosystème bactérien colique et dans la protection des infections digestives et extra digestives en intervenant sur le système immunitaire (Heird, 2001).

3/ Les lipides

La teneur en lipides du lait maternel est proche du lait de vache (3.5g pour 100 ml). La supériorité du lait maternel réside encore dans une meilleure adaptation pour le nourrisson (Salle, 1993).

Le coefficient d'absorption des graisses issues du lait maternel dans le tube digestif du nourrisson est de 80 % les 1ers jours contre 60 % avec le lait de vache et, à 3 mois il est de 95 % contre 80 % avec le lait de vache. Ceci est dû à la présence d'une lipase spécifique aux capacités physiologiques du nourrisson. Elle est mise en activité par interaction avec les sels biliaires du tube digestif du nouveau-né et elle est spécifique à la structure des triglycérides du lait maternel (Jensen, 1995).

Le lait maternel apporte par ailleurs des acides gras essentiels intervenant dans la maturation cérébrale et rétinienne du nouveau-né, ainsi que du cholestérol intervenant dans la structure des membranes et comme précurseur hormonal notamment (Picciano, 2001).

4/ Azote et sels minéraux

Le lait maternel a une teneur faible en azote et en sels minéraux par rapport au lait de vache ce qui permet une moindre charge osmolaire rénale (80 m osm par litre contre 230 dans le lait de vache ou 170 dans une préparation pour nourrisson). En découle une meilleure adaptation en cas de pertes hydriques excessives chez le nourrisson, comme c'est là en cas de fièvre ou de diarrhées (Neville, Morton, Umemura, Lactogenesis, 2001).

1.2.6 Bénéfices du lait maternel pour l'enfant

Le lait maternel confère au nourrisson la défense immunitaire dont il est dépourvu pendant les premiers mois de sa vie, par l'apport d'anticorps produits par la mère.

Il ne couvre pas les besoins des enfants de très faible poids de naissance et nécessite donc un enrichissement en énergie, protéines, minéraux, sodium, fer, zinc et vitamines pour obtenir une croissance staturo-pondérale satisfaisante et améliorer la minéralisation osseuse (Tsang, Uauy, Koletzko, Zlotkin, 2005).

1.2.6.1. Prévention des infections

1/ Facteurs de protection du lait maternel

À la naissance, le nouveau-né a un système immunitaire immature. Il a donc besoin d'une protection efficace en attendant qu'il soit capable de synthétiser ses propres éléments de défense. Le lait maternel intervient alors à plusieurs niveaux (Comité de Nutrition de la Société Française de Pédiatrie, 2005 ; Lönnerdal B 2003).

Le lait maternel contribue à atténuer l'immaturité immunitaire du nouveau-né, en retardant l'involution de la glande thymique. Il a alors un impact positif sur la fonction lymphocytaire.

Il contient des substances qui ont une action immuno-modulatrice, participant ainsi au développement du système immunitaire du jeune enfant : hormones (ACTH, cortisol, TRH), des facteurs de croissance, des cytokines, des lactoferrines, des nucléotides, oligosaccharides, acides gras polyinsaturés.

Il participe aussi directement à la défense contre les infections en s'opposant au développement des bactéries, virus et champignons par la présence de nombreuses protéines et cellules ayant une action cytolytique sur certains agents pathogènes : Transport d'anticorps (immunoglobulines), activité bactéricide (lactoferrines, lysozyme), inhibition du développement bactérien (kappa-caséine), activité antimicrobienne (lactoperoxydase), destruction des micro-organismes agresseurs (médiateurs de la phagocytose) (Lönnerdal , 2003).

Il favorise le développement de germes bénéfiques (bifidobactéries et lactobacilles), aux dépens des bactéries pathogènes dans l'intestin, et exerce ainsi un pouvoir de protection contre certaines infections (nombreux facteurs antimicrobiens, peptides à effet bifidogène, et diminution du pH intestinal lié à l'ingestion du lait maternel).

Il contient des substances qui renforcent les défenses épithéliales intestinales et respiratoires par un effet barrière contre l'implantation des germes pathogènes (des hormones : ACTH, cortisol, vasoactive intestinal peptide..., des facteurs de croissance, des cytokines, oligosaccharides ...)

Après l'exposition ci-dessus des principaux facteurs de protections propres au lait maternel, on comprend mieux pourquoi les nourrissons allaités développent moins d'infections que ceux nourris avec des préparations lactées industrielles. Les résultats .Des études cliniques réalisées confirment que l'allaitement maternel permet de prévenir les infections du jeune enfant, et ce quel que soit le niveau socio économique du pays (Scariati, Grummer-Strawn, Fein, 1997).

2/ Prévention des diarrhées aiguë

Ce facteur protecteur a été démontré pour les diarrhées aiguës. L'allaitement maternel permet de réduire leur incidence (Kramer *et al.*, 2003).

De plus il existe une forte relation entre la durée de l'allaitement et la moindre incidence des diarrhées aiguës. Un allaitement exclusif d'une durée de six mois diminue significativement le risque de diarrhée aiguë pendant la première année de vie par rapport à un allaitement de trois mois. Le prolongement de l'allaitement maternel au-delà de l'âge de 6 mois ne semble pas par contre augmenter l'effet préventif (Comité de Nutrition de la Société Française de Pédiatrie 2005).

3/ Prévention de l'entérocolite ulcéro-nécrosante.

Le lait de femme a également un effet préventif à la fois sur l'incidence et la gravité de l'entérocolite ulcéro-nécrosante du nouveau-né.

Lucas *et al.* (Lucas et Cole , 2005) ont constatés que le risque d'entérocolite ulcéro-nécrosante était 6 à 10 fois plus fréquent chez les nouveaux nés nourris au lait artificiel que chez ceux nourris au lait maternel même utilisé en complément uniquement . Dans cette étude, les auteurs estiment que l'utilisation du lait artificiel dans les unités de soins en néonatalogie serait responsable de 500 nouveaux cas d'entérocolite ulcéro-nécrosante dont 100 seraient mortels.

4/ Prévention des otites moyennes aiguës (OMA)

Une étude menée par Duncan *et al.* ont constaté que les enfants nourris au lait maternel pendant au moins quatre mois présentent moitié moins d'épisodes d'OMA que ceux nourris au lait artificiel et 40% d'épisodes d'OMA en moins que ceux dont l'alimentation a été diversifiée avant l'âge de 4 mois. Les enfants allaités pendant au moins 6 mois ont un risque diminué par trois de développer une OMA (Duncan , Holdberg *et al.*, 1993).

Si l'allaitement est poursuivi au moins 4 mois, l'effet protecteur contre les OMA persiste les 6 premiers mois de vie. À 12 mois, les enfants qui ont été allaités exclusivement pendant 4 mois ou plus présentent une incidence des OMA de 56 % contre 68%.

Ces résultats suggèrent qu'il existe une protection prolongée de l'allaitement maternel contre les OMA.

Une étude prospective d'Aniansson *et al.* a analysé l'effet de l'allaitement sur la fréquence des épisodes d'otites moyennes aiguës. La fréquence des OMA chez les enfants allaités est significativement moins élevée que chez les enfants non allaités. Le premier épisode est

apparu plus tôt chez les enfants dont la diversification a été faite avant 6 mois (Aniansson &, Aim B, Andersson B et al 1994.)

Dans une étude réalisée par Duffy, l'allaitement maternel a également un effet protecteur sur les épisodes d'OMA et d'otites séreuses, même si l'allaitement a été de courte durée (environ 3 mois).

Les hypothèses émises pour expliquer cet effet protecteur sont : un effet mécanique lié à la façon différente de téter au sein et au biberon, un taux élevé d'IgA protectrices contenues dans le lait maternel, des nutriments protecteurs du lait maternel et un taux élevé de prostaglandines qui protégerait l'oreille moyenne de la colonisation bactérienne. (Duffy L, Faden H, Wasielewski R et al 1997)

Cet effet protecteur existe pour les épisodes aigus mais aussi pour les récurrences d'OMA (Aniansson &, Aim B, Andersson B et al 1994). Le taux de récurrence des OMA chez les enfants nourris exclusivement au sein pendant au moins 6 mois est de 10 % contre 20,5 % chez ceux qui ont été allaités moins de 4 mois. Dans l'étude de Duffy, un risque élevé d'épisodes récurrents d'OMA et d'otites séreuses a été mis en évidence chez les enfants nourris au biberon exclusivement par rapport à ceux bénéficiant d'un allaitement mixte ou complet, mais de façon non significative. (Duffy L, Faden H, Wasielewski R et al 1997)

5/ Prévention des infections pulmonaires

Plusieurs auteurs ont constaté qu'un allaitement d'au moins quatre mois permettait de réduire le nombre de consultations et d'hospitalisations pour pneumopathie. Oddy et al (Oddy WH.), lors d'une étude prospective, révèlent que jusqu'à l'âge de 12 mois, ce même nombre de consultations et d'hospitalisations pour bronchites spastiques, bronchiolites ou lors d'épidémies d'infections pulmonaires à virus respiratoire syncytial, est moindre pour les enfants allaités au moins 3 mois. Cependant, cet effet protecteur s'estompe avec le temps. (Bachrach VR, Schwarz E, Bachrach LR 2003)

L'équipe de Chantry (Chantry CJ, Howard CR.) a mis en évidence qu'un allaitement exclusif de 6 mois permet de diminuer le risque de pneumonie comparé à un allaitement de 4 à 6 mois après ajustement des variables statistiques telles que l'exposition au tabac et le mode de garde. (Rosenberg D 2003).

6/ Prévention des méningites à Haemophilus Influenzae b (Hib)

Takala et Eskola ont réalisé, en Finlande, avant la campagne de vaccination contre l'Hib, une étude sur les facteurs de risque des infections à Hib et les facteurs protecteurs. Les auteurs ont démontré qu'un allaitement maternel supérieur à 6 mois (80 % des enfants sont

allaités à l'âge de 6 mois en Finlande) protège contre les méningites à H1b. Seulement 3 % des enfants de moins de 6 mois ont déclaré une telle pathologie. L'effet protecteur est d'autant plus important que l'allaitement est prolongé. (Takala AK, Eskola J, Palmgren J et al 1989)

Au cours d'une étude cas- témoins menée en Suède, Silfverdal a montré que les bénéfices de l'allaitement maternel contre les infections invasives à H1b perdurent dans le temps. L'allaitement maternel exclusif prolongé (supérieur à 13 semaines) protège davantage qu'un allaitement mixte prolongé (supérieur à 21 semaines). Les enfants les plus âgés ont présenté moins d'infection à H1b alors qu'ils sont plus exposés aux agents bactériens. (Silfverdal SA, Bodin L, Hugosson S et al 1997).

L'allaitement maternel semble procurer un effet protecteur immédiat et un effet retardé. Cela pourrait s'expliquer par la présence de facteurs de croissance ou d'anticorps spécifiques responsables d'une immunité de base satisfaisante et de facteurs inhibiteurs de l'attachement des bactéries à la muqueuse nasopharyngée. Cet effet pourrait également être lié à la présence dans le lait maternel d'interféron gamma (IFN-gamma) et de cellules productrices d'IFN-gamma qui sont responsables de la production d'anticorps de type IgE2 (immunoglobulines G2).

C'est ce qu'a démontré Silfverdal en titrant les taux d'immunoglobulines dirigées contre H1b chez les enfants ayant bénéficié d'un allaitement prolongé (supérieur à 13 semaines). Ces taux d'immunoglobulines ont été dosés pendant l'infection aiguë à H1b et pendant la convalescence. Les enfants de 18 mois et plus, allaités de façon prolongée et exclusive, avaient un taux d'anticorps anti- H1b (IgG1, IgG2, IgA et IgM) plus élevé que les enfants allaités sur une plus courte durée. (Silfverdal SA, Bodin L, Ulanova M, Hahn-Zon'c M 1997)

7/ Prévention des infections urinaires

Au cours d'une étude réalisée en Suède, Marild et al (26) ont constaté que l'allaitement maternel prolongé permet de diminuer de façon significative le risque d'infection urinaire chez l'enfant et cet effet protecteur perdure malgré le sevrage. (Marild S, Jodal U et al 2004)

1.2.6.2. Prévention des allergies

L'allergie alimentaire est une pathologie fréquente, dont la prévalence dépasse 5 % chez l'enfant d'âge scolaire. Au cours de la vie intra-utérine et de la petite enfance, un enfant

génétiquement prédisposé est plus à risque de sensibilisation envers les allergènes rencontrés. (Turck D 2005).

Saarinen a mis en évidence que les enfants allaités au moins 6 mois profitent d'une protection contre les allergies pendant leurs 3 premières années. Un allaitement exclusif d'au moins 1 mois semble protéger des allergies alimentaires lors du pic de prévalence à l'âge de 3 ans. Cet effet protecteur perdure également pour les allergies de type respiratoire jusqu'à l'adolescence. Cependant, le caractère héréditaire de l'atopie est le facteur de risque majeur, devant l'exposition aux allergènes. (Saarinen UM, Kajosaari M 1995)

Dans cette étude, la prévalence de l'atopie chez les enfants ayant bénéficié d'un allaitement de courte durée est beaucoup plus importante que chez les enfants ayant profité d'un allaitement de longue durée et cela d'autant plus s'il y a des antécédents d'allergie dans la famille.

