

*République algérienne démocratique et populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*  
*Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen- Faculté des Sciences*  
*Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire*

387  
30/06/10

*Laboratoire de valorisation des actions de l'homme pour la  
protection de l'environnement et application en santé publique*

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie**  
**Option : « Physiopathologie Cellulaire »**

**ALTÉRATIONS MÉTABOLIQUES DE L'OBÉSITÉ CHEZ LA  
FEMME ENCEINTE : RÉPERCUSSIONS SUR L'UNITÉ  
MÈRE- PLACENTA - FŒTUS**

**Présenté par: Mme MALTÏ - BOUDILMI Nassima Amel.**

**Soutenu le 24 Juin 2009, devant la commission d'examen**

<b>Président</b>	<b>CHABANE SARI Daoudi</b>	<b>Professeur, Université Tlemcen.</b>
<b>Examineur</b>	<b>MOKHTARI Nassima</b>	<b>Maitre de Conférences, Université Tlemcen.</b>
<b>Examineur</b>	<b>SEBBAGH Nabahat</b>	<b>Maitre de Conférences, Université Tlemcen.</b>
<b>Examineur</b>	<b>DJAZIRI Rabah</b>	<b>Maitre de Conférences, Université Tlemcen.</b>
<b>Promotrice</b>	<b>MERZOUK Hafida</b>	<b>Professeur, Université Tlemcen.</b>

2008 / 2009

*République algérienne démocratique et populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*  
*Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen- Faculté des Sciences*  
*Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire*

**Laboratoire de valorisation des actions de l'homme pour la  
protection de l'environnement et application en santé publique**

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie**

**Option : « *Physiopathologie Cellulaire* »**

**ALTÉRATIONS MÉTABOLIQUES DE L'OBÉSITÉ CHEZ LA  
FEMME ENCEINTE : RÉPERCUSSIONS SUR L'UNITÉ  
MÈRE- PLACENTA – FŒTUS**

**Présenté par: *Mme MALTÍ - BOUDILMI Nassima Amel.***

**Soutenu le 24 Juin 2009, devant la commission d'examen**

<b>Président</b>	<b>CHABANE SARI Daoudi</b>	<b>Professeur, Université Tlemcen.</b>
<b>Examineur</b>	<b>MOKHTARI Nassima</b>	<b>Maître de Conférences, Université Tlemcen.</b>
<b>Examineur</b>	<b>SEBBAGH Nabahat</b>	<b>Maître de Conférences, Université Tlemcen.</b>
<b>Examineur</b>	<b>DJAZIRI Rabah</b>	<b>Maître de Conférences, Université Tlemcen.</b>
<b>Promotrice</b>	<b>MERZOUK Hafida</b>	<b>Professeur, Université Tlemcen.</b>

2008 / 2009

*« On ne peut pas croire à la moitié de ce qu'on entend raconter, on ne peut pas croire à la plupart des choses qu'on lit, mais on peut croire à tout ce que l'on fait... »*

*Ellen MacArthur,  
Du vent dans les rêves.*

## DEDICACES

Je dédie ce travail à

Mes parents,

Mon mari,

Mes fils Mehdi et Salim,

Mes frères et ma belle sœur,

Ma belle famille,

Tous mes amis,

Et à tous les enseignants et enseignantes qui ont contribué à ma formation.

## REMERCIEMENTS

Mes vifs remerciements s'adressent à **Madame MERZOUK H**, professeur à l'Université de Tlemcen, qui m'a permis de réaliser cette étude. Je lui témoigne ma profonde reconnaissance, pour ses précieux conseils, ses orientations bienveillantes, son infatigable dévouement, ses encouragements et son soutien moral.

Je remercie **Monsieur CHABANE SARI D**, professeur à l'Université de Tlemcen, de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de présider le jury. Qu'il soit assuré de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

Je remercie **Madame MOKHTARI N**, maître de conférences à l'Université de Tlemcen, pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury. Je la remercie également pour ses précieux conseils, et son aide dans la partie pratique. Qu'elle soit assurée de mon profond respect et de mes sincères remerciements.

J'exprime ma reconnaissance à **Mademoiselle SEBBAGH N**, maître de conférences à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté de juger ce travail et de faire partie du jury. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde considération.

Je tiens à remercier **Monsieur DJAZIRI R**, maître de conférences à l'Université de Tlemcen, de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de faire partie du jury. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je remercie également **Monsieur MERZOUK SA**, maître de conférences au département de physique, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, pour son aide précieuse dans l'étude statistique. Qu'il trouve ici l'expression de mon entière reconnaissance.

Je remercie **Dr BENAHBIB R**, chef de service de Gynécologie-Obstétrique de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé Mère-enfant de Tlemcen, d'avoir mis à ma disposition les moyens indispensables à la réalisation de ce travail. Je lui exprime mes sincères remerciements.

Je tiens à remercier tout particulièrement les médecins résidents ainsi que les sages femmes du service de Gynécologie-Obstétrique de l'EHS Mère-enfant de Tlemcen. Je leurs exprime ma profonde gratitude pour l'aide qu'ils m'ont apporté. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance et mon estime.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>STRESS OXYDATIF, OBESITE ET GROSSESSE.....</b>	<b>6</b>
<b>I. Stress oxydatif.....</b>	<b>6</b>
I.1. Oxygène et stress oxydant.....	6
I.2. Définition et origine.....	6
I.3. Les principaux radicaux libres.....	10
I.4. Les principaux antioxydants.....	11
I.4.1. Les vitamines.....	12
I.4.2. Les enzymes.....	13
I.4.3. Les minéraux.....	15
I.4.4. Pouvoir antioxydant total.....	15
I.5. Les points d'impact du stress oxydatif.....	16
I.5.1. Au niveau lipidique.....	16
I.5.2. Au niveau des protéines et des acides aminés.....	21
I.5.3. Au niveau du glucose.....	24
I.5.4. Au niveau de l'ADN.....	24
I.5.5. Au niveau des cellules neutrophiles.....	25
<b>II. Stress oxydatif et obésité.....</b>	<b>26</b>
II.1. Généralités sur l'obésité.....	26
II.2. Les conséquences métaboliques de l'obésité.....	28
II.3. Stress oxydant et obésité.....	28
<b>III. Stress oxydatif et grossesse.....</b>	<b>30</b>
III.1. Généralités sur la grossesse.....	30
III.2. Grossesse et obésité.....	32
III.3. Stress oxydant au cours de la grossesse.....	34
III.3.1. Stress oxydatif et grossesse.....	34
III.3.2. Stress oxydatif et développement fœtal.....	35
III.3.3. Stress oxydatif et placenta.....	35
III.3.4. Stress oxydatif et accouchement.....	36
<b>MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>37</b>
<b>I. Protocole expérimental.....</b>	<b>37</b>
I.1. Population étudiée.....	37
I.2. Prélèvements et préparation des échantillons.....	38
I.2.1. Prélèvements sanguins.....	38
I.2.2. Placenta.....	38
<b>II. Analyses biochimiques.....</b>	<b>39</b>
II.1. Dosage du glucose.....	39
II.2. Détermination des protéines totales.....	39
II.3. Détermination des paramètres lipidiques.....	39

II.3.1. Dosage du cholestérol total.....	39
II.3.2. Dosage du LDL-cholestérol.....	39
II.3.3. Dosage des triglycérides.....	40
II.3.4. Dosage des phospholipides.....	40
II.4. Détermination des teneurs en urée.....	40
II.5. Détermination des teneurs en créatinine.....	40
<b>III. Détermination du statut oxydant/antioxydant.....</b>	<b>41</b>
III.1. Dosage des vitamines.....	41
III.1.1. Dosage des caroténoïdes et des vitamines A et E.....	41
III.1.2. Dosage de la vitamine C.....	41
III.2. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC).....	42
III.3. Détermination du taux d'hydroperoxydes.....	43
III.4. Détermination des protéines carbonylées.....	44
III.5. Détermination du malondialdéhyde.....	44
III.6. Détermination des diènes conjugués.....	44
III.7. Détermination de l'activité enzymatique antioxydante de la catalase.....	45
<b>IV. Analyse statistique.....</b>	<b>45</b>
 <b>RESULTATS ET INTERPRETATION.....</b>	 <b>47</b>
I. Caractéristiques et variables socio-économiques de la population étudiée.....	47
II. Paramètres biochimiques chez les mères et les nouveau-nés.....	50
II.1. Teneurs sériques en glucose, protéines totales, urée et créatinine chez les mères et leurs nouveau-nés.....	50
II.2. Teneurs sériques en cholestérol total, LDL-cholestérol, triglycérides et phospholipides chez les mères et leurs nouveau-nés.....	50
III. Statut oxydant/antioxydant chez les mères et leurs nouveau-nés.....	55
III.1. Teneurs sériques en vitamines A, C et E et caroténoïdes chez les mères et leurs nouveau-nés.....	55
III.2. Pouvoir antioxydant total du (ORAC) et activité antioxydante de la catalase plasmatique et érythrocytaire chez les mères et leurs nouveau-nés.....	55
III.3. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde, en hydroperoxydes et en protéines carbonylées chez les mères et leurs nouveau-nés.....	59
III.4. Oxydation in vitro des lipoprotéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés.....	59
IV. Paramètres biochimiques et statut oxydant/antioxydant du placenta.....	65
IV.1. Teneurs en protéines totales et en lipides du placenta.....	65
IV.2. Teneurs en vitamines A, C et E et caroténoïdes du placenta.....	65
IV.3. Teneurs en malondialdéhyde, en hydroperoxydes, en protéines carbonylées et activité antioxydante de la catalase du placenta.....	65
V. Corrélation des différents paramètres entre mères, nouveau-nés et placenta chez les témoins et les obèses.....	72
V.1. Corrélations des différents paramètres entre mères et nouveau-nés chez les témoins et les obèses.....	72

V.2. Corrélations des différents paramètres entre placenta et nouveau-nés chez les témoins et les obèses .....	74
V.3. Corrélations des différents paramètres entre placenta et mères chez les témoins et les obèses .....	74
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>77</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>91</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>92</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>103</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

AAPH : 2,2 azobis 2 amidinopropane dihydrochloride.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

AGPI: Acides gras polyinsaturés.

ATP: Adénosine triphosphate.

BHT: Butyl Hydroxy Toluène.

BMI: Body Mass Index.

CAT: Catalase.

COX : Cyclo-oxygénases.

Cu-SOD : Superoxyde dismutases à cuivre.

DC : Diènes conjugués.

DNPH : Dinitrophénylhydrazone.

DO : Densité optique.

EOA : Espèces oxygénées activées.

FAO: Food and agriculture organization.

GLUT: Transporteur de glucose.

G6PD: Glucose-6-phosphate-déhydrogénase.

GPx: Glutathion peroxydase.

GR: Globules rouges.

HCG: Gonadotrophine chorionique humaine.

HCL: Acide chlorhydrique.

HDL: High density lipoprotein.

HNE: 4-Hydroxynonéal.

HO•: Radical hydroxyle.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peroxyde d'hydrogène.

HP : Hydroperoxydes.

HPLC: Chromatographie liquide haute performance.

IMC : Indice de masse corporelle.

IRS-1: Insulin receptor substrate-1.

LDL: Low density lipoprotein.

MAP kinases : mitogenactivated protein kinases.

MDA: Malondialdéhyde.

Mn-SOD: Superoxyde dismutase à manganèse.

NADPH: Nicotinamide adenine diphosphate réduit.

NO•: Monoxyde d'azote

O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> : Anion superoxyde.

1O<sub>2</sub>: Oxygène singulet.

OH•: Radical hydroxyle.

8-OH<sub>2</sub>DG: 8-hydroxy-2' déoxyguanosine.

OMS: Organisation mondiale de la santé.