Dans cette étude, l'allaitement confère un effet protecteur prolongé contre les allergies pour lequel deux hypothèses sont évoquées :

- Le lait maternel pourrait favoriser la maturation de la muqueuse intestinale et du système immunitaire ;
- Le lait maternel pourrait réduire passivement l'exposition aux allergènes alimentaires en inhibant leur absorption, et être responsable d'une protection locale par l'intermédiaire de nombreuses immunoglobulines et notamment les IgA.

Une méta-analyse menée par Gdalevich a constaté que l'allaitement maternel a un effet protecteur contre la survenue d'une dermatite atopique mais cet effet n'est démontré que chez l'enfant ayant des antécédents familiaux d'atopie au premier degré (père, mère, frère ou soeur). (Gdalevich M, Mimouni D, David M, Mimouni M 2001)

Oddy et al ont réalisé une étude prospective pour évaluer l'association entre la durée de l'allaitement maternel et la survenue d'un asthme chez des enfants de la naissance à l'âge de 6 ans. Ils ont démontré une diminution significative du risque de développer un asthme chez les enfants allaités exclusivement au sein de la naissance à l'âge de 4 mois au moins. (Oddy WH, Holt PG, Sly PD et al 1999)

Dans l'étude de Kramer en Biélorussie, dans le groupe ayant bénéficié de l'intervention des professionnels de santé en faveur de la promotion de l'allaitement, une diminution de 46 % de survenue d'eczéma a été constatée. (Kramer MS, Chalmers B, Hodnett ED et al 2001)

D'autres études n'ont pas démontré d'effet protecteur de l'allaitement maternel sur le risque de survenue d'allergie et ont même démontré qu'il augmentait ce risque (Prevention strategies for asthma 2005).

Les résultats controversés peuvent s'expliquer par le fait que les méthodes employées sont différentes d'une étude à l'autre, par la complexité immunologique du lait maternel lui-même et par les différences génétiques des patients.

1.2.6.3. Prévention de l'obésité

À ce jour, le rôle protecteur de l'allaitement maternel dans la prévention de l'obésité reste débattu, même si de nombreuses études suggèrent ce rôle bénéfique.

En 2002, une étude écossaise portant sur 32 200 enfants âgés de 39 à 42 mois a démontré une prévalence de l'obésité significativement plus faible chez les enfants nourris exclusivement au sein pendant 6 à 8 semaines (Amstrong J., Reilly J 2002-2003-2004)

On retrouve dans plusieurs études le fait que la croissance staturo-pondérale des enfants - nourris d'emblée avec un lait artificiel ou sevrés précocement est plus rapide (la différence apparaissant à partir du second trimestre et ne disparaissant pas complètement à l'âge de 2 ans).

Plusieurs hypothèses sont avancées pour l'expliquer (Comité de Nutrition de la Société Française de Pédiatrie 2005) :

- Les nouveau-nés allaités au sein semblent mieux régulés (le biberon, par la possibilité de contrôler les quantités administrées, pourrait entraîner une plus grande sollicitation des mères) ;
- La stimulation des adipocytes et de l'adipogénèse avec une alimentation artificielle (par une insulïnémie significativement plus élevée) ;
- Une meilleure diversification avec l'allaitement au sein : les nouveau-nés allaités au sein semblent mieux apprécier les nouveaux goûts au bénéfice des légumes verts et fruits ;
- La teneur en protéines plus faible du lait maternel ;
- Le rôle éventuel de certains biofacteurs (hormones, peptides, insuline..).

Cet effet préventif serait probable au moins jusque dans l'enfance et l'adolescence.

1.3. Lait maternel enrichi

1.3.1. Définition

Le lait maternel constitue l'aliment de choix pour l'enfant prématuré. Sa composition en nutriments étant cependant insuffisante pour couvrir les besoins nutritionnels élevés des prématurés et leur assurer une croissance optimale, il est nécessaire d'enrichir le lait de mère avec les fortifiants.

Généralement les fortifications ne tiennent pas compte des compositions initiales fortes variables de lait de mère notamment en protéines, lipides et donc énergie, les pertes de graisse surviennent au cours des différentes manipulations (Kuschel CA, Harding JE, 2004). Par contre, certaines équipes ont développé ce qui est appelé communément fortification à la carte, qui permet d'adapter de manière individualisée la composition du lait aux besoins spécifiques du prématuré. Ce mode de supplémentation présente comme avantage de diminuer la variabilité de composition du régime d'optimiser ainsi les apports en protéines, en énergie tout en diminuant le risque d'hypermolarité (Heiman H, Schanler RJ, 2007).

La fortification semble favoriser la croissance, se rapprochant de celle obtenue avec les laits adaptés pour prématurés, tout en conservant les nombreux avantages du lait maternel. Toutefois des études ultérieures complémentaires sur une plus grande population d'enfant prématuré sont nécessaires pour confirmer ces résultats ainsi que pour préciser la composition qualitative du gain pondéral en terme de masse maigre et de masse grasse (Arslanglu S, Moro GE, Ziegler EE, 2006).

1.3.2. Les différents suppléments du lait féminin ou maternel et leurs rôles

- Eoprotine ou Fortifier 3-4% :
 - Protéines, Ca, Na, P, Mg, énergie.
 - Il sert d'apport nutritionnel, calorique et énergétique.
- Phosphore 9% : il entre dans la composition de l'os, permettant la fixation du calcium. Il intervient dans le métabolisme protéique.
- Lederfoline : il facilite l'hématopoïèse et le développement cellulaire. Il se donne en raison de 1mL/24h.
- Sodium : cette supplémentation est faite car le rein ne retient pas le Na jusqu'à 34 SA environ.
- Calcium : il est toujours associé au phosphore, et peut être donné per os ou dans l'alimentation parentérale.
- Triglycérides à chaîne moyenne (TCM) : Triglydal ou Lipocil :
 - Triglycérides (graisses), très bien absorbés par l'intestin (95% environ).

- Ils permettent d'augmenter l'apport énergétique lorsque le volume de lait fourni n'apporte pas assez de calories.
- Ils sont indiqués en cas d'hypoglycémie, de grand prématuré, d'enfant de mère diabétique, de retard de croissance intra-utérine.
- 1g de TCM (*Triglydal* *) équivaut à 9Kcal, alors que 1g de sucre équivaut à 4Kcal.

Chapitre2. Stress oxydatif

2.1. Définition

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants. (Atamer *et al.*, 2008).

Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme. Un radical libre est une molécule très réactive contenant un ou plusieurs électrons non pairés dans ses orbitales. Il retrouvera sa stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines et l'oxydation des glucides composant les acides nucléiques (Tremellen, 2008).

De façon générale, les radicaux libres contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne.

Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant de sérieuses altérations aux cellules pouvant mener à la mort cellulaire (Zou *et al*, 2008).

Les radicaux libres impliquant un ou des atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ERO). L'anion superoxyde est la forme primaire des ERO et est formée par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire . L'anion superoxyde peut ensuite être converti en ERO secondaires telles que le radical hydroxyle (OH), le radical peroxyde (ROO·) ou le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) , ce dernier n'étant toutefois pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non pairés.

Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote, le monoxyde d'azote (NO) et le peroxydazote (ONOO) étant deux espèces bien connues (Tremellen, 2008). Alors que les espèces réactives de l'oxygène induisent un stress oxydatif, les espèces réactives de l'azote induisent pour leur part un stress azoté.

2.2. Dérivés réactifs de l'oxygène

Cette appellation ROS, pour réactive n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libre de l'oxygène proprement dit (radical superoxyde, radicale hydroxyle, monoxyde d'azote, etc.) mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante comme le peroxyde d'hydrogène et le peroxydazote (Fontaine et al., 2002).

Les ROS sont générées dans le cadre du métabolisme aérobie normale, et neutralisées par les antioxydants endogènes (Berger.1997)

Un radical libre est une espèce chimique continuellement produite dans les cellules, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire, car il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron, soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Fontaine et al, 2002). Ces radicaux libres agissant en tant que pro-oxydant sont impliqués dans la genèse du stress oxydant, c'est-à-dire dans la perturbation en faveur du numérateur du rapport pro-oxydants/anti-oxydants (Rouach, 1999).

2.2.1. Production des dérivés réactifs de l'oxygène

Les cellules phagocytaires (polynucléaires et macrophages) possèdent une enzyme membranaire, la NADPH oxydase, qui est spécialisé dans la fabrication du radical superoxyde (O_2^-). Cette enzyme est activée lorsque la cellule phagocytaire est stimulée. La forte consommation d'oxygène qui en résulte est appelée : respiratory burst. La production du superoxyde est à l'origine de la production de molécules comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'hypochlorite (ClO^-) indispensable à la destruction du matériel phagocyté (Fontaine et al., 2002 ; Wood et al., 1999). La génération des radicaux libres est le prix de l'avantage énergétique du métabolisme oxydatif (Berger, 1997).

Cette voie de production de dérivés réactifs de l'oxygène est particulièrement stimulée au cours des processus infectieux et participe certainement au stress oxydatif pouvant compliquer ces états (Fontaine et al.,2002)

2.2.2 Mode d'action des dérivés réactifs de l'oxygène

Les dérivés réactif de l'oxygène (DRO) ont une grande importance comme modulateurs des processus métaboliques cellulaires(modification du potentiel redox) et comme agents

destructeurs des cellules eucaryotes. L'augmentation du taux de peroxydes (due aux DRO) entraîne une réduction du potentiel redox et par voie de conséquence une augmentation de la formation de ponts disulfure. Cela modifiera la conformation tridimensionnelle le fonctionnement de nombreux enzymes (Forceville et al., 2008).

Les effets délétères s'exercent au niveau des tissus cibles du fait de la toxicité des dérivés réactifs de l'oxygène, soit indirectement en raison des effets régulateurs positifs de certains dérivés réactifs de l'oxygène sur la production d'autres médiateur inflammatoires et immunitaires dont, en particulier, la plupart des cytokines inflammatoires et pour certains d'entre eux, sur l'orientation de la différenciation lymphocytaire (Reimund, 2002). Récemment on a montré que les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont de façon générale capable d'activer l'expression des gènes notamment pour des cytokines pro-inflammatoires (Defraigne *et al.*, 2007).

2.2.3. Définition des radicaux libres :

Les radicaux libres sont définis comme des espèces chimiques capables d'une existence indépendante et possédant une orbitale dont un électron au moins ou non apparié ou célibataire. Un électron apparié occupe une orbitale atomique ou moléculaire par lui-même. Les radicaux libre, par la présence on leur sein, d'un ou plusieurs électrons non apparié, sont sensible à un champ magnétique. C'est la raison pour laquelle ils sont qualifiés d'entités paramagnétiques (Halliwell et Gutteridge, 2007)

Les radicaux sont des sous produits des réactions cellulaires d'oxydoréduction, des éléments hyperactifs capable d'extraire un électron des molécules voisines pour combler la valence de leur orbitale. Ils auront tendance à arracher des atomes aux molécules pour reconstituer une paire d'électrons assurant une liaison stable (Chandan, 1999)(Grandjean, 2001). En effet, les liaisons entre atomes sont principalement réalisées par la mise en commun de deux électrons. Les radicaux libres peuvent être formés suite à la perte ou le gain d'un électron à partir d'une entité non radicalaire ; ils vont donc agir en tant qu'agent oxydant (le cas le plus fréquent) ou réducteur (Halliwell et Guetteridge, 2007 ; Steven, 2006).

Elles peuvent aussi produite par fission homolytique, qui veut dire par rupture symétrique d'une liaison covalente, à l'issue de laquelle chaque atome conserve un électron (Jungbluth, 2008).

Les radicaux libres de l'oxygène sont des molécules oxygénées plus réactives que l'oxygène que l'on retrouve dans l'aire (Soffler 2007). Il existe d'autres molécules réactives contenant

de l'oxygène, non radicalaires (Abuja et Albertini, 2001). En effet, la littérature anglo-saxonne désigne les radicaux libres de l'oxygène et les espèces réactives de l'oxygène (ROS pour reactive oxygen species). Ces dernières incluent des espèces non radicalaires de l'oxygène telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'ozone (O_3) qui sont capables d'induire des lésions tissulaires oxydantes (Deaton et Marlin, 2003 ; Chandan, 1995). Ainsi, tous les espèces réactives de l'oxygène ne sont pas des radicaux libres (Halliwell et Gutteridge, 2007).

2.2.3.1. Les espèces radicalaires dérivés de l'oxygène :

Le radical libre superoxyde $O_2^{\cdot-}$

Parmi les espèces réactives de l'oxygène, le radical libre superoxyde est celui qui possède la réactivité la plus faible vis-à-vis des substrats bio-organiques (Jungbluth, 2008). Il possède un électron de plus que le dioxygène dans sa forme stable (Halliwell et Gutteridge, 2007).

Le radical hydroperoxyde HO_2^{\cdot}

C'est un acide conjugué de l'anion superoxyde, c'est une forme protonée de l'anion superoxyde.



Le radical hydroperoxyl HO_2^{\cdot} est plus réactif que le superoxyde $O_2^{\cdot-}$. Sa présence en solution aqueuse dépend du PH. La réactivité du radical hydroperoxyl et son caractère non ionisé lui permettent de traverser les membranes biologiques plus efficacement que le radical superoxyde (Halliwell et Gutteridge, 2007). Cela suggère qu'il est capable de causer des dégâts. Il peut réagir avec les acides gras polyinsaturés (Jungbluth, 2008).

Le radical hydroxyle OH^{\cdot}

Il est formé en présence de métaux de transition, par exemple l'ion ferreux Fe^{2+} , lorsque l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ réagit avec le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 au cours de la réaction d'Haber-Weiss évoquée précédemment (Deaton et Marlin, 2003). Ce radical va chercher à capter un électron et se comportera donc en agent oxydant. Il s'agit d'une espèce hautement réactive, ayant un potentiel destructeur et mutagène élevé. La membrane mitochondriale y est particulièrement sensible car située à proximité de son lieu de formation (Steven, 2006).

Le radical peroxy RO_2^{\cdot}

En présence d'un puissant oxydant (X^+), une molécule organique RH peut être transformée en radical libre. Cette réaction se fait généralement par une rupture d'une liaison carbone-hydrogène (déshydrogénation) :



Les radicaux R^{\cdot} ainsi obtenus sont transformés en radicaux peroxydes RO_2^{\cdot} par addition d'une molécule de dioxygène selon la réaction :



Les radicaux peroxy peuvent alors arracher un atome d'hydrogène H^+ à une autre molécule organique RH, formant ainsi des hydroperoxydes RO_2H et des radicaux libres R^{\cdot} comme suite :



Les radicaux R^{\cdot} peuvent réagir avec une molécule de dioxygène comme vu précédemment et propager, ainsi, une réaction en chaîne produisant des hydroperoxydes. Il s'agit d'une peroxydation. Dans les cellules cette chaîne réactionnelle affecte principalement les acides gras polyinsaturés ; il s'agit de la peroxydation lipidique. Les radicaux peroxydes sont de bons oxydants (Junghbluth, 2008).

Le radical carbonate $CO_3^{\cdot-}$

Il est formé lorsque OH^{\cdot} réagit avec des ions carbonate CO_3^{2-} ou bicarbonate HCO_3^- ou lorsque $ONOO^-$ réagit avec les dioxydes de carbone CO_2 (Halliwell et Gutteridge, 2007).



Le radical carbonate oxyde certaines molécules dont l'acide hyaluronique et certains acides aminés que sont la guanine et la méthionine mais la contribution du radical carbonate dans les dégâts causés par un stress oxydant in vivo n'est pas réellement connue. (Halliwell et Gutteridge, 2007).

Le radical alkoxyde RO·

En présence de métaux de transition (M^+), les hydroperoxydes produisent des radicaux alkoxyde RO· Qui prolongent le processus de réaction en chaîne en agissant sur une molécule organique RH (Junghbluth, 2008) :



2.2.3.2. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaire

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Il s'agit d'un intermédiaire stable mais très oxydant, capable de diffuser au sein des membranes hydrophobes et participant à la production de plusieurs molécules dont les plus réactives sont $\text{OH}\cdot$ et HOCl (Ohia *et al.*, 2005 ; Deaton et Marlin, 2003). En présence de métaux de transition, principalement le fer, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 est capable de produire le radical hydroxyle $\text{OH}\cdot$.

L'oxygène singulier O_2 ou O_2

Il possède deux électrons appariés et hautement réactif comparativement à $^3\text{O}_2$. Les radicaux peroxyde RO_2 peuvent réagir entre eux pour former l'oxygène singulier au cours de la peroxydation lipidique. L'oxygène singulier réagit avec des molécules contenant des doubles liaisons carbonées pour former des peroxydes. (Halliwell et Gutteridge, 2007).

L'hydroperoxyde lipidique LOOH

Il peut avoir pour origine l'arrachement d'un hydrogène insaturé à un acide gras polyinsaturé (exemple : acide gras polyinsaturé membranaire selon la réaction :



Assez peu réactionnel, les hydroperoxydes peuvent, en présence de métaux de transition, reformer des radicaux alkoxyde. En ce qui concerne les effets cellulaires des peroxydes lipidiques, ils sont similaires à ceux du peroxyde d'hydrogène (Halliwell et Gutteridge, 2007).

L'hypochlorite OCl^-

L'hypochlorite provient de la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et l'ion chlore, réaction catalysée par une myéloperoxydase (Deaton et Marlin, 2003).



L'hypochlorite réagit rapidement avec une grande variété de molécules biologiques telles que les protéines, les peptides, les lipides, l'ADN et divers aminoacides (Jungbluth, 2008).

L'ozone O₃

La réaction de l'ozone avec plusieurs biomolécules telles que NADPH, NADH, la cystéine, l'albumine, la méthionine ou l'acide urique produit le singulier ¹O₂ qui pourrait secondairement générer des oxydation. L'ozone est souvent considéré comme un toxique exogène mais il serait formé in vivo, chez l'homme (Halliwell et Gutteridge, 2007).

Il existe aussi d'autres composants, tous peuvent être considérés comme des espèces réactives de l'oxygène mais sont généralement regroupés sous l'appellation des espèces réactives de l'azote, il s'agit principalement du monoxyde d'azote et de ses dérivés, le dioxyde de carbone et le peroxydite (Soffler, 2007).

2.3. Source

Les facteurs responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme sont appelés facteurs oxydants. Ils se divisent en facteurs endogènes et exogènes. Une des plus grandes sources endogènes de production de radicaux libres est la mitochondrie, organite utilisant de l'oxygène pour produire de l'ATP. Au cours de la respiration cellulaire, 95 à 990/0 de l'oxygène consommé est réduit en eau. Toutefois, 1 à 5% de l'oxygène est transformé en anion superoxyde dans les complexes I et III de la chaîne de transport des électrons (Finaud *et al*, 2006). Ainsi, la production de radicaux libres est proportionnelle à la consommation d'oxygène, ce qui signifie que l'activité physique, malgré ses nombreux bienfaits, constitue un facteur oxydant. Dans leur revue, Finaud et coll. affirment que dans la majorité des cas, malgré les mécanismes d'adaptation antioxydants dont bénéficie l'humain, l'exercice physique intense ou de longue durée dépasse les capacités antioxydantes de l'organisme et contribue au développement du stress oxydatif. De plus, les peroxysomes, les microsomes ainsi que les leucocytes tels les granulocytes (neutrophiles et éosinophiles) et les macrophages sont d'importantes sources de production de radicaux libres (Zou *et al.*, 2008. Valko *et al.*, 2006).

Les granulocytes et les macrophages, grandement impliqués dans le système immunitaire de par leur rôle à éliminer certains antigènes, sont munis d'un système NADPH-oxydase capable de produire des anions superoxyde (Finaud *et al*, 2006). Parmi les facteurs

endogènes, on retrouve également le stress psychologique, l'inflammation (infection, maladies chroniques), le cancer, l'ischémie, et la mort cellulaire (Moller *et al.*, 1996).

2.4. Marqueurs de stress oxydatif

2.4.1. Potentiel antioxydant

Bien que mesurer directement les quantités de dommages oxydatifs aux macromolécules soit la méthode la plus efficace pour déterminer l'impact du stress oxydatif chez un individu, il est aussi possible de mesurer le potentiel antioxydant de l'organisme. Entre autres, la capacité antioxydante totale, utilisant comme biomarqueur le TRAP pour total radical trapping antioxydant Paramètre, mesure l'action cumulative de tous les antioxydants présents dans le plasma et les liquides corporels. Le glutathion et le ratio glutathion réduit / glutathion oxydé sont également des paramètres populaires (Romieu *et al.* 2008). Une technique relativement nouvelle, l'analyse du condensat exhalé, consiste à recueillir des biomarqueurs de l'oxydation provenant des voies respiratoires (Rahman et Biswas, 2004). Cette technique présente l'avantage considérable d'être non invasive.

2.4.2. Dommages oxydatifs aux lipides

Alors que l'oxydation des lipides représente l'utilisation du substrat énergétique, la peroxydation des lipides est la dégradation des acides gras membranaires. Elle constitue par conséquent un indice de dommages oxydatifs effectués aux lipides. La peroxydation lipidique génère une variété de produits de décomposition relativement stables, principalement des aldéhydes, insaturés tels le malondialdéhyde, le 4-hydroxy-2nonéanal, le 2-propéanal et les isoprostanes qui peuvent être mesurés dans le plasma et l'urine comme marqueurs indirects de stress oxydatif. Le dosage des F2-isoprostanes est actuellement considéré comme l'approche la plus rigoureuse pour évaluer les niveaux de peroxydation lipidique causée par les radicaux libres *in vivo*. Les données disponibles indiquent que la quantification des F2-isoprostanes dans le plasma ou dans l'urine donne un indice de stress oxydatif hautement précis et approprié (Dalle-Donne *et al.* 2006).

Également, les hydroperoxydes lipidiques, les substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique ainsi que les diènes conjugués sont largement utilisés comme marqueurs de peroxydation lipidique pouvant être mesurés dans le plasma (Vincent et Taylor, 2006). (Kadiiska *et al.*, 2005).

2.4.3. Dommages oxydatifs aux protéines

Lorsque des radicaux libres réagissent avec des protéines saines, plus précisément avec le groupement radical (chaîne latérale) des acides aminés, il en résulte la formation de groupement carbonyles. Le dosage plasmatique des protéines carbonylées est actuellement le marqueur d'oxydation avancée des protéines le plus utilisé, aussi bien *in vivo* que *in vitro*, pour mesurer les dommages oxydatifs effectués aux protéines (Dalle Donne *et al.*, 2006) (Chevion *et al.*, 2000). La grande stabilité chimique des protéines carbonylées en fait une cible intéressante pour les mesures en laboratoire. De plus, leur stabilité suite à un entreposage au froid de 10 ans a été démontrée (Dalle-Donne *et al.*, 2006).

La quantification des protéines carbonylées est aussi un test sensible et spécifique (Romieu *et al.*, 2008). Parmi les marqueurs plasmatiques, on retrouve également la sulfoxydation de la méthionine et les produits de la tyrosine (Kadiiska *et al.*, 2005). Pour ce qui est de la possibilité de mesurer l'oxydation des protéines en examen de santé routinier, le dosage des produits de l'oxydation avancée des protéines serait une des rares méthodes à être à la fois simple et peu dispendieuse (Selmeçi *et al.*, 2008).

2.5. Défense antioxydant

L'organisme est équipé d'antioxydants intracellulaires et extracellulaires, essentiels (micronutriments) ou non essentiels synthétisés par l'organisme). On distingue encore des systèmes antioxydants enzymatiques, auxquels un certain nombre de micronutriments participent directement (Berger, 1997).

L'organisme dispose de puissants systèmes de protection sous forme d'antioxydants. D'une part une multitude d'antioxydants proprement dit sont synthétisés par l'organisme (essentiels) ou le plus souvent apportés par notre alimentation (non essentiels). D'autre part des systèmes enzymatiques extrêmement complexes qui assurent la réparation des éventuels dommages oxydatifs au niveau des protéines. S'y ajoutant quelques oligoéléments qui sont les cofacteurs de divers enzymes à activité antioxydant (Defraigne *et al.*, 2007 ; Berger, 1997).

Une cellule peut toutefois subir un stress oxydatif lorsque son contenu en ROS dépasse ses capacités de défense antioxydant, soit par une augmentation de la production de ROS, soit par une diminution de ses capacités de défense, soit par les deux mécanismes combinés (Ré *et al.*, 2005).

2.6 Le stress oxydatif comme facteur de risque des maladies

2.6.1 Rôle du stress oxydatif dans le développement des maladies chroniques

La génération d'espèces réactives de l'oxygène et d'autres radicaux libres au cours du métabolisme cellulaire est un processus normal et nécessaire qui est idéalement compensé par un système antioxydant endogène élaboré. Toutefois, en raison de différentes situations environnementales et pathologiques ainsi que certaines habitudes de vie, un excès de radicaux libres peut s'accumuler, résultant à un stress oxydatif (Willcox et al., 2004).

La conséquence majeure de ce dernier est le dommage qu'il cause aux bases des acides nucléiques, aux lipides et aux protéines, lequel peut sévèrement compromettre la santé et la viabilité d'une cellule ou induire une variété de réponses cellulaires par la génération d'espèces réactives secondaires et ultimement, mener à la mort cellulaire par nécrose ou par apoptose. Un dommage oxydatif à une seule de ces biomolécules peut, théoriquement, contribuer au développement d'une maladie (Dalle-Donne *et al*, 2006). Une quantité croissante d'évidences scientifiques suggère que le stress oxydatif soit relié aux mécanismes pathophysiologiques primaires ou secondaires d'une multitude de maladies chroniques et aiguës. (Dalle-Donne *et al*, 2006)

2.6.2 Radicaux libres et voie de l'apoptose

La voie d'induction de la mort cellulaire ou apoptose est une voie maintenant bien décrite. Dans la membrane mitochondriale en fonction de certaines conditions et en particulier la production de radicaux libres, s'ouvre un pore, le pore de transition qui permet de libérer du cytochrome C qui, normalement, se trouve entre les deux membranes. Le cytochrome C va activer une voie, cette voie libère la production de radicaux libres, les modifications de la membrane mitochondriale et le déclenchement des voies d'apoptose.