ONOO<sup>-</sup> : Peroxynitrite.

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity.

PC : Protéines carbonylées.

RO• : Radicaux alkoxyde.

ROO• : Radicaux peroxydes.

ROS: Reactive oxygen species.

ONOOH: Nitroperoxyde.

SDS: Sodium dodecylsulfate.

SOD: Superoxyde dismutase.

SRATB : Substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique.

TBA: Acide thiobarbiturique.

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances.

TCA: Acide trichloroacétique.

TPP: Triphénylphosphine.

UV: Ultra violets.

Vit : Vitamine.

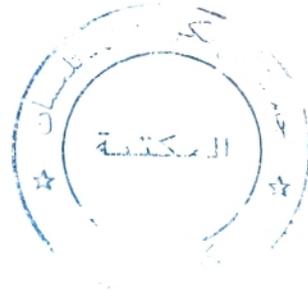
Zn-SOD : Superoxyde dismutases à zinc.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b> Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un stress oxydant.....	9
<b>Figure 2 :</b> Principales étapes de la peroxydation des lipides.....	18
<b>Figure 3 :</b> Effets biologiques cellulaires des espèces oxygénées réactives.....	23
<b>Figure 4 :</b> Teneurs plasmatiques en glucose et protéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés.....	51
<b>Figure 5 :</b> Teneurs plasmatiques en urée et créatinine chez les mères et leurs nouveau-nés.....	52
<b>Figure 6 :</b> Teneurs plasmatiques en cholestérol total et en LDL-cholestérol chez les mères et leurs nouveau-nés.....	53
<b>Figure 7 :</b> Teneurs plasmatiques en triglycérides et en phospholipides chez les mères et leurs nouveau-nés.....	54
<b>Figure 8 :</b> Teneurs plasmatiques en vitamine C et E chez les mères et leurs nouveau-nés.....	56
<b>Figure 9 :</b> Teneurs plasmatiques en vitamine A et en caroténoïdes chez les mères et leurs nouveau-nés.....	57
<b>Figure 10 :</b> Pouvoir antioxydant total (ORAC) et activité antioxydante de la catalase plasmatique et érythrocytaire chez les mères et leurs nouveau-nés.....	58
<b>Figure 11:</b> Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde chez les mères et leurs nouveau-nés.....	60
<b>Figure 12:</b> Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en hydroperoxydes chez les mères et leurs nouveau-nés.....	61
<b>Figure 13 :</b> Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en protéines carbonylées chez les mères et leurs nouveau-nés.....	62
<b>Figure 14 :</b> Oxydation <i>in vitro</i> des lipoprotéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés (Taux des diènes conjugués initiaux et maximaux).....	63
<b>Figure 15 :</b> Oxydation <i>in vitro</i> des lipoprotéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés (T Lag et T Max).....	64
<b>Figure 16 :</b> Teneurs en protéines totales et en cholestérol du placenta.....	66
<b>Figure 17:</b> Teneurs en triglycérides et en phospholipides du placenta.....	67
<b>Figure 18:</b> Teneurs en vitamines C et E du placenta.....	68
<b>Figure 19:</b> Teneurs en vitamines A et en caroténoïdes du placenta.....	69
<b>Figure 20:</b> Teneurs en malondialdéhyde et en hydroperoxydes du placenta.....	70
<b>Figure 21:</b> Teneurs en protéines carbonylées et activité antioxydante de la catalase du placenta.....	71

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I:</b> Répartition de la population étudiée en groupes et en classe d'IMC (KEMALI, 2003).....	27
<b>Tableau II:</b> Caractéristiques de la population étudiée.....	48
<b>Tableau III:</b> Variables socio-économiques.....	49
<b>Tableau IV:</b> Corrélations significatives des différents paramètres entre les mères et leurs nouveau-nés chez les témoins et les obèses.....	73
<b>Tableau V:</b> Corrélations significatives des différents paramètres entre placenta et nouveau-nés chez les témoins et les obèses.....	75
<b>Tableau VI:</b> Corrélations significatives des différents paramètres entre placenta et mères chez les témoins et les obèses.....	76



## LISTE DES TABLEAUX EN ANNEXES

<b>Tableau A1 :</b> Teneurs plasmatiques en glucose, protéines totales, urée et créatinine chez les mères et leurs nouveau-nés.....	111
<b>Tableau A2 :</b> Teneurs plasmatiques en lipides chez les mères et leurs nouveau-nés.....	111
<b>Tableau A3 :</b> Teneurs plasmatiques en Vitamines (A, C, E, et caroténoïdes) chez les mères et leurs nouveau-nés.....	112
<b>Tableau A4 :</b> Pouvoir antioxydant total (ORAC) et activité antioxydante de la catalase plasmatique et érythrocytaire chez les mères et leurs nouveau-nés.....	112
<b>Tableau A5 :</b> Marqueurs du statut oxydant chez les mères et leurs nouveau-nés.....	113
<b>Tableau A6 :</b> Oxydation <i>in vitro</i> des lipoprotéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés.....	113
<b>Tableau A7 :</b> Teneurs en protéines totales et en lipides du placenta.....	114
<b>Tableau A8 :</b> Marqueurs du statut oxydant / antioxydant du placenta.....	114
<b>Tableau A9 :</b> Corrélations des différents paramètres entre mères et nouveau-nés chez les témoins.....	115
<b>Tableau A10 :</b> Corrélations des différents paramètres entre mères et nouveau-nés chez les obèses.....	118
<b>Tableau A11 :</b> Corrélations des différents paramètres entre placenta et nouveau-nés chez les témoins.....	121
<b>Tableau A12 :</b> Corrélations des différents paramètres entre placenta et nouveau-nés chez les obèses.....	122
<b>Tableau A13 :</b> Corrélations des différents paramètres entre placenta et mères chez les témoins.....	123
<b>Tableau A14 :</b> Corrélations des différents paramètres entre placenta et mères chez les obèses.....	124

# **INTRODUCTION**

Jusqu'au siècle dernier, l'embonpoint érigé en critère esthétique était associé à une image de richesse et de réussite sociale, ainsi qu'à un état de bonne santé. Avec le développement économique et l'industrialisation, les pays occidentaux se sont rapidement trouvés confrontés à l'augmentation de la fréquence de l'obésité dont les effets sur la santé n'ont pas tardé à se manifester par un accroissement notable des maladies cardio-vasculaires qui sont devenues ainsi la première cause de mortalité dans ces pays (KEMALI, 2003). Il est désormais accepté que l'obésité a des effets délétères sur la santé et la longévité, particulièrement quand elle commence chez le sujet jeune ou d'âge mûr; elle prédispose à une augmentation de la mortalité. Chez l'homme, l'obésité et notamment le syndrome métabolique (obésité abdominale, dyslipidémie, insulino-résistance et hypertension artérielle), est associée à plusieurs autres maladies : il existe un risque accru de contracter les maladies cardio-vasculaires, le diabète non insulino-dépendant et les dyslipidémies. Une augmentation analogue de facteurs de risques existe également pour l'hypertension artérielle, les pathologies vasculaires cérébrales et périphériques, les affections du système biliaire, l'ostéoartrite et la goutte. Chez la femme, l'obésité est associée souvent à des troubles du cycle menstruel et à une pathologie du système reproductif (carcinomes endométriaux). D'autres cancers sont plus fréquents en présence d'une obésité qu'en son absence, notamment le cancer du côlon et du rectum chez l'homme, de la vésicule biliaire, du sein, de l'utérus et des ovaires chez la femme. Le risque de développer un diabète non insulino-dépendant augmente d'environ deux fois avec une obésité modérée, cinq fois avec une obésité nette et jusqu'à dix fois avec une obésité morbide. Certaines études sont même arrivées à la conclusion que la durée de l'obésité serait plus importante que sa sévérité (BONORA, 2006; JEANRENAUD, 1992).

La fréquence de l'obésité est considérable et continue d'augmenter. Partout dans le monde, il y a une forte tendance à l'aggravation, y compris dans certains pays en voie de développement. D'après un rapport publié conjointement en avril 2003 par l'OMS (organisation mondiale de la santé) et la FAO (Food and agriculture organization), l'obésité peut maintenant être qualifiée d'épidémie: il y aurait en effet sur la planète plus de 1 milliard d'individus en surpoids dont 300 millions d'obèses, y compris dans les pays en développement. L'obésité se diffuse de plus en plus vite, au fur et à mesure que les comportements se globalisent, d'après les experts des organisations internationales (CERISOLA et al., 2004).

Aux Etats-Unis, 61% des adultes, 14% des adolescents de 12 à 19 ans et 13% des enfants de 6 à 11 ans sont en surpoids ou obèses. L'obésité augmente régulièrement depuis 20 ans, pour les deux sexes et dans toutes les classes d'âge et groupes ethniques. L'augmentation la plus forte a été observée chez les adolescents pour lesquels le taux a triplé en vingt ans (CERISOLA et al., 2004).

En France, d'après l'Unité de surveillance et d'épidémiologie nutritionnelle (USEN 2007), les différentes études réalisées en France (SOFRES, Institut Roche et INSERM) donnent des informations identiques sur l'augmentation de la prévalence de l'obésité. Elle est passée de 8,2% en 1997 à 12,4% en 2006 avec une progression relativement régulière. Avec une augmentation de 52% en 9 ans et des chiffres qui ne sont pas stabilisés (9,6% en 2000, 11,3% en 2003), la situation est préoccupante. En 2006, 5,9 millions de français étaient obèses, et ce chiffre a dû augmenter en deux ans (STABLO -BOLTRI, 2008).

Qu'en est-il dans un pays en développement comme le nôtre qui n'a pas atteint son autosuffisance alimentaire et qui est toujours confronté à la sous alimentation de certaines de ses couches sociales ? L'Algérie, comme les autres pays du Maghreb en plein essor économique, n'est pas épargnée par ce fléau des temps modernes (KEMALI, 2003). En Algérie, les chiffres alarmants de la seule enquête, réalisée récemment par le ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière dans les deux wilayas de Sétif et de Mostaganem, montrent que 53% des femmes et 36% des hommes sont atteints de surpoids et d'obésité, et plusieurs médecins ont confirmé que l'obésité infantile est en pleine progression (BOUZID, 2005).

La fréquence de l'obésité est considérable et continue d'augmenter. La surcharge pondérale de la grossesse est donc une situation fréquente et l'obésité est considérée comme un facteur de risque durant la grossesse (DIXIT et al., 2008). Les grossesses chez les patientes obèses sont marquées par une incidence élevée de complications maternelles (Diabète gestationnel, hypertension artérielle, prééclampsie, toxémie, accouchements prématurés, morbidité maternelle) (GILBOA et al., 2008; KIEL et al., 2007; MIGHTY et al., 2007) et fœtales (macrosomie, anomalies de fermeture du tube neural, mortalité périnatale, problèmes cardiaques, omphalocèles et d'autres anomalies) (NOHR et al., 2005; WATKINS et al., 2003). Ces risques sont significativement accrus même pour des surcharges pondérales modérées et augmentent avec le niveau d'obésité (GALTIER et al., 2003).

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « Stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne

contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines. La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (FAVIER, 2003).

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (GUTTERIDGE, 1993). On dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (MOREL et al., 1999). Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines: tabac, alcool, obésité, activité physique intense. Elle peut aussi provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments (HALENG et al., 2007).

Déterminer le statut oxydant/antioxydant d'un individu devient actuellement un sujet de priorité en termes de prévention de maladies. De très nombreuses études indiquent qu'il existe une association étroite entre l'altération des systèmes de défense antioxydants et le développement de plus de 200 pathophysiologies différentes allant de l'athérosclérose au cancer en passant par le sida, les maladies inflammatoires, les maladies métaboliques et le vieillissement (PERKINS et al., 2006; FAVIER, 1997). Son exploration, essentiellement biologique, fait appel au dosage des antioxydants naturels (vitamine E, vitamine C), des éléments traces nécessaires à l'action d'antioxydants enzymatiques (zinc, sélénium...) et des produits d'oxydation des macromolécules: ADN (8OH-désoxyguanosine...), lipides (malondialdéhyde, hydroperoxydes, diènes conjugués, isoprostanes, LDL oxydées et anticorps anti-LDL oxydées...), protéines (protéines carbonylées...). Ces dosages ne sont plus aujourd'hui réservés aux seuls laboratoires spécialisés (MADORE, 2004).

Les radicaux libres centrés sur l'oxygène sont des oxydants puissants vis-à-vis des lipides, des protéines et de l'ADN. Les produits formés pour chaque biomolécule sont complexes et nombreux. Selon le radical libre produit (radical superoxyde, radical hydroxyl, peroxydite)

été évalués au niveau du plasma maternel, du sang ombilical et du placenta (BIRI et al., 2007). Le stress oxydant *in utero* peut donc être un facteur déterminant de la mortalité et la morbidité des nouveau-nés prématurés ou hypotrophes.

La perturbation du statut redox maternel et placentaire prédispose à un accouchement prématuré (WEINBERGER et al., 2006). De plus, l'accouchement est un fort inducteur du stress oxydant au niveau placentaire (CINDROVA-DAVIES et al., 2007). Il n'y aurait cependant pas de différences entre les accouchements par voie basse et les accouchements par césariennes du point de vue oxydatif (HRACSKO et al., 2007).

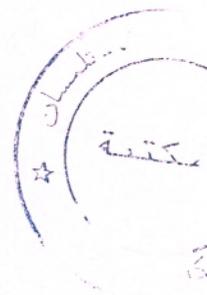
Le stress oxydatif, étant un point commun entre les désordres métaboliques et physiologiques de l'obésité et de la grossesse, pourrait être un facteur de risque très important à prendre en considération chez la femme enceinte obèse. En effet l'obésité au cours de la grossesse expose à de nombreuses complications qui peuvent être liées à une altération de la balance oxydante / antioxydante. Ces complications touchent la mère, le placenta et le fœtus. Selon notre étude bibliographique, les recherches intégrant à la fois les modifications métaboliques chez la mère, le nouveau-né et au niveau du placenta sont rares, et sont inexistantes lors des grossesses associées à l'obésité.

L'objectif de notre travail est de déterminer les marqueurs du stress oxydatif au cours des grossesses associées à l'obésité maternelle et d'évaluer les répercussions sur l'unité mère-placenta-fœtus. Notre étude, de type cas-témoins, porte sur des femmes enceintes obèses et des femmes enceintes non obèses avec une grossesse sans complications. Quelques paramètres biochimiques sont dosés (Glucose, protéines totales, lipides, urée et créatinine) sur les mères, leurs nouveau-nés ainsi qu'au niveau du placenta dans le but d'évaluer le métabolisme général sur toute l'unité mère-placenta-fœtus. Les marqueurs du statut oxydant / antioxydant (hydroperoxydes, malondialdéhyde, diènes conjugués, protéines carbonylées, vitamines A, C, et E, caroténoïdes, catalase et pouvoir antioxydant total) sont analysés chez les mères, les nouveau-nés et au niveau du placenta. Il serait ainsi possible de caractériser le déséquilibre de la balance oxydante / antioxydante associé à l'obésité, de dépister tout risque maternel ou fœtal et d'envisager un traitement précoce diététique ou médicamenteux.

**STRESS OXYDATIF,**

**OBÉSITÉ**

**ET GROSSESSE**



## **I. STRESS OXYDATIF**

### **I.1. Oxygène et stress oxydant**

Au cours de l'évolution, les organismes aérobies se sont adaptés à l'oxygène atmosphérique par la mise en place de systèmes métabolisant la molécule d'oxygène. Cette molécule présente la particularité d'être à la fois un élément indispensable et toxique pour l'homme. L'oxygène est normalement transformé en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est cruciale puisqu'elle apporte à la cellule toute l'énergie nécessaire (sous forme d'adénosine triphosphate (ATP)) pour assurer ses multiples fonctions. Le processus n'est toutefois pas parfait car une faible partie de l'oxygène (2 à 5%) est convertie en espèces oxygénées activées (EOA) particulièrement réactives (PINCEMAIL et al., 2003). La toxicité de l'oxygène est liée à sa structure moléculaire bi-radicalaire, chimiquement instable, autorisant des réarrangements électroniques sur la couche orbitale externe et le rendant plus actif. Ainsi l'oxygène moléculaire peut se transformer dans l'organisme en oxygène singulet et en anion superoxyde. Ces molécules hautement réactives engendrent à leur tour d'autres espèces oxygénées réactives de nature radicalaire ou non. Les radicaux libres sont des ions ou molécules déséquilibrés par la présence d'électrons libres sur la couche orbitale la plus externe, et cherchant la stabilité par appariement avec des électrons arrachés sur les molécules les plus proches. Cette stabilisation va entraîner une réaction en chaîne où la neutralisation d'un radical passe par la création d'un autre. Cette réaction en chaîne engendre à son tour des modifications structurales pouvant avoir des conséquences fonctionnelles sur les molécules biologiques contenues dans les divers compartiments cellulaires, les protéines, les lipides et l'ADN. Notons que le métabolisme de l'oxygène peut engendrer la production de radicaux libres. Un tel métabolisme est nécessaire pour la production d'énergie par les mitochondries, pour la défense contre les microbes par le système immunitaire ou pour la détoxification des xénobiotiques par le foie. Par conséquent, la production des espèces radicalaires est incontournable et, au cours de l'évolution, les organismes aérobies se sont également adaptés pour se protéger contre les radicaux libres ainsi produits (ROCK, 2003).

### **I.2. Définition et origine**

Le stress oxydant se définit par une situation de déséquilibre entre la production d'espèces réactives oxygénées (EOA) ou nitrogénées et les mécanismes de défense/détoxification. La lutte contre ces effets délétères est assurée par des systèmes de défense variés, chargés de capter et de neutraliser les EOA mais aussi d'éliminer et de remplacer les molécules

endommagées (HALENG et al., 2007). Les éléments constituant ce potentiel antioxydant global de l'organisme peuvent être distingués selon la nature chimique (protéique ou non) et selon leur origine endogène ou exogène. L'évaluation du stress oxydant est réalisée à plusieurs niveaux. L'accumulation des EOA, leur impact sur les molécules biologiques, les complexes formés par l'association de lipides et protéines oxydées, les anticorps contre ces complexes sont des paramètres mesurables à l'aide de techniques plus ou moins sophistiquées. D'autres mesures des systèmes de défense sont également applicables telles que la détermination des activités enzymatiques formant la première ligne de défense (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et catalase) et celle des éléments protéiques (albumine, la ferritine ou la céruloplasmine) et non protéiques comprenant majoritairement le glutathion et les micronutriments antioxydants. La présence des produits oxydés à des teneurs relativement élevées et/ou une baisse des activités enzymatiques ont suggéré que le stress oxydant est associé à de nombreuses pathologies, regroupées sous le terme de pathologies oxydatives incluant certains cancers, les maladies cardio-vasculaires, l'ostéoporose ou les maladies oculaires. L'oxydation des lipoprotéines et des acides nucléiques est même proposée comme un événement primaire dans les maladies cardio-vasculaires et les cancers (FAVIER, 2003 ; ROCK, 2003).

L'avènement de la biologie moléculaire a permis de montrer que les EOA ont un rôle physiologique important en agissant à faible concentration comme des messagers secondaires capables (PINCEMAIL, 1999):

- de réguler le phénomène d'apoptose qui est un suicide programmé des cellules évoluant vers un état cancéreux,
- d'activer des facteurs de transcription (NFkB, p38-MAP kinase, ...) eux mêmes responsables de l'activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire,
- de moduler l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes antioxydantes,
- de défenses antibactériennes.

Le revers de la médaille est que, si les EOA sont produites en quantité trop importante, elles auront des effets néfastes en induisant un phénomène d'apoptose dans des cellules saines ou en activant divers gènes codant pour l'expression de cytokines pro-inflammatoires ou de protéines d'adhésion. Par ailleurs, les EOA, de par leur nature instable, sont particulièrement réactionnelles et seront capables de provoquer des dégâts cellulaires importants:

- en provoquant des cassures et des mutations au sein de l'ADN,
- en inactivant des protéines et des enzymes,
- en oxydant les sucres (glucose),

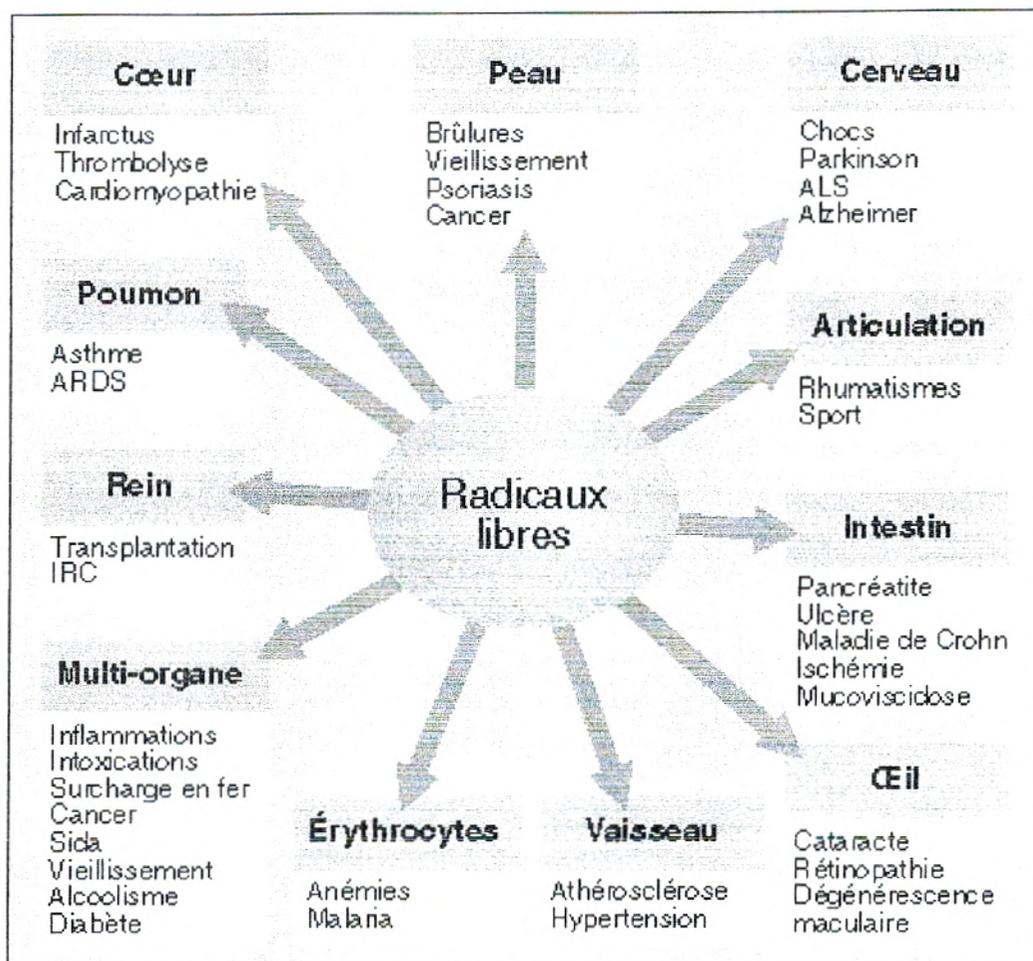
- en induisant des processus de peroxydation lipidique au sein des acides gras polyinsaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire.