2.6.3. Rôle du stress oxydant dans la réponse immunitaire

Le stress oxydant, par excès de production de médiateurs oxydants et/ou du fait d'une carence en certains éléments nutritifs indispensables au maintien d'une défense antioxydante adapté, contribue à la genèse, du moins à l'entretien de la réponse inflammatoire et immunitaire au cours des inflammations chroniques. Les dérivés réactifs de l'oxygène font partie des médiateurs libérés par les polynucléaires neutrophiles et les monocytes/macrophages (Reimund, 2002). En effet, en situation de défense antibactérienne, les cellules inflammatoires produisent de façon contrôlée des radicaux libres (Munck, 2000),

qui ont une activité bactéricide (Forceville et al, 2008), par différentes voies métaboliques. Un système antioxydant performant permet de protéger les cellules contre l'effet agressif des radicaux libres (Munck, 2000).

2.7. Evaluation du stress oxydatif

Le caractère particulièrement bref de la demi-vie des radicaux libres rend leur mise en évidence directe délicate. L'évaluation indirecte de l'agression radicalaire est généralement utilisée, soit par mesure de l'activité antioxydantes, soit par dosage des produits générés par la peroxydation (Ghisilfi-Marque et al., 1996)

2.8. Stress oxydatif chez les prématurés

De nombreuses études indiquent que la prématurité, qui représente 8 % des naissances, est associée à des indices précoces de dysfonction vasculaire, d'élévation de la pression sanguine et de survenue de diabète de type 2. Les enfants nés prématurément sont plus sujets aux blessures oxydatives de par l'immaturité de leurs défenses antioxydantes et de leur exposition à des situations pro-oxydantes (exposition à l'air ambiant, à un supplément d'oxygène, ou à une exposition aux infections). Cependant, les conséquences à long terme des blessures oxydatives induites par une exposition à l'oxygène en période périnatale restent méconnues (Catherine Yzydorczyk ,2011).

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

3.1. Population étudiée

La population étudiée était composée de dix (10) prématurés (allaitement maternel) hospitalisés au service néonatalogie de l'E.H.S Mère-Enfant de Tlemcen et vingt (20) contrôles [dix (10) prématurés (allaitement artificiel) et dix (10) à terme (allaitement maternel)]. Aucun prélèvement et questionnaire n'a été effectué sans consentement parentale signé au préalable. Le questionnaire englobait les caractères démographiques, l'aspect physique et les habitudes alimentaires.

3.2. Prélèvement sanguin

Les prélèvements du sang ont été réalisés au niveau de la veine, le sang a été collecté dans des tubes héparinés et des tubes secs codifiés préalablement. Les tubes ont été centrifugés après chaque prélèvement à 4000 tours/minutes pendant 5min pour les premiers et 3000tours/minutes pour les tubes secs pendant 15 min, ensuite aliquotés et conservés à température de -20°C au sein du laboratoire de Biologie Moléculaire Appliqué et d'Immunologie.

3.3. Enquête alimentaire

Voire questionnaire (annexe)

3.4. Dosage des paramètres antioxydants

3.4.1. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma L'ORAC

Le pouvoir antioxydant total du plasma, c'est sa capacité à absorber les radicaux oxygènes libre, il est estimé par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse par les radicaux libres in vitro en présence du plasma selon la méthode de BLANCHE et PROST. Cette méthode est basée sur le suivi en fonction du temps du l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres. Son principe consiste à suivre l'hémolyse des hématies en fonction du temps et par mesure de la densité optique, dans le but d'évaluer le taux de protection des cellules, assurée par tous le arsenal enzymatiques et le système chimique, responsables de la défense antioxydant dans l'échantillon.

Il s'agit de soumettre une suspension d'hématies à une agression radicalaire dans des conditions strictement contrôlées et standardisées. Tous les systèmes enzymatiques et chimiques de l'échantillon se mobilisent pour protéger l'intégrité des cellules jusqu'à leurs lyse. Ainsi l'hémolyse se fait graduellement en fonction du temps, la mesure, toutes les 5

minutes, de l'augmentation de l'absorbance à 450 nm permet de suivre la cinétique de l'hémolyse.

3.4.1.1 Principe

Consiste à suivre en fonction du temps et par mesure de l'augmentation de la densité optique (DO), l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres dans le but d'évaluer le taux de protection des cellules assurée par tous les systèmes enzymatiques et chimique responsables de la défense antioxydant dans l'échantillon.

3.4.1.2. Solution à préparer

a/ Eau physiologique : 9g de chlorure de sodium (NaCl) dans un litre d'eau distillée .

b/ Solution du CuSO_4 à 2mM : 0.32g de CuSO_4 dans un litre d'eau distillée.

c/ Solution d'acide ascorbique (Vit C) à 400uM : 0.07g d'acide ascorbique dans un litre d'eau distillée.

3.4.1.3. Mode opératoire

Préparation du blanc

- 1ml de culot (globule rouge), provenant d'un donneur sains, du groupe sanguin " O " positif, le prélèvement à été le jour même de l'expérience au niveau du centre de transfusion sanguine (C.T.S au niveau de C.H.U Tlemcen).
- 2ml d'eau physiologique.
- 20 μl de CuSO_4 .
- 20 μl de H_2O_2 à 30%.

Préparation de l'étalon

- 1ml de culot (globules rouges), provenant d'un donneur sain, du groupement " O " positif.
- 2ml d'eau physiologique.
- 20 μl de CuSO_4 .
- 20 μl de H_2O_2 .
- 20 μl d'acide ascorbique à 400 μM .

Préparation de l'échantillon

- 1ml de culot (globules rouges), provenant d'un donneur sain, du groupement "O" positif.
- 2ml d'eau physiologique.
- 20µl de plasma.
- 20µl de CuSo₄.
- 20µl de H₂O₂.

Chaque tube est homogénéisé délicatement, incubé pendant 5mn à température ambiante et centrifugé à 2000 t/mn pendant 5min.

Le surnageant est récupéré et sa densité optique est lu à 450nm, ce dernier va être récupéré dans le tube de départ, mélangé et incubé pendant 10min à température ambiante, la centrifugation et la lecture se font toutes les 10 min (9 fois).

3.4.1.4. Calcul

L'ORAC de chaque échantillon est calculé par :

$$\text{ORAC}_{\text{échantillon}} = \frac{\text{Moyenne (DO}_{\text{blanc}} - \text{Do}_{\text{échantillon}})}{\text{Moyenne (DO}_{\text{blanc}} - \text{DO}_{\text{étalon}})}$$

3.4.2. Vitamine C

3.4.2.1. Principe

La vitamine C plasmatique est dosée selon la méthode de Jacota et Dani , utilisant le réactif de Folin. Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (10%) et centrifugation, le réactif de folin est ajouté au surnageant, la Vit C présente dans le surnageant réduit le réactif de folin donnant une coloration jaune. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en est déterminée à partir de courbe étalon obtenu grâce à une solution d'acide ascorbique (Jacota H., et Dana HM 1982).

3.4.2.2. Solution à préparer

Acide trichloroacétique TCA à 10%

3.4.2.3. Mode opératoire

Première étape

- 500 µl de plasma.
- 250 µl de TCA.
- Vortex puis incubé 30minutes au bain glacé.

- Centrifuge à 3000 tour/min.

Deuxième étape

- 700 µl surnageant.
- 150 µl de Folin.
- Vortex puis incubé 18 minutes à 37°C.

Couleur bleu au bout de l'incubation stable jusqu'à 18 heures.

Utilisation d'une courbe d'étalonnage préalablement réalisée pour la détermination des concentrations.

3.4.2.4. Calcul

$$[C] = DO \times 0.0015 / 0.0091$$

3.4.3. Evaluation de l'activité du catalase

3.4.3.1. Principe

Le taux de l'activité de la catalase est mesuré au niveau du plasma par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition de peroxyde d'hydrogène selon la méthode d'AEBI.

3.4.3.2. Solution à préparer

- L'eau physiologique : 9g de chlorure de sodium (NaCl) + 1 litre d'eau distillée.
- Solution d'H₂O₂ à 30mmol/l : 0.34ml d'H₂O₂ à 30% + 100ml d'eau physiologique
- Réactif TiOSO₄ (Titanium Oxyde Sulfate) : 1.7g de TiOSO₄ + 500ml H₂SO₄.
- Faire bouillir pendant 10 min en couvrant l'Érlenmeyer, laisser reposer une nuit, puis le filtrer (Filtre Whatman) et le conserver à l'abri de la lumière à température ambiante.

3.4.3.3. Mode opératoire

Gamme étalon

S1 : 5mM = 500 µl de la SM + 2,5 ml d'eau physiologique.

S2 : 3mM = 500 µl de la SM + 4,5 ml d'eau physiologique.

S3 : 2mM = 500 µl de la SM + 7 ml d'eau physiologique.

S4 : 1,5mM = 500 µl de la SM + 9,5 ml d'eau physiologique.

S5 : 1mM = 2ml S3 + 2ml d'eau physiologique.

S6 : 0,5mM = 1 ml S3 + 1ml d'eau physiologique.

On prélève 1,5 ml de chaque dilution et on ajoute dans 500 µl de TiOSO_4 : on vortex et on li la DO à 420nm contre le blanc (eau physiologique plus TiOSO_4).

On prélève 500 µl de plasma et en ajoute 500 µl de H_2O_2 et 500 µl d'eau physiologique. On vortex puis on incube cinq minutes à température ambiante. Ensuite, on ajoute 500 µl de TiOSO_4 , on vortex et li la DO à 420nm contre le blanc. Composé de 1.5ml d'eau physiologique et de 500 µl de TiOSO_4 .

3.4.1.3.3. Calcul

On trace la courbe de la gamme étalon : $\text{DO} = f(\text{H}_2\text{O}_2)$, puis on projette les DO des échantillons sur la droite d'étalonnage et on déduit les concentrations de H_2O_2 restantes.

On calcule la différence $A = (\log \text{ de la concentration de départ } - \log \text{ de la concentration d}'\text{H}_2\text{O}_2 \text{ restantes})$.

$$A = \log 10 - \log [\text{H}_2\text{O}_2]$$

L'activité de la catalase plasmatique est exprimée en U/min /ml = $A \times 1.5 / (0.5 \times 5\text{min})$

1.5 Volume de l'incubation, 0.5 volume de l'échantillon.

3.5. Dosage des paramètres biochimiques

3.5.1. Calcium

3.5.1.1. Principe

Le calcium présent dans l'échantillon réagit avec le bleu de méthyle thymol en milieu alcalin, pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie la présence d'hydroxyquinoléine dans le réactif évite l'interférence du magnésium.

3.5.1.2. Mode opératoire

1/Etalon

- 10 µl etalon calcium.
- 1ml réactif de travail.
-

2/ Blanc

- 1ml réactif de travail.

3/ Echantillon

- 10 µl échantillon.
- 1ml réactif de travail.

Bien agiter et placer les tubes pendant 2mn à température ambiante.

Lire l'absorbance (A) de l'étalon et de l'échantillon contre le blanc à 610nm, la couleur est stable au moins une heure.

3.5.1.3. Calcul

La concentration de calcium de l'échantillon est calculée en utilisant la formule générale suivante :

$$A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Etalon}} \times C_{\text{Etalon}} \times \text{Facteur de dilution échantillon} = C_{\text{Echant}}$$

3.5.2. Protéines totales

3.5.2.1. Principe

Les protéines présentes dans l'échantillon réagissent avec les ions cuivre (II) en milieu alcalin pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie.

3.5.2.2. Mode opératoire

1/Blanc

- 20 µl d'eau distillée.
- 1ml réactif A.

2/Etalon

- 20 µl étalon de protéine.
- 1ml réactif A.

3/Echantillon

- 20 µl échantillon.
- 1ml réactif A.

Bien agiter et incuber les tubes pendant 10mn à température ambiante.

Lire l'absorbance (A) d'étalon et de l'échantillon face au blanc à 545nm .

3.5.2.3. Calcul

$$[\text{Protéine totale}] = A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Etalon}} \times C_{\text{Etalon}}$$

3.5.3. Phosphore

3.5.3.1. Principe

Le phosphore inorganique présent dans l'échantillon réagit avec le molybdate en milieu acide pour donner un complexe quantifié par spectrophotométrie.

3.5.3.2. Mode opératoire

1/Blanc

- 10 µl eau distillé.
- 1ml réactif de travail.

2/Etalon

- 10 µl étalon.
- 1ml réactif de travail.

3/Echantillon Blanc

- 10 µl d'échantillon.
- 1ml réactif A

4/Echantillon

- 10 µl d'échantillon.
- 1ml réactif de travail.