Les EOA sont également générées sous l'effet d'oxydants environnementaux. En effet, la vie moderne nous confronte à la pollution, l'absorption d'alcool ou de médicaments, l'exposition prolongée au soleil et au tabagisme qui sont d'autant de situations qui provoquent une surproduction d'EOA dans notre organisme. Ceci conduit à un affaiblissement de nos défenses antioxydantes (vitamines, oligo-éléments) mais également à l'apparition de dégâts cellulaires. La situation se complique car l'alimentation actuelle n'est plus suffisamment saine et équilibrée et de ce fait nous apporte de moins en moins d'antioxydants naturels nécessaires pour contrôler les effets nocifs de l'oxygène. Il est aussi décrit qu'un exercice physique intense mal pratiqué ou mal géré peut générer un stress oxydant (HALENG et al., 2007).

En situation clinique, le stress oxydant peut se développer lors d'une chirurgie cardiovasculaire, d'une transplantation d'organes ou d'une détresse respiratoire. De manière générale, le stress oxydant se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la balance des prooxydants et les systèmes de défense (antioxydants), avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule. Il a été impliqué dans de nombreuses maladies et états dégénératifs : vieillissement, cancers, diabète, arthrite rhumatoïde, maladies cardiovasculaires (PERKINS et al., 2006) (Figure 1).

Le stress oxydatif, présent dans de nombreuses pathologies, correspond à des marqueurs mesurables que se soit chez une personne malade ou saine (HANDELMAN, 2000). Le stress oxydant peut être évalué selon quatre approches principales faisant appel à la mesure : des radicaux libres, des systèmes antioxydants (enzymatiques et non enzymatiques), des dommages créés par l'attaque des radicaux libres sur les principales cibles moléculaires biologiques (lipides, protéines, acides nucléiques), de l'activité des systèmes de réparation de ces dommages (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2001).

Un grand nombre de techniques utilisées pour évaluer le stress oxydant sont actuellement bien décrites. Toutefois, ce domaine de la biologie n'a pas encore été étudié avec la rigueur et le souci de standardisation et d'optimisation des méthodes, habituels en biologie clinique. Une grande disparité de techniques et de résultats complique donc l'interprétation des résultats. Par ailleurs, il existe des difficultés inhérentes à cette exploration, liées à la rapide fugacité des espèces radicalaires, à l'oxydabilité des paramètres redox, ainsi qu'à la localisation de ce



ARDS : syndrome de détresse respiratoire aiguë ; sida : syndrome d'immunodéficience acquise ;  
ALS : sclérose latérale amyotrophique.

**Figure 1 : Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un stress oxydant (FAVIER, 1997).**

stress dans un type donné et d'un nombre réduit de cellules dans un tissu sain (FAVIER, 1997).

Déterminer le statut oxydant / antioxydant d'un individu devient actuellement un sujet de priorité en terme de prévention de maladies car de très nombreuses études indiquent qu'il existe une association étroite entre l'altération des systèmes de défense antioxydants et le développement de plus de 200 pathophysiologies différentes allant de l'athérosclérose au cancer en passant par le *sida*, les maladies inflammatoires, les maladies métaboliques et le vieillissement (PERKINS et al., 2006 ; LEFEVRE et al., 1998 ; FAVIER , 1997).

### **1.3. Les principaux radicaux libres**

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou électron non apparié). Le champ magnétique créé par la rotation, ou spin, de cet électron n'est donc pas compensé par la rotation en sens inverse d'un électron apparié. Cette propriété rend les radicaux libres aptes à réagir avec différentes molécules, notamment lors de réactions en chaîne dont l'exemple le plus connu est celui de la peroxydation des lipides (FAVIER, 1997). Au niveau des mitochondries, au cours du transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire, le radical superoxyde ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) est produit par réaction de l'oxygène avec un radical semi-ubiquinone (TURRENS et al., 1985). La production mitochondriale de radicaux libres oxygénés dépend de la disponibilité en oxygène ; elle augmente avec la pression partielle en oxygène et diminue lorsque celle-ci baisse (CINO et al., 1989 ; BOVERIS et al., 1973). En outre, la probabilité de générer un radical semi-ubiquinone dépend de la fourniture en substrats de la chaîne respiratoire. Lorsque ces substrats sont en concentration non saturante (ce qui est le cas physiologiquement), la production mitochondriale de radicaux libres diminue très nettement. Enfin, cette production radicalaire varie selon l'activité métabolique des mitochondries puisque la majorité des auteurs rapportent que la diminution du potentiel de membrane mitochondrial s'accompagne d'une diminution de la production radicalaire (NEGRE-SALVAYRE et al., 1997).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie, appelés radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) et le radical hydroxyle ( $\text{OH}\bullet$ ), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote ( $\text{NO}\bullet$ ). D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène

singulet ( $1O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (NOVELLI, 1997).

La réactivité des radicaux de l'oxygène est très variable selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde ( $O_2 \bullet$ ) comme le monoxyde d'azote ( $\bullet NO$ ) ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives. La faible réactivité de ces deux radicaux permet d'ailleurs leur utilisation par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions biologiques telles la vasodilatation capillaire, la prolifération ou le message de neurones. En revanche, des radicaux comme les radicaux peroxydes ( $ROO\bullet$ ) ou surtout le radical hydroxyle ( $HO\bullet$ ) sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants. Ces radicaux libres de l'oxygène ou de l'azote, même réactifs, ne sont pas uniquement toxiques ; au contraire, ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose (BARDON et al., 2005).

Depuis quelques années, des recherches fondamentales ont été ciblées sur les dommages créés par les radicaux libres vis-à-vis des principales cibles moléculaires biologiques. Elles ont abouti à l'identification de plusieurs marqueurs intéressants. Certains d'entre eux sont actuellement transférables aux liquides biologiques (sang et urine), d'autres non. Notons que la mesure directe des radicaux libres est extrêmement délicate en raison de leur très courte durée de vie. La mesure directe des radicaux libres est possible par résonance para-électronique ou chimioluminescence, mais difficilement utilisable en biologie clinique. Il est également possible de piéger les radicaux par des tests dynamiques utilisant le salicylate et mesurant ses dérivés d'hydroxylation (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2001 ; FAVIER, 1997).

#### **I.4. Les principaux antioxydants**

Pour se protéger contre l'effet toxique de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense qui permettent de réguler la production des EOA. Ces systèmes sont composés d'antioxydants (le groupe des vitamines A, C et E), d'oligo-éléments et de protéines qui empêcheront le fer de déclencher une production d'EOA. Des enzymes protéolytiques dont le rôle consiste à dégrader les substrats oxydés, complètent cette panoplie.

Il existe deux sources de défenses antioxydantes : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et de légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque tandis que l'autre est endogène et se compose d'enzymes (SOD, glutathion peroxydase, catalase) ou de protéines (ferritine, transferrine, céruloplasmine, albumine). A cela s'ajoutent quelques oligo-éléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certains enzymes antioxydants (PINCEMAIL et al., 2003).

Le fer et le cuivre sous forme libre, étant particulièrement promoteurs de dommages radicalaires, sont physiologiquement séquestrés et transportés grâce à des protéines comme la ferritine, la transferrine, la céruloplasmine... qui agissent donc en tant qu'antioxydants primaires (BUETTNER et al., 1996; HERBERT et al., 1996).

#### **I.4.1. Les vitamines**

Les antioxydants scavengers, comme l' $\alpha$ -tocophérol (vitamine E), l'ubiquinone (forme réduite du coenzyme Q), sont concentrés dans les membranes cellulaires où ils sont particulièrement efficaces pour limiter la peroxydation lipidique. Leur effet protecteur est principalement lié à leur capacité à céder un de leurs électrons pour arrêter la propagation radicalaire tout en étant capable soit de céder un second électron lors d'une réaction d'oxydation conventionnelle soit de se régénérer par le remplacement de l'électron manquant (BUETTNER et al., 1996 ; HERBERT et al., 1996). La vitamine piègeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ainsi, la vitamine E est régénérée par la vitamine C qui est elle-même régénérée par des enzymes, les ascorbates réductases. De très nombreux composés alimentaires peuvent aussi avoir ce comportement: polyphénols, alcaloïdes, phytates.

L'oxydation des lipoprotéines de faible densité constitue la première étape d'un processus très complexe aboutissant à l'athérosclérose. La vitamine E, et principalement l' $\alpha$ -tocophérol, est considérée comme étant le principal inhibiteur de la peroxydation lipidique. Certains travaux ont démontré le rôle bénéfique de la vitamine E dans la prévention et la réduction de l'athérosclérose et les pathologies qui lui sont associées. Cependant, d'autres études *in vitro* avancent un rôle prooxydant de la vitamine E (KHALIL, 2002).

Le plasma humain est riche en antioxydants de petite taille de type hydrophile (acide urique, acide ascorbique (vitamine C), glutathion, bilirubine) et lipophile ( $\alpha$ -tocophérol (vitamine E), rétinol (vitamine A),  $\beta$ -carotène. Les antioxydants de petit poids moléculaire sont facilement dosables en routine par des méthodes spectrophotométriques (acide

ascorbique, glutathion) et HPLC (ubiquinone, vitamines A et E,  $\beta$ -carotène). (PINCEMAIL et al., 1999 ; ZAMAN et al., 1993 ; STACEWICZ-SAPUNTZAKIS et al., 1987).

De très nombreuses techniques ont été décrites pour le dosage des vitamines A et E, comme les méthodes anciennes colorimétriques, les méthodes de chromatographie liquide ou encore la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse. Les techniques les plus utilisées sont la fluorimétrie et la HPLC. Il est possible de mesurer simultanément le rétinol à 325 nm, le tocophérol à 292 nm et les caroténoïdes à 450 nm (De LEENHEER et al., 1988 ; MILNE et al., 1986). Le dosage par chromatographie en phase gazeuse nécessite des étapes de préparations lourdes : saponification, élimination du cholestérol et dérivatisation; son intérêt est limité à des études très spécialisées.

Le dosage par chromatographie liquide en phase inverse (HPLC) représente la méthode la plus couramment utilisée pour le dosage des vitamines dans le plasma/sérum, les plaquettes, les selles et les tissus (De LEENHEER et al., 1988). L'utilisation d'un support octyl ou octadécyl et d'une phase mobile constituée d'un mélange méthanol/eau permet d'éluer successivement le rétinol, le tocol, le tocophérol, l'acétate de tocophérol. Une phase mobile moins polaire permet de séparer également les caroténoïdes. La détection peut recourir à la mesure de l'absorption en UV ou à la fluorimétrie. L'utilisation des techniques électrochimiques permet d'augmenter la sensibilité de la détection avec une limite de détection de l'ordre de 0,01 pmole (CLERC et al., 1993) .

#### **1.4.2. Les enzymes**

Les globules rouges sont très riches en enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx). De très nombreuses études chez l'animal ont montré que les antioxydants de petite taille sont généralement consommés lors d'un stress oxydatif tandis que le taux d'enzymes antioxydantes est soit augmenté par expression moléculaire en cas de faible stress oxydatif (adaptation), soit diminué lorsque l'intensité du stress oxydatif est trop importante (PINCEMAIL et al., 1999)

Les superoxydes dismutases ou SOD (EC 1.15.1.1) sont des métalloprotéines, convertissant le superoxyde en hydrogène peroxyde. Ce dernier est secondairement soit dismuté en oxygène et eau grâce à la catalase, soit transformé en eau lors d'une réaction couplée à l'oxydation du glutathion, catalysée par la glutathion peroxydase. Le glutathion oxydé est non toxique et peut en outre être réduit par le NADPH grâce à l'enzyme glutathion réductase. La glutathion peroxydase ainsi que les différentes isoformes de superoxyde dismutase sont des métallo-enzymes comprenant soit du sélénium (glutathion peroxydase)

soit du manganèse (superoxyde dismutase mitochondriale) soit du cuivre et du zinc (superoxyde dismutase cytosolique). Le mécanisme réactionnel de la SOD est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, des superoxydes dismutases à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules endothéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD) (BUETTNER et al., 1996 ; HERBERT et al., 1996).

La catalase (EC 1.11.1.6) est une enzyme tétramérique, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire. Présente dans les peroxysomes de nombreuses cellules, elle assure la protection vis-à-vis d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans le cytosol et les mitochondries (CHAUDIERE et al., 1988).

Le rôle de la glutathion-peroxydase est de réduire le peroxyde d'hydrogène, ainsi que les peroxydes lipidiques. Deux molécules de glutathion cèdent deux hydrogènes au peroxyde d'hydrogène. Les deux glutathions forment une liaison disulfure alors que le peroxyde d'hydrogène devient deux molécules d'eau (H<sub>2</sub>O). Cette enzyme, par sa dépendance au sélénium, se distingue en deux types. Le type qui est dépendant au sélénium réagit fortement au peroxyde d'hydrogène et aux peroxydes organiques. Le type indépendant au sélénium, par contre, ne réagit que faiblement par rapport aux peroxydes organiques. Il a également d'autres fonctions, dont la principale est la détoxification d'agents cancérogènes. Les deux types se retrouvent au niveau du cytosol et des mitochondries (CHAUDIERE et al., 1988).

La glutathion-réductase a pour rôle de régénérer la glutathion-peroxydase. Dans le cadre de cette réaction, la glutathion-réductase utilise un cofacteur le NADPH. La glutathion-réductase se retrouve dans le cytosol et dans les mitochondries, donc où se trouve la glutathion-peroxydase. Cette réaction produit du NADP<sup>+</sup> qui sera régénéré en NADPH pour une utilisation ultérieure, par un autre enzyme, le G6PD (glucose-6-phosphate-déhydrogénase) (GERARD-MONNIER et al., 1996).

Depuis quelques années, il existe des kits commerciaux (Randox Laboratories, Antrim, Royaume-Uni; importateur belge: Uniprom Diagnostics, Wemmel) permettant la mesure de la superoxyde dismutase et de la glutathion peroxydase dans les globules rouges. Tout récemment, la firme Oxis International, Cutter Circle, USA a mis sur le marché un premier dosage immunologique permettant l'analyse en routine de la glutathion peroxydase plasmatique. Au cours du processus du vieillissement, une diminution des taux de GPx a été observée (PINCEMAIL et al., 1999).

### **I.4.3. Les minéraux**

Les métaux de transition peuvent aussi jouer un rôle protecteur vis-à-vis du stress oxydant comme composés essentiels des enzymes antioxydantes. Ainsi, le cuivre, le zinc et le manganèse entrent dans la composition du site actif des différentes superoxydes dismutases (Cu/ZnSOD et MnSOD). Le sélénium est présent sous forme de résidus sélénocystéine dans les sélénoprotéines comme les glutathion peroxydases, la sélénoprotéine P, la thioredoxine réductase (ARTEEL et al., 2001).

Le fer joue un rôle capital dans l'initiation et la propagation des réactions radicalaires en permettant la formation de radicaux hydroxyles (OH•). Le fer catalyse aussi la décomposition des lipides peroxydés (ROOH) en les transformant en radicaux alkoxy (RO•) et peroxy (ROO•) qui amplifient le processus de peroxydation lipidique. Dans des conditions physiologiques, la transferrine possède une capacité de fixation importante en fer puisqu'elle est saturée à environ 30% avec ce métal de transition de sorte qu'il n'est pas possible de trouver du fer libre (à l'état actif) dans le sang de sujets en bonne santé. A ce titre, la transferrine est considérée comme étant un antioxydant important. En situations pathologiques, le fer peut toutefois être libéré de ses protéines de transport (ferritine, lactoferrine) sous l'action des EOA et se retrouver dans le sang sous une forme libre capable d'initier des réactions radicalaires. Une méthode de dosage utilisant la bléomycine permet de mettre en évidence ce fer libre (PINCEMAIL et al., 1999).

### **I.4.4. Pouvoir antioxydant total**

Dans le cas d'un stress oxydatif, chaque antioxydant est affecté à des degrés divers. Il est dès lors intéressant de disposer de méthodes permettant d'évaluer de manière plus globale la capacité antioxydante globale d'un échantillon biologique (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2001). Plusieurs méthodes ont été développées pour mesurer le pouvoir antioxydant total du plasma. La méthode de l'équipe de WAYNER a été souvent utilisée ; des radicaux peroxy sont générés à partir de l'AAPH (2,2 azobis (2 amidinopropane) dihydrochloride). Après addition d'AAPH au plasma, l'oxydation des substances oxydables est suivie par la consommation d'oxygène. Durant une période d'induction, l'oxydation est inhibée par l'ensemble des substances antioxydantes du plasma. La longueur de la période d'induction (phase de latence) est comparée à celle obtenue avec un standard interne, un dérivé soluble de la vitamine E (Trolox®). Les résultats sont exprimés en équivalents de la capacité antioxydante du Trolox® en micromoles/L de plasma (WAYNER et al., 1985).

D'autres techniques existent utilisant un système générant des EOA mis en contact avec une cible (acide gras, sonde fluorescente) dont la destruction oxydative est suivie en fonction du temps par spectrophotométrie ou luminescence (VALKONEN et al., 1997). Si cette réaction est réalisée en présence d'un échantillon de plasma, les antioxydants présents dans celui-ci vont interagir avec les EOA, et ce n'est qu'après leur consommation complète, que l'oxydation de la cible pourra démarrer. Le temps de latence (temps avant le démarrage de l'oxydation) sera donc directement proportionnel à la quantité d'antioxydants présents dans l'échantillon plasmatique. Cette méthode est standardisée grâce à l'ajout d'une quantité connue de Trolox. La susceptibilité des globules rouges au stress oxydatif peut aussi être déterminée en soumettant ces cellules à un système produisant des EOA de manière constante et en mesurant à intervalles réguliers le taux d'hémolyse comme marqueur in vitro du dommage oxydatif. Le temps de latence avant le démarrage de l'hémolyse est aussi directement proportionnel à la quantité d'antioxydants présents dans les érythrocytes (GIRODON, 1997).

### **1.5. Les points d'impact du stress oxydatif**

Les EOA peuvent s'attaquer à toute une série de substrats biologiques importants avec comme conséquence la destruction de protéines, l'apparition de cassures au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'altération de la membrane cellulaire via l'induction de phénomènes de peroxydation lipidique. Ces marqueurs définissent le profil de stress oxydatif (PINCEMAIL, 2003).

#### **1.5.1. Au niveau lipidique**

L'expression "peroxydation lipidique", vise l'ensemble des voies réactionnelles qui conduisent à la formation d'hydroperoxydes, de dialkyl-peroxydes et d'endoperoxydes d'acides gras polyinsaturés (AGPI) ou de leurs esters (phospholipides, cholestéryl-esters, mono, di et triglycérides), ainsi qu'à leur décomposition (GERARD- MONNIER et al., 1996). La peroxydation lipidique commence par le départ d'un atome d'hydrogène d'un acide gras polyinsaturé comme les acides linoléique ou arachidonique (cibles privilégiés des EOA), ce qui forme un radical lipidique (Figure 2). Celui-ci se stabilise par réarrangement puis se transforme en hydroperoxyde lipidique par addition d'une molécule d'oxygène. Sous l'action de métaux de transition (fer, cuivre), les peroxydes lipidiques se décomposent ensuite en toute une série de sous-produits que sont les aldéhydes et les hydrocarbures. L'hydroperoxyde est ensuite dégradé en produits de scission. Certains de ces produits sont suffisamment réactifs

pour former des produits tertiaires (diènes conjugués, peroxydes, aldéhydes, alcanes) dont la plupart sont toxiques et mutagènes pour la cellule. Cette formation de dérivés d'oxydation dans les bicouches lipidiques, plus hydrophiles, entraîne des perturbations de la micro-architecture membranaire et altère les fonctions des enzymes et transporteurs membranaires. De plus, l'autocatalyse de la peroxydation peut aboutir à la formation des concentrations élevées de dérivés d'oxydation qui altèrent la perméabilité et la fluidité membranaire (PINCEMAIL et al., 1999).

Dans certains états pathologiques tels que par exemple la prééclampsie, l'infarctus du myocarde et les états de choc, l'oxydation des lipoprotéines circulantes ou de certaines membranes cellulaires conduit à la formation de peroxydes lipidiques qui se décomposent. Les états pathologiques concernés peuvent être mis en évidence, ou leur évolution peut être suivie, grâce au dosage des produits de décomposition de ces acides gras insaturés peroxydés. Un grand nombre de méthodes de mesure de la peroxydation lipidique ont été décrites dans le passé. On peut les diviser en cinq grandes familles (GERARD-MONNIER et al., 1996) :

- Méthodes spectrophotométriques directes ou indirectes,
- Méthodes spectrofluorimétriques,
- Méthodes électrochimiques,
- Méthodes chimiluminescentes,
- Méthodes chromatographiques.

En pratique quotidienne clinique et biologique, la mesure des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique (SRATB), réalisée de façon rigoureusement standardisée, est généralement la méthode la plus utilisée. L'association à une chromatographie liquide de haute performance améliore significativement la spécificité de la méthode colorimétrique ou fluorimétrique.

Il existe des techniques de dosages pour les produits suivants : hydroperoxydes de phospholipides et de cholesterylester, produits de la peroxydation des lipides aldéhydiques comme le 4-hydroxynonanal, dérivés fluorescents des protéines (comme la lipofuschine), diènes conjugués. Plusieurs laboratoires utilisent des techniques immunologiques (ELISA, RIA) permettant de doser les protéines modifiées par les produits de la peroxydation des lipides (comme le malonaldéhyde et le 4-hydroxynonanal) ou des autoanticorps contre des protéines modifiées par les processus oxydatifs. Ces techniques sont devenues d'importants outils diagnostiques (ESTERBAUER, 1996).

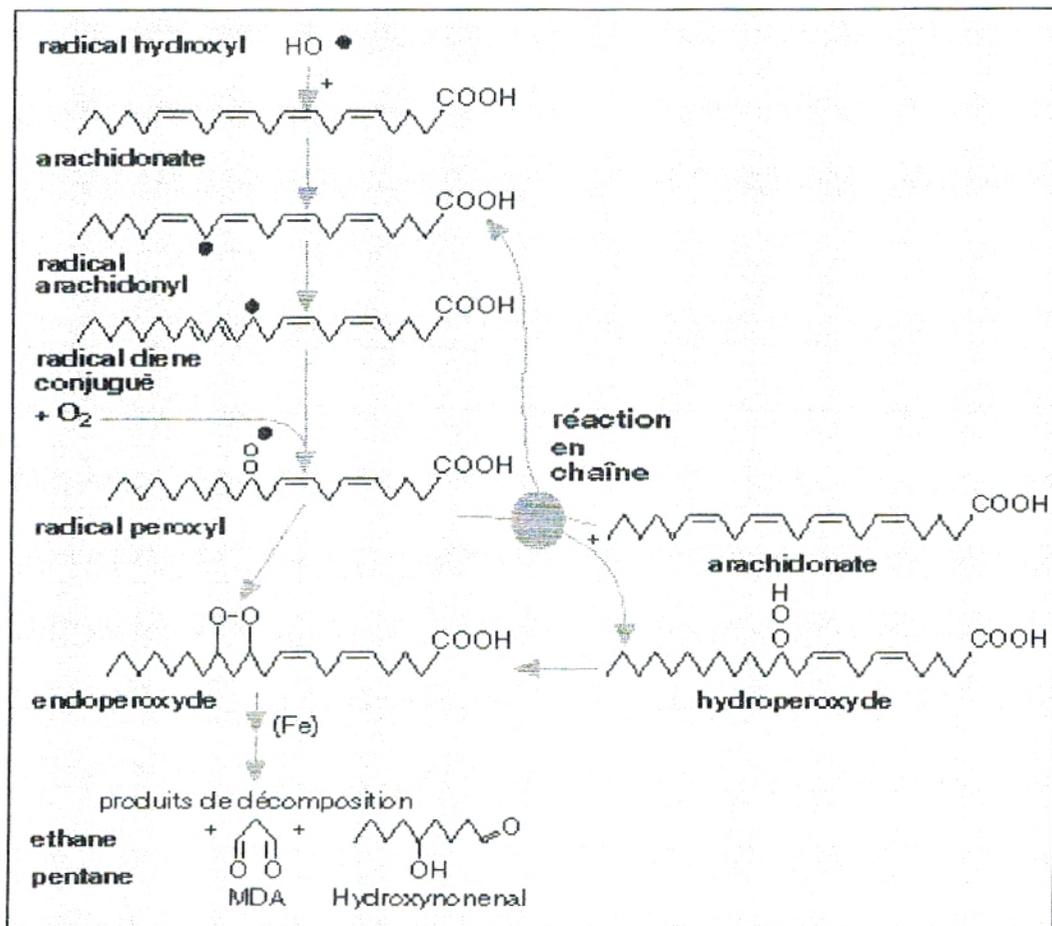


Figure 2 : Principales étapes de la peroxydation des lipides (FAVIER, 1997).