Bien agiter et laisser les tubes pendant 5min à température ambiante.

Lire l'absorbance (A) d'échantillon blanc contre l'eau distillée à 340nm.

Lire l'absorbance (A) d'étalon contre l'eau distillée à 340nm.

3.5.3.3. Calcul

La concentration du phosphore de l'échantillon est calculée selon la formule

$$(A_{\text{Echantillon}} - A_{\text{Blanc échantillon}} / A_{\text{Etalon}}) \times \text{Facteur de dilution} = C_{\text{Echantillon}}$$

Chapitre 3. Résultat et interprétation

Tableau 3 : Caractéristiques démographiques chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi (PAMR).

Variable	Contrôles ATLM (a)	PAAR (b)	PAMNR (c)	PMAR (d)	<i>p</i>
Age (semaine)	37.7 ± 0.213	32.5 ± 0.401	33.4 ± 0.669	33.2 ± 0.290	a,b 0.000 a,c 0.000 a,d 0.000 b,c 0.148 b,d 0.257
Périmètre Crânien (cm)	34.85 ± 0.940	31.6 ± 0.802	29.00 ± 0.428	29.90 ± 0.640	a,b 0.003 a,c 0.000 a,d 0.000 b,c 0.016 c,d 0.388
Poids à la naissance (Kg)	3.365 ± 0.229	1.830 ± .146	1.595 ± 0.130	1.850 ± 0.157	a,b 0.000 a,c 0.000 a,d 0.000 b,c 0.141 c,d 0.0462
Taille (cm)	47.98 ± 1.034	42.00 ± .324	39.85 ± 0.695	40.91 ± 0.872	a,b 0.000 a,c 0.000 a,d 0.000

P < 0.05 est considérée statistiquement significative. Les variables sont présentées sous forme de moyenne ± erreur standard.

Le tableau 3 représente les caractéristiques démographiques des nouveaux nés à terme avec un allaitement maternel (contrôles) comparés des prématurés répartis en trois groupes.

On remarque une différence significative entre les contrôles et les prématurés allaités au lait artificiel et au lait maternel enrichi ou non, en ce qui concerne l'âge, le poids, le périmètre crânien et la taille.

Tableau 4. Taux de l'ORAC chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par apport aux prématurés enrichi (PAMR)

Variable	ORAC (AU)		<i>P</i>
Contrôles (a) ATAM	1.24 ± 0.113	a,d	0.000
PAAR (b)	1.372 ± 0.142	a,c	0.244
PAMNR (c)	1.075 ± 0.0716	c,d	0.000
PAMR (d)	0.234 ± 0.017	b,d	0.000

P < 0.05 est considérée statistiquement significative. Les variables sont présentées sous forme de moyenne ± erreur standard

Le tableau 4 représente le taux de l'ORAC chez les nouveaux à terme avec un allaitement maternel (contrôles) comparés des prématurés répartis en trois groupes.

On remarque une différence significative entre le taux de l'ORAC chez les contrôles par rapport aux prématurés allaités au lait maternel enrichi, et aussi entre les prématurés allaités au lait artificiel et ceux allaités au lait maternel enrichi et non enrichi.

FIGURE 1 : Taux de l'ORAC chez les nouveaux nés à terme allaités au lait maternel (contrôles) et des prématurés.

1 : ATAM 2 : PAAR 3 : PAMNR 4 : PAMR

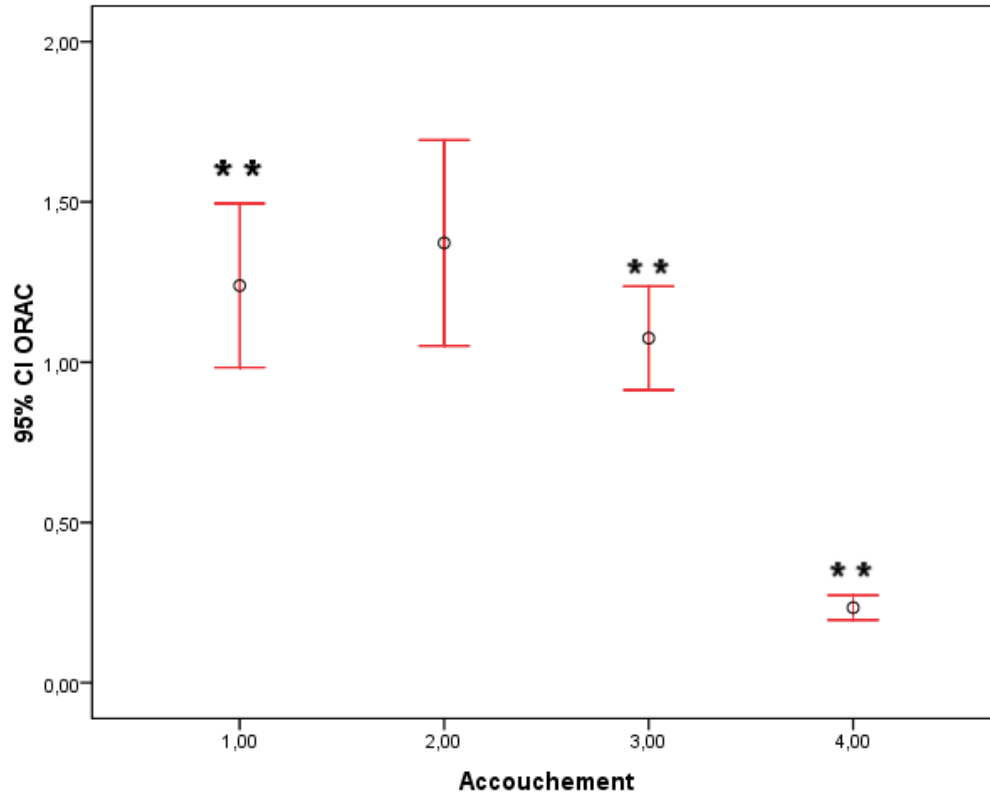


Tableau 5 : Taux de la Catalase chez les contrôles (ATLM, PAAR, PAMNR) par rapport aux prématurés enrichi (PAMR)

Variable	CATALASE (IU/mL)		P
Contrôles (a) ATAM	1.914 ± 0.104	a,d	0.006
PAAR (b)	1.461 ± 0.225	a,c	0.008
PAMNR (c)	1.375 ± 0.099	a,b	0.023
PAMR (d)	1.351 ± 0.037	b,d	0.569

P < 0.05 est considérée statistiquement significative .Les variables sont présentées sous forme de moyenne ± erreur standard

Le tableau 5 représente le taux de la catalase chez les nouveaux à terme avec un allaitement maternel (contrôles) comparés à des prématurés répartis en trois groupes.

On remarque une différence significative entre le taux de la catalase chez contrôles par rapport aux prématurés allaités au lait maternel enrichi et non enrichi.

FIGURE 2 : Taux de la Catalase chez nouveaux nés à terme allaités au lait maternel (contrôles) et les prématurés.

1 : ATAM 2 : PAAR 3 : PAMNR 4 : PAMR

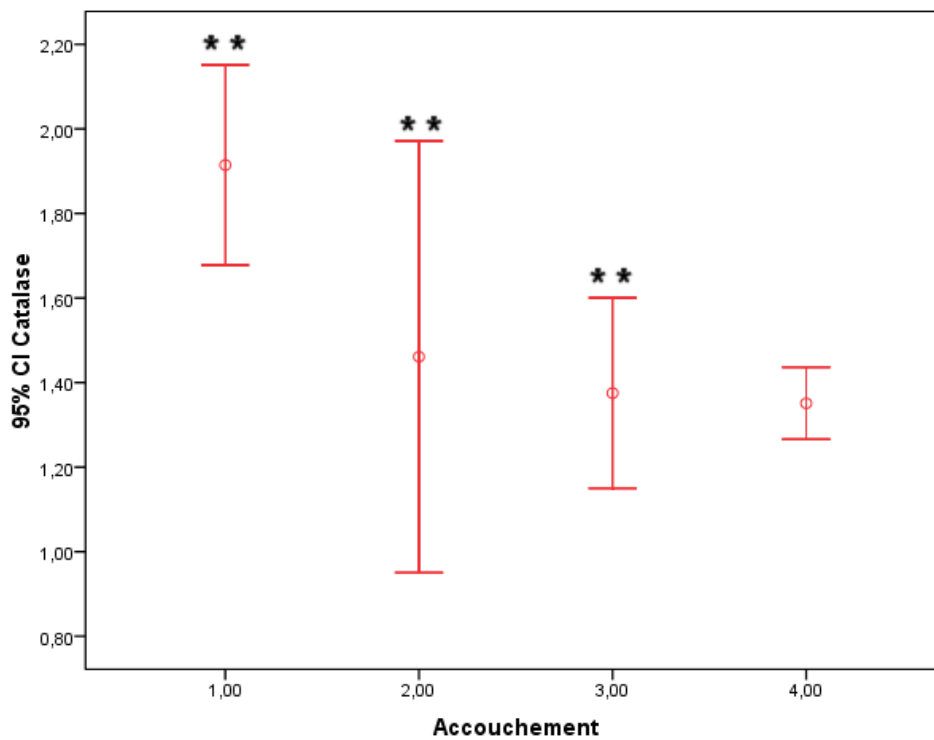


Tableau 6 : Taux de la Vitamine C chez les contrôles (ATLM, PAAR) par apport aux prématurés enrichi (PMAR);

Variable	VITAMINE C ($\mu\text{mol//L}$)		P
Contrôles (a) ATAM	0.0945 \pm 0.0379	a,b	0.103
PAAR (b)	0.0480 \pm 0.00786	a,c	0.236
PAMNR (c)	0.0610 \pm 0.00657	a,d	0.003
PAMR (d)	0.0061 \pm 0.00218	c,d	0.056

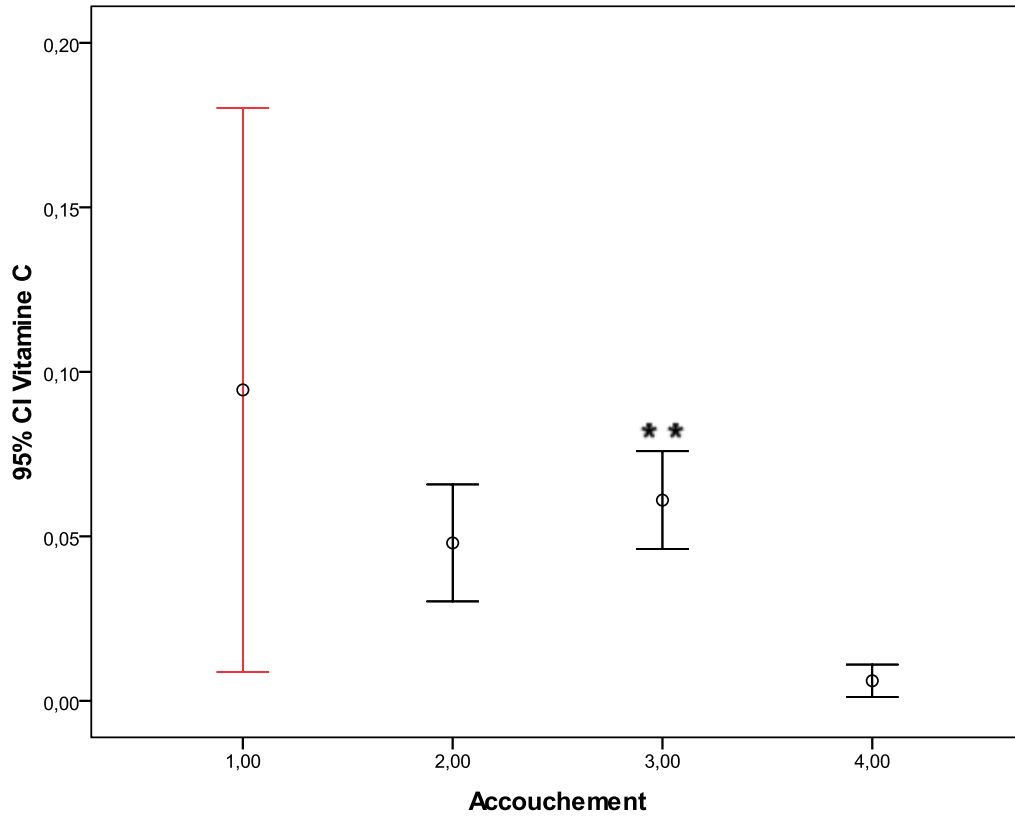
P < 0.05 est considérée statistiquement significative .Les variables sont présentées sous forme de moyenne \pm erreur standard

Le tableau 6 représente le taux de Vitamine C chez les nouveaux à terme avec un allaitement maternel (contrôles) comparés à des prématurés répartis en trois groupes.

On remarque une différence significative entre le taux de la vitamine C chez les contrôles par rapport aux prématurés allaités au lait maternel non enrichi, et aussi une légère différence les prématurés allaités au lait maternel enrichi et non enrichi.