▪ **Malondialdéhyde (MDA)** : Parmi les aldéhydes formés lors de la peroxydation lipidique, le plus connu est le malondialdéhyde. C'est le beta-dialdéhyde tricarboné le plus simple, produit lors de la coupure des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons (acide arachidonique, acide éicosapentaénoïque, acide docosapentaénoïque, acide gamma-linolénique). Il peut également être formé à partir de composés non lipidiques tels que l'acide ascorbique, les acides aminés, le désoxyribose ou le saccharose lorsqu'ils sont exposés à l'action des radicaux hydroxyles, en présence de métaux par exemple. Il est également formé *in vivo* lors de la biosynthèse des éicosanoïdes. Le malondialdéhyde est également un excellent substrat des peroxydases. Les lipoperoxydes plaquettaires sont à l'origine d'une partie du malondialdéhyde sanguin (LEFEVRE et al., 1998).

Son dosage est souvent réalisé par condensation en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique (TBA). Cette réaction est sensible mais sa spécificité reste discutée. A la notion initiale de dosage du malondialdéhyde, s'est progressivement substitué la notion de substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBARS) (LEFEVRE et al., 1998). Toutes les procédures de dosage du MDA et/ou des produits de peroxydation lipidique réagissant avec le TBA, appelés ci-après "TBARS" (TBA-Reactive Substances) requièrent un pH acide (< 3,8) et un chauffage prolongé (80-95°C, 20-60 min). L'acidification et le chauffage des échantillons conduisent généralement à une suspension trouble qui doit être clarifiée avant la mesure, par exemple par extraction au n-butanol.

En pratique, c'est l'acide thiobarbiturique (TBA) qui est actuellement presque exclusivement utilisé pour doser le MDA par colorimétrie, en raison de la stabilité et du coefficient d'extinction molaire à 530-535 nm élevés du produit de condensation chromophorique qui se forme par addition de deux molécules de TBA sur une molécule de MDA. De plus, ce produit étant fluorescent, il peut également être dosé par spectrofluorométrie.

▪ **4-Hydroxynonéal (HNE)**: Le 4-hydroxynonéal (HNE) provient de la dégradation des peroxydes d'acides gras de la famille n-6. Il se mesure au laboratoire par une méthode HPLC (BIASI et al., 1994). ESTERBAUER et ses collaborateurs ont ainsi montré que la production de 4-hydroxynonéal (4-HNE) était caractéristique des phénomènes de peroxydation lipidique. L'oxydation des AGPI n-6 est à l'origine de cette production de 4-HNE, dont le rendement est maximal avec l'acide arachidonique 20:4(n-6). Un composé voisin, le 4-hydroxyhexénal, est produit à partir des AGPI n-3 (ESTERBAUER, 1996).

▪ **Isoprostanes:** Les isoprostanes F<sub>2</sub> appartiennent à la famille des eicosanoïdes. Ce sont des « prostaglandines-like » formées à partir de l'acide arachidonique sur lequel se forme un radical hydroxyl (GUICHARDANT et al., 2006; REIYLLY et al., 1996). À la différence des prostaglandines qui sont synthétisées par voie enzymatique (action des cyclo-oxygénases (COX) sur l'acide arachidonique), les isoprostanes résultent de l'attaque des radicaux libres oxygénés (par exemple le radical hydroxyle °OH) sur cet acide gras polyinsaturé. Dans ce cas, l'acide arachidonique doit être préalablement libéré par une phospholipase A2 avant qu'agissent les COX, tandis que les isoprostanes sont produits directement sur l'acide arachidonique estérifié, puis sont ensuite libérés de leur phospholipide par une phospholipase. Globalement, il existe deux sites potentiels de production : les membranes des cellules et des organites cellulaires, et les lipoprotéines circulantes. Les isoprostanes, après libération dans la circulation, sont excrétés dans les urines soit sous forme libre, soit sous forme de métabolites (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2001).

Toutes les recherches menées pour identifier et quantifier les isoprostanes dans les liquides biologiques (sang et urine) n'ont été possibles que grâce à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse dont c'est actuellement la méthode de référence. Cependant, on dispose actuellement de méthodes immunoenzymatiques de réalisation plus facile et applicables aux grandes séries dont certaines sont commercialisées (GUICHARDANT et al., 2006; BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2001).

▪ **Hydroperoxydes:** Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution: être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) qui, de par leur volatilité, sont éliminés par voie pulmonaire. La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes (FAVIER, 2003). Les lipoprotéines de basse densité sont les principaux transporteurs des hydroperoxydes dans le sang (NOUROOZ-ZADEH et al., 1996). L'essai de l'oxydation par le xylénol orange (FOX) associé au triphénylphosphine a été employé pour mesurer les hydroperoxydes plasmatiques (SÖDERGREN et al., 1998).

▪ **Oxydation des LDL:** L'oxydation des lipoprotéines est probablement l'un des nombreux indices de stress oxydatif, récemment les plus étudiés. Le stress oxydant, notamment l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) fait partie d'un nouveau panel de facteurs de risques athérogènes (BONORA, 2006). La mesure de cette oxydation s'effectue par le dosage d'anticorps LDL oxydés.

Il est connu que les LDL contiennent différents agents antioxydants, dont l'élément majeur est l' $\alpha$ -tocophérol (vitamine E). L'acide ascorbique (vitamine C), l'ubiquinone et le carotène représentent les autres principales molécules antioxydantes des LDL. Il a été mis en évidence in vitro que la transformation des macrophages en cellules spumeuses chargées en lipides (qui sont les principaux constituants de la plaque d'athérosclérose) est liée à une modification de nature oxydative des LDL. L'oxydation des LDL est un processus médié par des radicaux libres et initié par la peroxydation des acides gras polyinsaturés après consommation des agents antioxydants. Les antioxydants hydro et liposolubles peuvent protéger les LDL et retarder ou empêcher leur processus d'oxydation (LEAN et al., 2007).

L'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques, induite par les métaux (cuivre), est déterminée par le suivi au cours du temps de la formation des diènes conjugués qui résulte du réarrangement des doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) suite à l'abstraction radicalaire d'un hydrogène malonique (ESTERBAUER et al., 1989). Ils sont facilement mesurables à une longueur d'onde de 234 nm.

### **1.5.2. Au niveau des protéines et des acides aminés**

La fonction et l'activité des protéines sont profondément affectées par n'importe quelle altération de leur structure complexe, particulièrement l'oxydation. En général, les protéines oxydées sont inactives et sont rendues particulièrement vulnérables à l'action des protéinases. Dans ces conditions d'augmentation du stress oxydatif, les cellules peuvent être incapables d'éliminer l'accumulation des protéines oxydées par protéolyse, ce qui conduit aux dégâts protéiques (LEAN et al., 2007).

Plusieurs types de modifications sont notés au niveau des protéines comme la fragmentation de la protéine, oxydation des chaînes latérales des aminoacides et formation de liaisons croisées entre deux protéines. D'autres modifications peuvent apparaître dues à la glyco-oxydation et à la lipo-oxydation. La glyco-oxydation concerne les modifications de protéines pour lesquelles des réactions d'oxydation sont associées à la glycation. L'oxydation des protéines et des chaînes latérales de certains aminoacides, la glyco-oxydation et la lipo-oxydation peuvent donner naissance à des composés carbonylés ou dicarbonylés (R-CO-R', R-CO-CO-R', R-CHO) (BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2001).

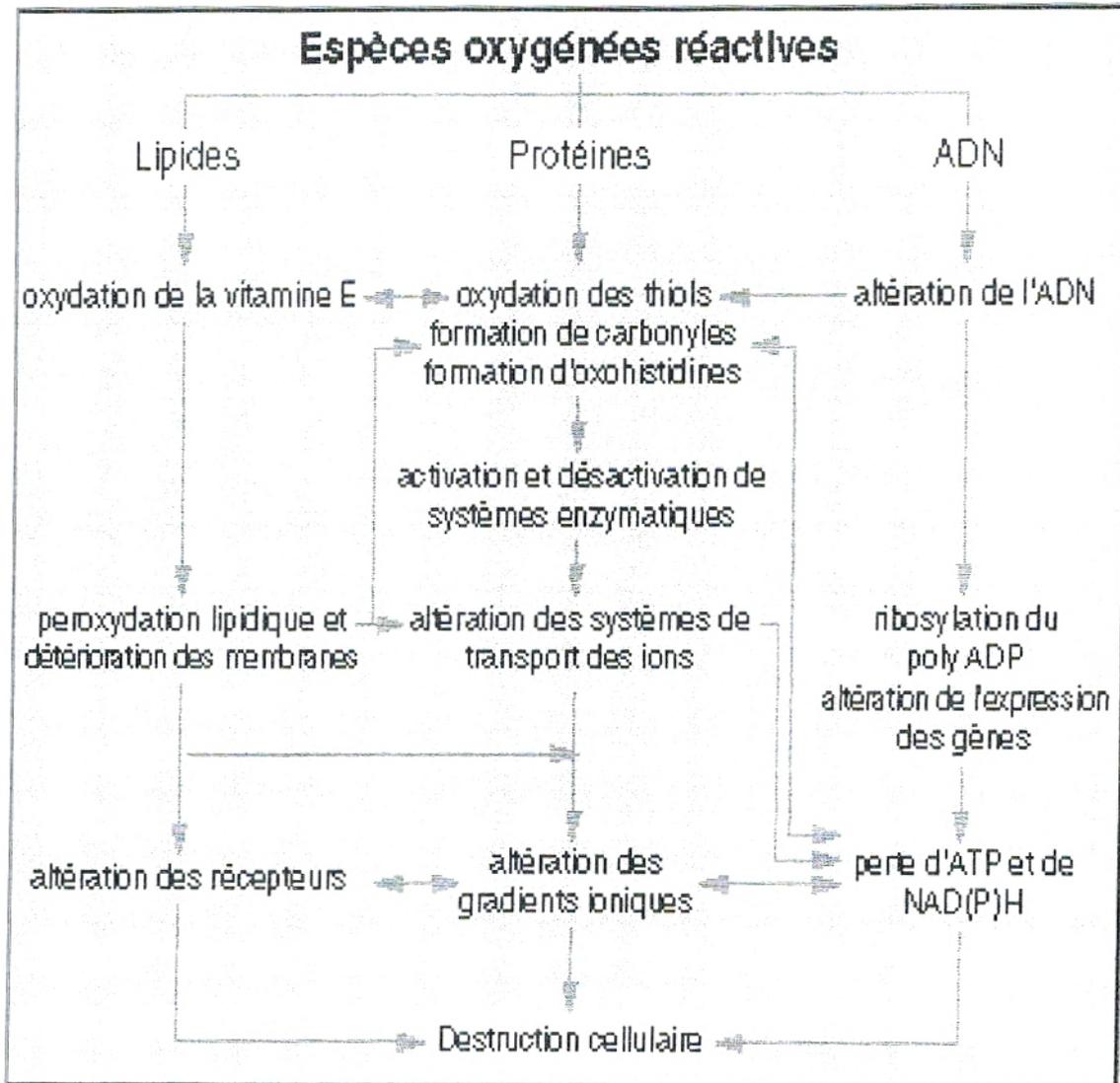
Les deux principaux marqueurs biologiques de l'oxydation des protéines sont la formation de carbonyles protéinés et de groupes nitrotyrosines. Les carbonyles protéinés sont formés lorsque les espèces réactives à l'oxygène attaquent les résidus d'acides aminés (Figure3). Histidine, proline, arginine et lysine sont particulièrement prédisposées à cette attaque. La

formation de nitrotyrosines est due au peroxy-nitrite hautement toxique, produit par la réaction de l'oxyde nitrique et de superoxyde. Les carbonyles protéinés et les nitrotyrosines sont tous les deux très stables et ne sont généralement pas retrouvés chez les patients, faisant d'eux des marqueurs biologiques utiles et fiables (LEAN et al., 2007).

De nombreux processus biologiques impliquent la présence des radicaux libres et il a été prouvé que les enzymes ainsi que la structure des protéines peuvent être attaquées et altérées quand les radicaux libres sont générés. Des modifications oxydatives des protéines peuvent donc se produire dans de multiples processus physiologiques et pathologiques. Ces modifications peuvent être primaires ou secondaires et la distinction est parfois arbitraire. Les modifications primaires se produisent lors : d'une oxydation par métal catalytique, une oxydation par radiation, lors d'une oxydation par l'ozone ou par des oxydes nitrogènes. Les modifications secondaires résultent de l'oxydation des protéines par des molécules générées par l'oxydation d'autres molécules, telles que la modification des protéines par l'hydroxynonanal produit par peroxydation lipidique (LEVINE et al., 2000).

Plusieurs laboratoires travaillent actuellement au développement de techniques immunologiques (ELISA, RIA) permettant de doser les protéines modifiées par les produits de la peroxydation des lipides (comme le malondialdéhyde et le 4-hydroxynonanal) ou des autoanticorps contre des protéines modifiées par les processus oxydatifs. Ces techniques sont probablement appelées à devenir d'importants outils diagnostiques (ESTERBAUER, 1996).

Les modifications des structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines par les EOA sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés. En présence de 2,4-dinitrophénylhydrazone (DNPH), ces dérivés carbonylés peuvent être mis en évidence dans des échantillons biologiques par spectrophotométrie, par technique HPLC ou via des anticorps mono et polyclonaux. En 1998, une méthode ELISA quantitative, sensible et applicable en routine dont les résultats se corrèlent parfaitement avec ceux obtenus par méthode spectrophotométrique, a été mise au point (PINCEMAIL et al., 1999).



**Figure 3 : Effets biologiques cellulaires des espèces oxygénées réactives (LEFEVRE et al., 1998).**

### **I.5.3. Au niveau du glucose**

Plusieurs mécanismes ont été évoqués mettant en jeu l'auto-oxydation du glucose, la voie des polyols, la glycation des protéines et la formation de produits de glycation avancée (AGE). Cette production anormale de radicaux libres est à l'origine de nombreux effets au niveau cellulaire. Ainsi, elle peut entraîner une modification de l'activité des facteurs de transcription tels que NF- $\kappa$ B, Sp1... Le stress oxydant qui s'accompagne d'une diminution du rapport NADPH, H<sup>+</sup>/NADP<sup>+</sup> dans les cellules est à l'origine d'une production diminuée du monoxyde d'azote, puisque ce cofacteur réduit est indispensable à sa synthèse à partir de L-arginine. Le métabolisme de NO peut également être altéré par une production anormale d'anions superoxydes (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) conséquence d'une concentration de glucose intracellulaire élevée. O<sub>2</sub><sup>-</sup> réagit avec le monoxyde d'azote pour former du peroxyde d'azote (ONOO<sup>-</sup>) qui est un puissant agent oxydant et toxique (DELATTRE et al. , 2001).

### **I.5.4. Au niveau de l'ADN**

Les EOA peuvent réagir avec la guanine, base constitutive de l'ADN, pour la transformer en 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OHdG) qui est capable d'induire des mutations spécifiques pouvant conduire au développement du cancer. La molécule d'ADN constitue une cible cellulaire importante pour les attaques radicalaires. Son altération entraîne une perturbation du code génétique (Figure 3). Les modifications observées après action du radical OH<sup>•</sup> sont très nombreuses: conversion des résidus thymine en thymine glycol et en 5-hydroxyméthyluracile, de la guanine en 8-hydroxyguanine, oxydation du déoxyribose entraînant une coupure des brins. Ces dénaturations peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome. Comme les protéines, l'ADN est vulnérable aux dégâts oxydatifs, mais il existe des mécanismes enzymatiques pour réparer les dégâts sur l'ADN. Sans de tels mécanismes, la stabilité génomique serait très faible. La plupart des dégâts oxydatifs sur l'ADN sont ainsi corrigés sans créer de maladie, mais les dégâts sur l'ADN peuvent être utilisés comme marqueurs du stress oxydatif. Ces altérations peuvent résulter en des cassures de brins, des enchaînements croisés protéines-ADN et des modifications de bases. Chacune de ces réactions est potentiellement mutagène et peut bloquer la réplication de l'ADN. Le marqueur biologique de l'oxydation de l'ADN le plus largement utilisé est la détection de bases modifiées. Les quatre bases d'ADN peuvent être endommagées par l'attaque des radicaux libres mais la plus étudiée est la 8-hydroxy- 2'-déoxyguanosine (8-OHdG) qui est formée à partir de l'attaque des radicaux hydroxyles sur la déoxyguanosine (REHMAN et al., 1999).

Le marqueur biologique de l'oxydation de l'ADN le plus largement utilisé est la détection de bases modifiées. Les quatre bases d'ADN peuvent être endommagées par l'attaque des radicaux libres mais la plus étudiée est la 8-hydroxy- 2'-déoxyguanosine (8-OHdG) qui est formée à partir de l'attaque des radicaux hydroxyles sur la déoxyguanosine (REHMAN et al., 1999). Un large panel de techniques est employé pour détecter et quantifier la 8-OHdG, dont l'HPLC qui est la plus fréquente (COLLINS et al., 2000). Les acides nucléiques oxydés peuvent être détectés dans l'ADN des cellules sanguines et aussi dans les urines.

Une autre méthode pour détecter l'oxydation de l'ADN est l'électrophorèse sur gel d'une cellule unique ou dosage de la " comète ". En utilisant cette méthode, il est possible de quantifier la protection envers un stress oxydatif standard à partir d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans des cellules intactes, comme les lymphocytes, qui peuvent être prétraités avec des antioxydants possibles ou pris chez des sujets après exposition diététique. Donc, bien que cette méthode soit indirecte, elle a quelque validité écologique et s'applique aux cellules vivantes intactes (LEAN et al., 2007). Après avoir été déposées sur un gel d'agarose, les cellules sont lysées avec un détergent puis traitées avec une solution à haute concentration en sels. Ces opérations permettent de former des nucléotides, ce qui a pour conséquence que l'ADN contenant des cassures et soumis à une électrophorèse migrera vers une anode sous la forme d'une queue de comète. Après coloration, les gels sont examinés en microscopie fluorescente. L'intensité relative de la fluorescence mesurée dans la queue de la comète est directement proportionnelle à la fréquence de cassures dans l'ADN. Ce procédé d'analyse très rapide peut être appliqué sans difficulté pour des études en routine (COLLINS et al., 1997). La société Genox Corporation, Curtland, USA (importateur belge: Medigal, Villers-Poterie) a mis sur le marché un kit ELISA, ce qui a permis de rendre le dosage de l'ADN encore plus accessible pour des analyses de routine (PINCEMAIL et al., 1999).

#### **1.5.5. Au niveau des cellules neutrophiles**

Les polymorphonucléaires ou neutrophiles jouent un rôle important dans la défense de l'organisme puisqu'ils assurent la phagocytose et la destruction de microorganismes étrangers. La cytotoxicité de ces cellules s'explique par leur capacité à générer intracellulairement de grandes quantités d'EOA, mais aussi à libérer à partir de leurs granules des enzymes protéolytiques (élastase, collagénase) et de la myéloperoxydase. Indépendamment de cette action, les polymorphonucléaires peuvent aussi s'activer sous l'action de stimuli extérieurs comme les fragments de protéines, les cytokines, les endotoxines, les fragments du complément qui sont libérés en grande quantité dans

l'organisme au cours de différentes situations pathologiques (traumatisme crânien). Les produits de cette activation sont libérés dans le milieu extracellulaire et s'attaquent dès lors à des tissus ou organes sains déclenchant ainsi un phénomène inflammatoire aigu. Une élévation du taux plasmatique en myéloperoxydase et élastase sera donc le reflet d'une intense activation leucocytaire et, par conséquent, la preuve indirecte que des EOA ont été produites dans ces situations pathologiques. Des tests spectrophotométriques et immunologiques pouvant être utilisés en routine existent pour ces deux enzymes (élastase: Merck Belgolabo, Overijse, Belgique; myéloperoxydase: test RIA de Pharmacia-Upjohn, Uppsala, Suède et test ELISA de Oxis International, Cutter Circle, USA) (PINCEMAIL et al., 1999).

## **II. STRESS OXYDATIF ET OBESITE**

### **II.1. Généralités sur l'obésité**

L'obésité se définit comme étant une situation dans laquelle la masse lipidique corporelle est accrue par rapport aux normes disponibles, qui sont en corrélation avec l'âge, le sexe, la taille, et la masse musculaire. L'augmentation de la masse lipidique se produit par hypertrophie (augmentation de la taille moyenne et du contenu lipidique de chaque cellule adipeuse individuelle), ou par hyperplasie (augmentation du nombre total de cellules adipeuses) ou de la combinaison de ces deux anomalies, dans les obésités les plus sévères. La distribution de cette masse lipidique accrue peut être généralisée ou localisée dans certaines régions du corps (JEANRENAUD, 1992).

Au plan de la nomenclature, plusieurs classifications des obésités ont été proposées : certaines obésités ont été dénommées en fonction du type de distribution de l'excès de graisse (obésité centrale ou androïde, et obésité glutéofémorale ou gynoïde), obésité hypertrophique ou hyperplasique, obésités génétiques, hypothalamiques, l'obésité pelvienne dystrophique héréditaire de la région fessière, les obésités féminines: l'obésité gravidique, l'obésité post-partum, l'obésité post-ménopausique; les obésités endocriniennes, obésité infantile ou de l'âge adulte, etc. Aucune de ces classifications n'est vraiment satisfaisante, en raison de leur nature descriptive (JEANRENAUD, 1992 ; BOUCHARD, 1991).

La physiopathologie de l'obésité est extrêmement complexe car elle comprend de multiples facteurs qu'il est difficile de mettre en relation fonctionnelle. Ces facteurs comprennent: la prise alimentaire, la génétique, le système nerveux central, le système gastro-intestinal et endocrinien, l'âge, l'activité physique, le comportement hormonal (grossesse,

ménopause) ainsi que certains facteurs environnementaux (stress, climat, rayons UV, pollution,...) (JEANRENAUD, 1992).