FIG : 3 : Taux de la Vitamine C chez les nouveaux nés à terme (contrôles) et des prématurés

1 : ATAM 2 : PAAR 3 : PAMNR 4 : PAMR

**Tableau 7** : Taux des protéines chez les contrôles (ATLM, PAAR) par apport aux prématurés enrichi (PMAR).

Variable	PROTEINES (g/l)		P
Contrôles (a) ATAM	79.827 ± 5.074	a,b	0.002
PAAR (b)	60.253 ± 4.321	a,c	0.000
PAMNR (c)	41.193 ± 13.024	a,d	0.000
PAMR (d)	45.865 ± 2.000	b,c	0.016

P < 0.05 est considérée statistiquement significative .Les variables sont présentées sous forme de moyenne ± erreur standard

Le tableau 7 représente le taux des protéines chez les nouveaux à terme avec un allaitement maternel (contrôles) comparés à des prématurés répartis en trois groupes.

On remarque une différence significative entre le taux des protéines chez les contrôles par rapport aux prématurés allaités au lait artificiel et maternel enrichi et non enrichi.

FIGURE 4 : Taux des protéines chez les nouveaux nés à terme (contrôles) et des prématurés .

1 : ATAM 2 : PAAR 3 : PAMNR 4 : PAMR

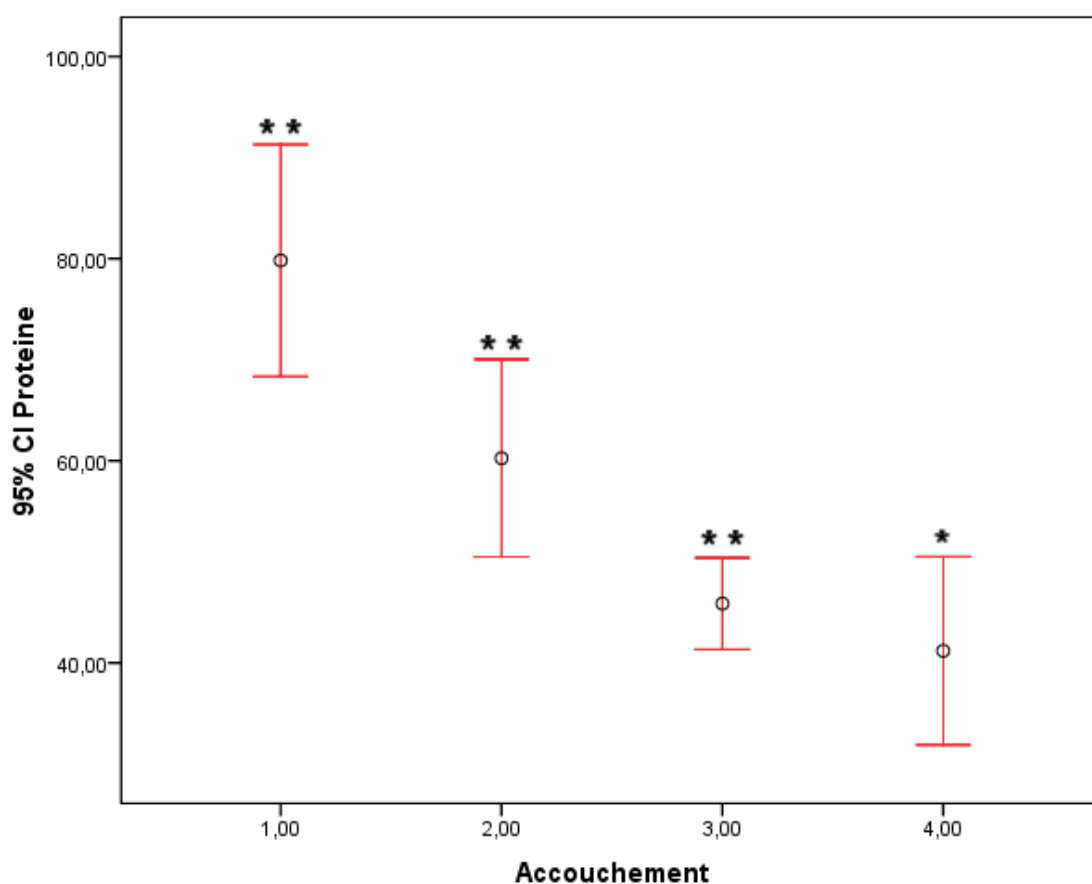


Tableau 8 : Taux du Phosphore chez les contrôles (ATLM, PAAR) par apport aux prématurés enrichi (PMAR)

Variable	PHOSPHORE(Eq /L)		P
Contrôles (a) ATAM	3.017 ± 0.230	a,b	0.718
PAAR (b)	2.888 ± 0.296	a,c	0.395
PAMNR (c)	2.712 ± 0.257	c,d	0.049
PAMR (d)	3.434 ± 0.207	b,c	0.132

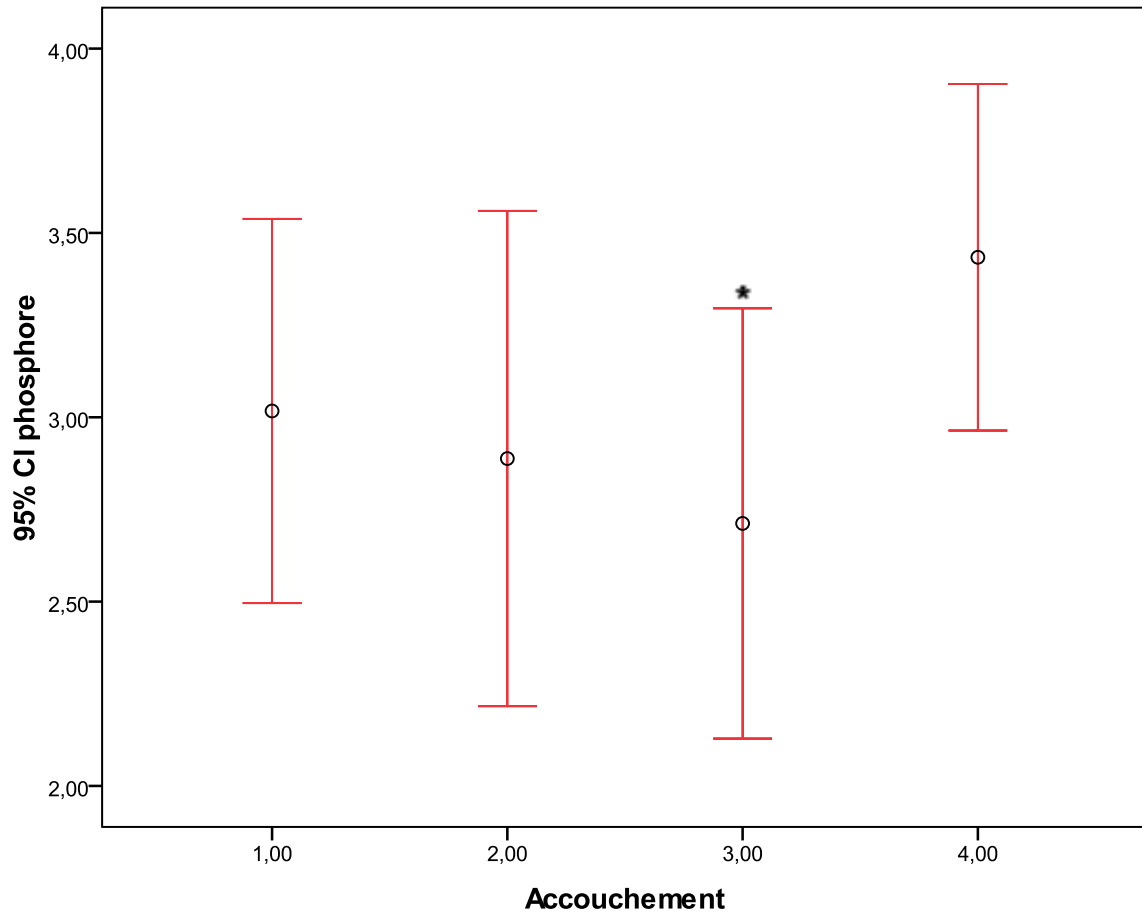
P < 0.05 est considérée statistiquement significative .Les variables sont présentées sous forme de moyenne ± erreur standard

Le tableau 8 représente le taux du phosphore chez les nouveaux à terme avec un allaitement maternel (contrôles) comparés à des prématurés répartis en trois groupes.

On ne remarque aucune différence entre le taux du phosphore chez les contrôles par rapport aux prématurés allaités au lait artificiel et maternel enrichi et non enrichi.

FIGURE 5 : Taux du Phosphore chez les nouveaux nés à terme (contrôles) et des prématurés.

1 : ATAM 2 : PAAR 3 : PAMNR 4 : PAMR

**Tableau 9 :** Taux du Calcium chez les contrôles (ATLM, PAAR) par apport aux prématurés enrichi (PMAR)

Variable	CALCIUM (Eq /L)		P
Contrôles (a) ATAM	5.073 ± 0.374	a,b	0.519
PAAR (b)	4.591 ± 0.400	a,c	0.053
PAMNR (c)	3.593 ± 0.353	c,d	0.015
PAMR (d)	5.482 ± 0.818	b,c	0.186

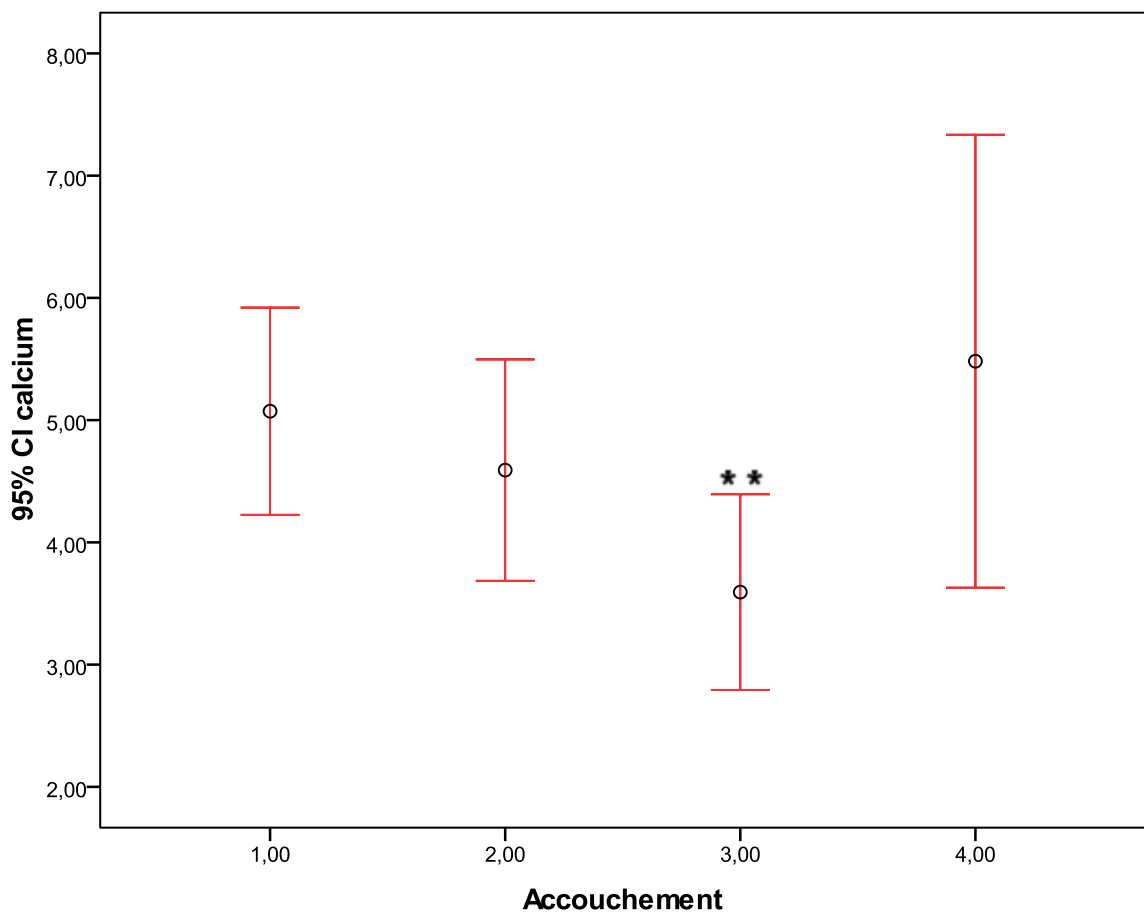
P < 0.05 est considérée statistiquement significative .Les variables sont présentées sous forme de moyenne ± erreur standard.

Le tableau 9 représente le taux du calcium chez les nouveaux à terme avec un allaitement maternel (contrôles) comparés à des prématurés répartis en trois groupes.

On remarque une légère différence significative entre le taux du calcium chez les contrôles par rapport aux prématurés allaités au lait artificiel et aussi entre les prématurés allaités au lait maternel enrichi et les prématurés allaités au maternel non enrichi.

FIGURE 6 : Taux du Calcium chez les nouveaux nés à terme (contrôles) et des prématurés

1 : ATAM 2 : PAAR 3 : PAMNR 4 : PAMR



Chapitre 4. Discussion

Les enfants prématurés ont la particularité de naître alors que leur développement est souvent incomplet et nécessite la mise en œuvre de soins intensifs visant à poursuivre leur croissance en dehors de l'environnement utérin. Souvent cependant, le stade développemental de l'enfant ne lui permet pas d'assimiler une alimentation entérale du fait de l'immaturation de son système digestif (Razafimahefa, 2011).

La standardisation des protocoles de nutrition et leur mise en place dans les unités permettent d'améliorer la prise en charge nutritionnelle globale. Un champ complet de recherche vise encore actuellement à déterminer la stratégie nutritionnelle la plus efficace pour le prématuré de faible poids de naissance en vue d'obtenir la meilleure évolution en termes de croissance et de développement (Razafimahefa, 2011)

Les enfants nés prématurés sont extrêmement sensibles aux molécules oxydantes quelles qu'elles soient. Durant le développement du fœtus, l'expression des enzymes du système de défense antioxydante n'est pas identique dans tous les tissus. Si certaines enzymes gardent sensiblement la même activité durant toute la grossesse et après l'accouchement, d'autres sont nettement activées après la naissance à terme. Le stress oxydant associé au changement de pression partielle en oxygène lors de la naissance est un activateur de plusieurs enzymes (Razafimahefa, 2011) .

Les travaux de Frank *et al* ont pu mettre en évidence l'immaturation des systèmes enzymatiques (Siems *et al.*, 1995).

Le présent travail avait pour but d'analyser l'effet des différentes façons d'administrer le lait maternel chez les prématurés (enrichi ou non enrichi) sur le développement du stress oxydatif.

Les résultats de notre étude ont montré une diminution significative de la capacité antioxydante (ORAC), de la catalase et de la vitamine C chez les prématurés par rapport aux nouveaux-nés nés à terme, ceci peut s'expliquer par le fait que le système de protection antioxydant de l'enfant n'étant mature qu'au cours du troisième trimestre de grossesse la production d'espèces oxydantes devient problématique chez les prématurés (Saugstad, 2005 ; Petersen et Doorn, 2004).

Parmi ces espèces, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) issu de l'oxydation des multivitamines, le trans-4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) issu de la peroxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) de la série n-6 (Poli et Schaur ,2000).

De plus on remarque chez les prématurés allaités au lait maternel enrichi que l'ORAC, la Catalase et la Vit C sont significativement plus bas par rapport à ceux allaités avec du lait maternel non enrichi. Ceci permet de penser que l'introduction de d'une substance exogène au lait maternel pourrait interférer avec le pouvoir anti oxydant de ce dernier, soit (i) en induisant un stress oxydatif via les molécules apportées, ce qui peut conduire à une activation de facteurs de transcription intra-hépatiques et au déclenchement d'un processus inflammatoire potentiellement responsable du développement du stress oxydatif (Evans et Halliwell, 1999) ou (ii) en réduisant les capacités antioxydantes du lait maternel par une production excessive de radicaux libre (193) peut être d'origine exogène.

Chapitre 7. Conclusion et perspectives

La partie oxydative de ce travail montre que l'enrichissement du lait maternel peut avoir un effet négatif sur les capacités oxydatives chez le prématuré allaité.

L'étude que nous avons entreprise a montré que l'enrichissement, a des effets forts important aboutissant à une diminution des systèmes antioxydantes. Cet effet est essentiel à l'état optimal de l'enrichissement.

La question qui reste soulevé est la suivante : quelle est l'impact clinique réel de cette diminution biologique du pouvoir anti oxydant chez les prématurés recevant du lait maternel enrichi en protéines et en minéraux ? et quelle est la balance bénéfice/risque ?

Ceci peut faire l'origine d'une étude sur un échantillon plus large, pour vérifier nos résultats et les coupler à l'évaluation à court et à moyens de certains facteurs de jugements cliniques (fréquences de l'entérocolite Ulcéro-nécrosante et de la rétinopathie du prématuré par exemple).

Chapitre 8. Références bibliographiques**A**

Ahmed L, S Nazrul Islam, MN Khan, Huque S & M Ahsan (2004) Antioxydant profil en micronutriments (vitamine E, C, A, cuivre, zinc, fer) de colostrum: association avec des caractéristiques maternel est. *J Pediatr Trop* 50, 357-358.

Ames BN (2004) Un rôle pour les suppléments dans l'optimisation de la santé: les voies métaboliques *Arch Biochem Biophys* 423, 227-234.

T Anlasik, Sies H, Griffiths RH, Mecocci P, Stahl W & Polidori MC (2005) diététiques habitsare principaux déterminants de l'état antioxydant du plasma chez des sujets sains âgés. *Br J Nutr* 94, 639-642.

Arber N & B Levin (2008) La chimioprévention du cancer colorectal: le médicament potentiel for personalized. *Gastroenterology* 134, 1224-1237.

Atamer A, A Bilici, Yenice N, S Selek, Ilhan N & Atamer Y (2008) L'importance de la paraoxonase 1 activité, l'oxyde nitrique et de la peroxydation des lipides dans hepatosteatosis. *Int J Med Res* 36, 771-776.

Arslanlu S, Moro GE, Ziepler EE, Ajustable fortification of human milk fed to preterm infants does it make a difference *Perinatol* 2006; 26:64-21.

Alary J, Bravais F, Cravedi JP, Debrauwer L, Rao D, Bories G. Mercapturic acid conjugates as urinary end metabolites of the lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal in the rat. *Chem Res Toxicol*. 1995;8:34-9.

B

Baba L & McGrath IM (2008) d'oxygène des radicaux libres: les effets de la période néonatale. *Adv Soins néonatales* 8, 256-264.

Bendich A, Mallick R & S Leader (1997) des avantages potentiels sur la santé économique de la vitamine supplémentation. *J West Med* 166, 306-312.

Bentes de Souza AM, Wang CC, CY Chu, CM Briton-Jones, Haines • CJ & MS Rogers (2004) L'exposition in vitro au dioxyde de carbone induit un stress oxydatif dans les cellules mésothéliales humaines péritonéale. *Hum Reprod* 19, 1281-1286. Écouter

Boaz M, Smetana S, T Weinstein, Matas Z, U Gafer, Iaina A, Knecht A, Y Weissgarten, Brunner D, M & Green Fainaru MS (2000) La prévention secondaire avec des antioxydants de la maladie cardio-vasculaire dans la maladie rénale en phase terminale (SP ACE): étude randomisée placebo contrôlé. *Lancet* 356, 1213-1218.

Bruno RS, Leonard SW, Atkinson J, TI Montine, R Ramakrishnan, Bray TM & Traber MG (2006) de plasma rapide disparition de la vitamine E chez les fumeurs est normalized par la vitamine C supplémentation. *Biol Med Radie libre* 40, 689-697.

Burke KE (2007) Interaction de vitamines C et E ainsi mieux cosméceutiques. *Il Dermatol* 20, 314-321.

Barker D.J.P. : The foetal and infant origins of disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1995 ; 25 : 457-63.

Buettner, G.R. and F.Q. Schafer, Free radicals, oxidants, and antioxidants. *Teratology*, 2000. 62(4): p. 234

C

Cao G & Cutler RG (1995) Prote de l'oxydation et le vieillissement. I. Difficultés de mesure carbonyles réactive protéine dans les tissus à l'aide de 2,4-dinitrophénylhydrazine. *Biophys Biochem* Areh 320, 106-114.

Carney LM & Camey AM (1994) d'oxydation ofprotein rôle dans le vieillissement et liées à l'âge les maladies neurodégénératives. *Vie Sei* 55, 2097-2103.

Castellini C, E Mourvaki, Dai Bosco A & Galli (2007) de vitamine E et la biochimie fonction: une étude de cas chez le lapin mâle. *Anim Domest Reprod* 42, 248-256.

Chehab O, Ouertani M, Y Souiden, Chaieb K & K Mahdouani (2008) antioxydants Plasma et le vieillissement de l'homme: une étude sur la population tunisienne âgée. *Bioteehnl Mol* 40, 27-37.

Chevion M, E & Berenshtein Stadtman ER (2000) étudie l'homme liés à la protéine oxydation: prote de la teneur en carbonyle comme un marqueur de dégâts. *Radie libre Res Suppl* 33, S99-108.

Chiba, Shimada A, N Kumagai, K Yoshikawa, S Ishii, Furukawa A, S Takei, M Sakura, Kawamura N & M Hosokawa (2008) La sénescence accélérée Mouse (SAM): A

Catherine Zyzdorczyk. Rôle du stress oxydant en période néonatale dans l'hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et métabolique de l'adulte (2011).

E

Evans, P. and B. Halliwell, Free radicals and hearing. Cause, consequence, and criteria. *Ann N Y Acad Sci*, 1999. 884: p. 19-40

G

Goldberg GR, Prentice AM. Maternal and fetal determinants of adult diseases. *Nutr. Rev.*, 1994 ; 52 : 191-200.

H

Dictionnaire - Afficher le dictionnaire Holvoet P, E Macy, Landeloos M, D Jones, Jenny NS, Van de Werff & Tracy RP (2006) analyseles performances et la précision diagnostique des

tests immuno-pour la mesure de circulation des LDL oxydées. Clin Chem 52, 760-764.

Houston MC (2007) Le rôle du mercure et de métaux lourds cadmium dans les maladies vasculaires, l'hypertension, les maladies coronariennes et l'infarctus du myocarde. Altern Il Santé Med 13, S128-133.

Hu Y, bloc G, NORKUS EP, Morrow JD, Dietrich M & M Hudes (2006) • Les relations de l'index glycémique et la charge glycémique avec des marqueurs plasmatiques du stress oxydatif. Am J Clin Nutr 84, 70-76; quiz 266-267.

Heiman Hs, Schanler RJ, Enteral nutrition for premature infant: The role of human milk . Seminares in fetal and Neonatal Medecine Nutrition 2007.

J

jelakovic G, D Nikolova, Gluud LL, Simonetti & RG Gluud C (2007) de mortalité dans les essais randomisés de suppléments d'antioxydants en prévention primaire et secondaire: revue systématique et méta-analyse. Jama 297, 842-857.

Jackson & AH HA Sheehan (2005) Effet ofvitamin A sur le risque fracturaire. Ann Pharmaeother 39, 2086-2090.

Jensen & SK Lauridsen C (2007) stéréoisomères alpha-tocophérol. Horm Vitam 76, 281 308.

Jialal I, CJ Fuller & Huet BA (1995) L'effet de la supplémentation en alpha-tocophérol sur le L'oxydation des LDL. Une étude dose-réponse. Vase Thromb Arterioseler Biol 15, 190-198.

K

Kadiiska MB, BC Gladen, Baird DD, D Germolec, LB Graham, Parker CE, Nyska A, JT Wachsman, Ames BN, S Basu, N Brot, GA Fitzgerald, RA Floyd, M George, JW Heinecke, GE Hatch, K Hensley , le juge Lawson, Marnett LJ, Morrow JD, DM Murray, Plastaras J, Roberts LJ, 2e, Rokach J MK Shigenaga,, RS Sohal, Sun J, RR Tice, DH Thiel Van, Wellner D, PB Walter, KB Tomer, Mason RP & Barrett JC (2005) Biomarqueurs de stress oxydatif étude II: les produits d'oxydation des lipides, des protéines et des marqueurs d'ADN de l'empoisonnement CCl4? Biol Med Radie libre 38, 698-710.

Kadirvel R, K Sundaram, S Mani, Samuel S, N & C Elango Panneerselvam (2007) La supplémentation en acide ascorbique et l'alpha-tocophérol empêche l'arsenic induit par l'oxydation des protéines et des dommages à l'ADN induits par l'arsenic chez les rats. Exp Hum Toxicol26, 939-946.

Kelly FJ (2003) Le stress oxydatif: son rôle dans la pollution de l'air et les effets néfastes sur la santé. Ooeup Environ Med 60, 612-616.

Kushi LH, Foisom AR, Prineas RJ, Mink PJ, Wu Y & Bostick RM (1996) vitamines antioxydantes diététiques et de décès par maladie coronarienne chez les femmes ménopausées. J Med N Engl 334, 1156-1162.

Kuschel CA, Harding JE, Multicompanant fortified human milk for promoting growth in preterme infants 2004, CD 000343.

L

Lane JS, Magno CP, Lane KT, T Chan, Hoyt DB & S Greenfield (2008) Nutrition impacts la prévalence de la maladie artérielle of peripheral aux États-Unis. *Vase J Surg. Annu Rev Nutr* 25, 151-174.

Lauridsen C, H Engel, Craig AM & Traber MG (2002) relative bioactivité du régime alimentaire RRR et acétates all-rac-alpha-tocophérol dans porcine évalué avec deuterium labeled vitamine E. *J Anim Sei* 80, 702-707.

Lewis GR (2004) Si les médecins découragent suppléments nutritionnels? Un cardio-vasculaires point de vue. *Circ Poumon Cœur* 13, 245-251.

Lobenberg R & W Steinke (2006) Enquête sur les comprimés de vitamines et minérales et capsules sur le marché canadien. *Sei J Pharm Pharm* 9, 40-49.

Levine M, C Conry-Cantilena, Wang Y, RW ch Wei, PW Washko, KR Dhariwal, IB Park, Lazarev A, IF Graumlich, le roi 1 & LR Cantilena (1996) La vitamine C pharmacocinétique chez des volontaires sains: preuve d'un régime alimentaire recommandé allocation. *AEAD Natl Proe Sei USA* 93, 3704-3709.

Loft S, P Moller, Cooke MS, Rozalski R & Olinski R (2008) et de vitamines antioxydantes le risque de cancer: des dommages oxydatifs de l'ADN d'un biomarqueur pertinent? *Eur J Nutr* 47 Suppl 2, 19-28.

Lucas A. : Programming by early nutrition in man. In : Bock GR, Whelan J, eds. *The childhood environment and adult disease*. CIBA Foundation Symposium 156. Chichester : John Wiley and Sons, 1991 : 38-55.

Levine, M., Vitamin C: turning over a new leaf. *Nutrition*, 1989. 5(6): p. 428.

Levine, M., et al., Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996. 93(8): p. 3704-9.

M

MacWilliam L (2003) guide comparatif de suppléments nutritionnels, troisième édition ed: Northern dimensions de l'édition.

MacWilliam L (2007) guide comparatif de suppléments nutritionnels, quatrième édition ed: Northern dimensions de l'édition

Major GC, Doucet E, Iacqmain M, St-Onge M, C & Bouchard Tremblay (2008) Multivitamines et des suppléments alimentaires, le poids et l'appétit: les résultats d'une transversale et une étude randomisée en double aveugle contrôlée par placebo. *Br J Nutr* 99, 1157-1167.

Matsumoto Y, Ogawa Y, Y Oshida R, Shimamori A, H & Kasai Ohta H (2008) La stabilité du marqueur du stress oxydatif, urinaires de 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OHdG), lorsqu'il est conservé à temp'érature chambre. *Santé Oeeup J* 50, 366-372.

Miller ER, 3e, R-Pasteur Barriuso, Dalal D, RA Riemersma, LI Appel & E Guallar (2005) Méta-analyse: la supplémentation à forte dose de vitamine E peut augmenter ali-cause la mortalité. *Intern Med* 142, 37-46 Ann

Manevich, Y. and A.B. Fisher, Peroxiredoxin 6, a 1-Cys peroxiredoxin, functions in antioxidant defense and lung phospholipid metabolism. *Free Radic Biol Med*, 2005. 38(11): p. 1422-32

P

Paneth N, Susser M. : Early origin of coronary heart disease (the " Barker hypothesis "). Hypotheses, no matter how intriguing, need rigorous attempts at refutation. *Br. Med. J.*, 1995 ; 310 : 411-2

Petersen DR, Doorn JA. Reactions of 4-hydroxynonenal with proteins and cellular targets. *Free Radic Biol Med*. 2004;37:937-45.

Poli G, Schaur RJ. 4-Hydroxynonenal in the pathomechanisms of oxidative stress. *IUBMB Life*. 2000;50:315-21.

R

Rey J., Bresson J.-L. : Conséquences à long terme de la nutrition dans l'enfance. In : Brunser O, Carrazza F, Gracey M, Nichols B, Senterre J, eds. *Nutrition du jeune enfant*, vol 2. New York : Raven Press, 1995 : 637-57.

Razafimahefad.H ;Nutrition of the preterm infant 2011

S

Sokolovic D, Djindjic B, J Nikolic, Bjelakovic G, Pavlovic D, G Kocic, Krstic D, T & Cvetkovic Pavlovic V (2008) La mélatonine réduit le stress oxydatif induit par l'exposition chronique des radiations électromagnétiques des téléphones mobiles dans le cerveau de rat. *Res Radiat J (Tokyo)* 49, 579-586.

Spiteller G (2007) Le rôle important de la peroxydation lipidique dans les processus de vieillissement et de l'âge maladies à charge. *Mol Biotechnol*37, 5-12.

Stampfer MJ, CH Hennekens, JE Manson, GA Colditz, B & Rosner Willett WC (1993) La vitamine E la consommation et le risque de maladie coronarienne chez les femmes. *N Engl J Med* 328, 1444-1449.

Steenvoorden DP & van Henegouwen GM (1997) L'utilisation d'antioxydants endogènes améliorer la photoprotection. *B J Photobiol Photochem* 41, 1-10.

Stephens NG, Parsons Un PM Schofield,, F Kelly, «K & Cheeseman Mitchinson MJ (1996) Essai contrôlé randomisé de la vitamine E chez les patients atteints de la maladie coronarienne: Étude Cambridge Heart Antioxydant (CHAOS). *Lancet* 347, 781-786.

Stojiljkovic MP, HF Lopes, Zhang D, Morrow JD, TL Goodfriend & BM Egan (2002) L'augmentation des acides gras du plasma élève F2-isoprostanés chez l'homme: implications pour les la grappe facteur de risque cardiovasculaire. *J Hypertens* 20, 1215-1221.

T

Tapia SA & Araya MM (2006) [Le stress oxydatif, prooxydants et la maladie de Crohn]. Rev Med il Ch. 134, 95-100.

Traber MG, Frei & B Beekman LS (2008) La vitamine E revisitée: de nouvelles données ne valident-elles pas la prévention des maladies chroniques? Curr Opin Lipidol 19, 30-38.

Tremellen K (2008) Le stress oxydatif et de l'infertilité masculine - une perspective clinique. Bourdonnement Reprod Update 14, 243-258.

V

Valko M, Morris H & Cronin MT (2005) des métaux, la toxicité et le stress oxydatif. Curr Med Chem 12, 1161-1208.

Valko M, Rhodes CI, Moñicol I, Izakovic M & M Mazur (2006) Les radicaux libres, des métaux et antioxydants dans le stress oxydatif induit le cancer. Biol Chem Interact 160, 1-40.

Villa-Colinayo V, W Shi, Araujo I & Lusis AI (2000) Génétique de l'athérosclérose: l'impact de la recherche de gènes agissant au niveau de la paroi du vaisseau. Rep Atheroscler Curr 2, 38-389.

Vincent HK & Taylor AG (2006) biomarqueurs et les mécanismes potentiels de l'obésité induite par stress oxydant chez l'homme. Int J Obes (Lond) 30, 400-418.

W

Wang L, G Muxin, H Nishida, C Shirakawa Sato S, T & Konishi (2007) Psychological Le stress induit par le stress oxydatif comme un modèle de la condition sous-santé et le Effet de la MTC. Alternat Evid se complètent Med 4, 195, -202.

Wang Y (2008) encombrants lésions de l'ADN induites par les espèces réactives de l'oxygène. Chem Toxicol Res 21, 276-281.

Willcox IK, Ash SL & Catignani GL (2004) Antioxydants et prévention des maladies chroniques la maladie. Alimentation Rev Nutr Cru Sei 44, 275-295.

Willett WC & Stampfer MI (2001) pour la pratique clinique. Quelles sont les vitamines doivent prendre 1, médecin? J Med N Engl 345, 1819-1824.

Wharton B. Food and biological clocks. Proc. Nutr. Soc., 1992 ; 51 : 145-53

Wellner D, PB Walter, KB Tomer, Mason RP & Barrett JC (2005) Biomarqueurs de stress oxydatif étude II: les produits d'oxydation des lipides, des protéines et des marqueurs d'ADN de l'empoisonnement CCl₄? Biol Med Radie libre 38, 698-710.

Wassmann, S., K. Wassmann, and G. Nickenig, Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. Hypertension, 2004. 44(4): p. 381-6.

Y

Yeh CC, R Graham Barr, Po CA ell ~, S-Mesia Vela, Wang Y, NK Hamade, IH Austin & Santella RM (2008) Pas d'effet de la dose la cigarette sur le plasma oxydé protéines. Environ Res 106, 219-225.

Yusuf S, G Dagenais, Pogue 1, Bosch 1 & P Sleight (2000) et de supplémentation en vitamine E événements cardiovasculaires chez les patients à haut risque. La prévention Heart Outcomes Investigateurs de l'étude d'évaluation. J Med N Engl 342, 154-160.

Annexe

Questionnaire de la fréquence alimentaire de la mère au moment de la grossesse

1/ Donnée démographique :

Nom Prénom.....

Date de naissance

Gestionnaire G.....P.....

Groupe sanguin.....

2/Aspect physique :

Poids(Kg).....Taille(Cm).....

IMC(Kg/Cm).....

Avez-vous gagner ou perdu du poids au moment de la grossesse ?

Oui.....Non.....

Trouble neurologique :

Oui.....Non.....

Habitude alimentaire :-Riche en glucide.....

-Riche en lipide.....

-Riche en protéine.....

-Equilibré.....

Intolérance à un aliment particulier :.....

Avez-vous l'habitude de sauter un repas ?

Oui.....Non.....

Prenez vous des suppléments alimentaire ?

Oui.....Non.....

Votre habitude alimentaire sont influencé par votre état physique ?

Oui.....Non.....

Les quels ?

Stress : Oui..... Non.....

Infection :Oui..... Non.....

Inflammation :Oui.....Non.....

Traitez vous une maladie ?

Oui.....Non.....

HTA :Oui.....Non.....

Diabète :Oui.....Non.....

Cardiaque :Oui.....Non.....

Date de l'enquête.....

Service.....

Nouveau née hospitalisé.....

N^o du dossier.....

1/Donnée démographique :

Non prénom.....

Sexe Masculin.....Féminin.....

Age.....

Date et lieu de naissance.....

Résidence.....

Age gestationnel.....

2/ Aspect physique :

Poids(Kg).....Taille(Cm).....

Périmètre crânienne.....

Date de prélèvement avant l'allaitement enrichi.....

Date de prélèvement après l'allaitement enrichi.....

Date de prélèvement après l'accouchement

RESUME

Introduction

Le lait maternel confère au nourrisson la défense immunitaire dont il est dépourvu pendant les premiers mois de sa vie, par l'apport d'anticorps produits par la mère. Il est en mesure de satisfaire la plupart des besoins nutritionnels des prématurés, L'ajout de produits d'enrichissement au lait maternel peut éventuellement être nécessaire au début pour maintenir un statut biochimique adéquat .Cependant cet enrichissement permet d'interférer avec certains antioxydant et paramètres biochimiques.

Matériels et Méthodes

La capacité antioxydante de 40 échantillons de plasma provenant de 10 nouveau-nés prématurés allaités au lait maternel (avant l'enrichissement et après), 10 nouveau-nés prématurés allaités au lait artificiel, 10 à terme allaités au lait maternel, tous hospitalisés au niveau du service de néonatalogie, a été mesurée en dosant : l'ORAC, la vit C, et la Catalase.

Résultats

Une diminution significative de l'activité antioxydante chez les prématurés allaités du lait maternel enrichi par rapport aux témoins.

Conclusion

L'enrichissement du lait maternel augmente le stress oxydatif chez les prématurés.

Mots clés Prématurés, lait maternel enrichi, stress oxydatif.

ABSTRACT

Background

Breast milk provides the infant immune defense he lacks during the first months of premature Adding enrichment products to breast milk may possibly be necessary in the beginning to maintain adequate biochemical status. However enrichment allows interfere with certain antioxidant parameters biochemical.

Materials and Methods

The antioxidant capacity of 40 plasma samples from 10 preterm infants breastfed at (before and after enrichment), 10 preterm infants breastfed infant formula, 10 term breastfed at all hospitalized at the neonatology department, was measured by assaying: ORAC, the vit C, and Catalase.

Results

A significant decrease in antioxidant activity in premature infants breastfed breast milk enriched compared to controls.

Conclusion

The fortification of human milk increases oxidative stress in preterm infants.

Keywords Premature, breast milk enriched, oxidative stress

ملخص

مقدمة

يوفر حليب الأم الدفاع المناعي الرضع أنه يفقد خلال الأشهر الأولى من حياته، من خلال توفير الأجسام المضادة التي تنتجها الأم. أنها قادرة على تلبية معظم الاحتياجات الغذائية للامبركة إضافة إلى منتجات تخصيب حليب الثدي قد يكون ربما من الضروري في البداية للحفاظ على حالة البيوكيميائية كافية. ولكن هذا يسمح تخصيب تتداخل مع بعض المعلمات للأكسدة البيوكيميائية

مواد وطرق

الفترة المضادة للأكسدة من 40 عينات من البلازما 10 الخدج الرضاعة الطبيعية في (قبل وبعد التخصيب)، 10 الخدج حليب الأطفال رضاعة طبيعية، و 10 المدى رضاعة طبيعية على الإطلاق في المستشفى قسم حديثي الولادة، والتي تقاس يعاير: ORAC، وفيتامين C، والكاتالاز.

النتائج

وحدث انخفاض كبير في النشاط المضادة للأكسدة في الأطفال الخدج الرضاعة الطبيعية حليب الأم المخصب مقارنة مع الضوابط.

استنتاج

تحسين الحليب البشري يزيد من الاكسدة في الخدج كلمات من السابق لأوانه، حليب الثدي المخصب