L'obésité, reflet indirect du développement socioéconomique d'un pays n'est pas sans conséquence sur la santé de la population du fait de son lien étroit avec les maladies cardiovasculaires. L'Algérie, comme les autres pays du Maghreb en plein essor économique, n'est pas épargnée par ce fléau des temps modernes, comme le montre les résultats de cette enquête portant sur un millier de personnes non sélectionnées d'un quartier d'Alger. Une étude de la masse corporelle (calcul de l'indice de masse corporelle qui est le poids (kg)/taille au carré (m<sup>2</sup>)) dans un quartier d'Alger tente d'apporter un début de réponse à cette question (Tableau I). Les valeurs obtenues ont été subdivisées en 5 groupes selon les critères utilisés par l'étude MONICA (OMS, 2003) :

- Groupe IMC 1 < 20 : sujets ayant un déficit pondéral
- Groupe IMC 2 compris entre 20 et 25: population normale
- Groupe IMC 3 compris entre 25 et 30 : surpoids
- Groupe IMC 4 compris entre 30-40 : obésité modéré
- Groupe IMC > 40 : obésité franche (morbide)

**Tableau I : Répartition de la population étudiée en groupes et en classe d'IMC (KEMALI, 2003)**

Groupe	Nombre	%
1	114	11,4
2	406	40,8
3	326	32,7
4	138	13,9
5	12	1,2
<b>Total</b>	<b>996</b>	<b>100</b>

Classe	Nombre	%
<b>I = IMC 1+2</b>	520	52,2
<b>II = IMC 3</b>	326	32,6
<b>III = IMC 4+5</b>	150	15,1

Selon l'étude effectuée par le professeur KEMALI du service d'endocrinologie de l'hôpital central de l'armée d'Ain Naâdja, « l'obésité, longtemps ignorée dans notre pays, peut représenter dans les années à venir un véritable problème de santé publique ». L'obésité serait donc une épidémie en Algérie où, selon les chiffres présentés au congrès des nutritionnistes du

Maghreb (jeudi 2 novembre 2006), 53% des femmes algériennes seraient obèses ou en surpoids. L'étude du Pr KEMALI révèle que près de la moitié de notre population présente une obésité, 1/3 accuse un surpoids, 15,1 % ont un excès pondéral franc et 1,2 % une obésité morbide. Aussi, le niveau socio-économique, étudié indirectement à partir du niveau d'instruction, montre qu'une obésité est cinq fois plus fréquente chez les personnes illettrées que chez celles ayant un niveau d'études supérieures. Les pathologies artérielles représentées par les accidents vasculaires cérébraux, les coronaropathies, sont nettement plus fréquentes chez l'obèse. Cette étude démontre également que 34 % des hypertendus sont obèses, soit un chiffre de 2,3 fois plus élevé que dans la population générale (KEMALI, 2003).

## **II.2. Les conséquences métaboliques de l'obésité**

L'obésité est le risque majeur dans le développement de la résistance à l'insuline et du diabète non insulino-dépendant (KOÇAK et al., 2007). L'obésité abdominale, en particulier, est associée à une morbidité et mortalité cardiovasculaire (DAVI et al., 2002) en particulier chez la femme chez laquelle s'ajoute des circonstances spécifiques telles que la grossesse, le syndrome polykystique ovarien, l'utilisation des contraceptifs oraux et la ménopause (BENTLET-LEWIS et al., 2007; BONORA, 2006).

Le syndrome métabolique est défini par un ensemble sévère de facteurs de risque cardiovasculaires tels que le diabète non insulino-dépendant, l'hypertension artérielle, l'hypertriglycéridémie et l'hypo-HDL-cholestérolémie; auxquels s'ajoutent l'obésité centrale et l'insulinorésistance, qui sont les deux désordres principaux du syndrome métabolique en tant que facteurs de risques supplémentaires pour ce syndrome.

## **II.3. Stress oxydant et obésité**

L'augmentation de la formation des ROS contribue au développement de plusieurs pathologies telles que l'obésité et les maladies cardio-vasculaires (FENSTER et al., 2002). L'obésité est le principal facteur responsable du développement et de l'évolution du syndrome métabolique, l'augmentation du stress oxydant dû à l'accumulation des lipides est un mécanisme important dans l'association de l'obésité au syndrome métabolique (FURUKAWA et al., 2004). L'augmentation du stress oxydant a été associée aux désordres métaboliques de l'obésité. Le stress oxydatif, même à court terme a un impact important sur la régulation de l'expression génétique de différentes adipokines favorisant l'athérosclérose (KAMIGAKI et al., 2006).

Le stress oxydant peut être le mécanisme soulignant le développement des co-morbidités de l'obésité : Il est relié aux maladies chroniques associées à l'obésité : augmentation de la peroxydation des lipides (MDA, hydroperoxydes, 4- hydroxynonéal, isoprostanes et diènes conjugués) ou de l'oxydation des protéines et de l'ADN (8-hydroxydéoxyguanosine). L'oxydation des lipides est associée à des indices sévères de l'adiposité et à un système de défense antioxydant faible (VINCENT et al., 2007). L'obésité androïde est associée à une peroxydation lipidique relative au degré d'adiposité abdominale et réversible avec une perte de poids et alimentation riche en antioxydants (DAVI et al., 2002). De plus, les concentrations sériques en nutriments antioxydants, notamment le bêta-carotène, la vitamine C et E, le zinc et le sélénium sont principalement influencées par l'âge, le sexe, le tabac, l'alcool, mais aussi par la corpulence (GALAN et al., 2005). Selon une étude norvégienne, l'obésité morbide est associée à une faible concentration des vitamines B6, C, D et E circulantes (AASHEIM et al., 2008).

L'insulinorésistance et son étroite relation avec l'obésité représente un mécanisme physiopathologique important dans le déséquilibre entre les prooxydants et les antioxydants dans l'organisme. Il existe une relation étroite entre l'oxydation des protéines et l'hyperglycémie dans l'insulinorésistance. Une augmentation du stress oxydant et une diminution des défenses antioxydantes chez un individu obèse contribueraient à la diminution de la sécrétion, de la sensibilité et de la réponse insulinique. Ceci appuie l'hypothèse favorisant le développement du diabète chez les obèses (KOCIC et al., 2007). L'insulinorésistance peut jouer un rôle important en tant que source génératrice du stress oxydant dans le développement de plusieurs maladies et ceci dès la puberté (ATABEK et al., 2006). Dans le diabète non insulinodépendant et l'obésité, les marqueurs plasmatiques du stress oxydant sont modifiés de la même manière, le stress oxydant serait ainsi le connecteur entre ces deux pathologies (VIRGOLICI et al., 2005).

Les radicaux libres inhibent la sécrétion d'insuline. Ils interfèrent avec différentes étapes du couplage stimulus sécrétion. Dans l'îlot de souris, ils provoquent une hyperpolarisation membranaire par activation des canaux potassiques dépendants de l'ATP, par un mécanisme qui semble impliquer une diminution de la concentration en ATP sans modification des taux de calcium intracellulaires (KRIPPEIT-DREWS et al., 1999). Ils inhibent l'activation du métabolisme mitochondrial par le glucose (MAECHLER et al., 1999). De même, le 4-hydroxy-2-nonéal (4-HNE), un des produits de la peroxydation des lipides, diminue la sécrétion d'insuline en réponse au glucose de manière dose-dépendante (MIWA et al., 2000).

Plusieurs études sur des lignées cellulaires in vitro démontrent que le stress oxydatif inhibe la transduction du signal de l'insuline. Des concentrations micro molaires d'eau oxygénée inhibent l'autophosphorylation du récepteur de l'insuline, la phosphorylation de l'*insulin receptor substrate-1* (IRS-1), et les événements en aval de la phosphorylation d'IRS-1 tels que l'activation de la phosphatidylinositol 3-kinase, le transport du glucose, et l'activation des *mitogenactivated protein kinases* (MAP kinases) (HANSEN et al., 1999). Le stress oxydatif inhibe la translocation du transporteur de glucose GLUT4 et l'activation de la protéine kinase B stimulées par l'insuline dans les cellules adipeuses. Ces effets sont bloqués en présence d'un antioxydant (RUDICH et al., 1999 ; TIROSH et al., 1999).

Le rôle du stress oxydant ainsi que l'inflammation dans le développement de l'obésité et de ses désordres métaboliques est sous le débat, l'obésité est cependant associée à une diminution du statut redox intracellulaire induisant le processus proadipogénique délétère (GALINIER et al., 2006). La capacité antioxydante totale chez les obèses serait plus basse autant chez les obèses en bonne santé que chez les obèses diabétiques. En revanche l'augmentation de la peroxydation lipidique et protéique au niveau érythrocytaire serait plus élevée chez les obèses et les obèses diabétiques comparés au témoins (KOCIĆ et al., 2007).

L'augmentation de la formation des ROS au niveau vasculaire serait corrélée à la prise de poids chez les obèses (MUNDY et al., 2007). Un stress oxydant chronique au niveau endothélial avec une hyperleptinémie peuvent activer le processus athérogénique et contribuer ainsi au développement de pathologies vasculaires. L'étude de l'équipe de GALILI sur les maladies cardiovasculaire liées à l'obésité a montré que l'obésité est caractérisée par l'augmentation d'un stress oxydatif vasculaire et d'un dysfonctionnement endothélial associés à un taux élevé de leptine et ceci avant le développement de l'insulinorésistance (GALILI et al., 2007).

### **III. STRESS OXYDATIF ET GROSSESSE**

#### **III.1. Généralités sur la grossesse**

La grossesse est une situation métabolique unique où les phénomènes d'adaptation tendent à privilégier l'unité fœto-placentaire. Le métabolisme de la mère est profondément modifié, en particulier au niveau de la circulation des métabolites et au niveau hormonal. Ces modifications permettent d'assurer normalement un apport suffisant de nutriments au fœtus lors de sa période de croissance (KNOPP et al., 1981).

Les besoins énergétiques du fœtus sont en majorité assurés par le glucose et les acides aminés dont le passage transplacentaire se fait par diffusion. Il existe une sécrétion d'insuline

par le fœtus dès la 9<sup>ème</sup> semaine de gestation, et celle-ci est réglée par l'insulinémie maternelle. C'est l'hyperinsulinémie fœtale qui est responsable, du moins en partie, de la morbidité périnatale. En effet, selon la théorie de Pedersen (Mc FARLANE et al., 1988), l'hyperglycémie maternelle est associée à une hyperglycémie fœtale et une surstimulation du pancréas, une hypertrophie des cellules des îlots et une hyperplasie des cellules bêta qui amènent à une hyperinsulinémie. Cet enchaînement permet d'expliquer la fréquence accrue d'hypoglycémie dans cette situation. Le métabolisme des hydrates de carbone durant la grossesse est marqué par un phénomène de jeûne accéléré d'une part, et par un effet diabétogène post prandial d'autre part, soit insulinosécrétion et insulino-résistance. Durant la période initiale (premier trimestre) de la grossesse, la tolérance au glucose est normale, et la sensibilité périphérique à l'insuline du tissu musculaire de même que la production de glucose par le foie sont dans les limites de la norme. Toutefois, on observe une sécrétion d'insuline plus importante lors d'une charge orale en glucose. Bien que l'on n'en connaisse pas la cause, cette augmentation de l'insulinosécrétion participe avec les autres hormones comme la progestérone, les œstrogènes et le cortisol, à une lipogénèse et un stockage de graisses (BUTTE, 2000). Malgré cette insulinosécrétion plus marquée, la glycémie reste quasiment normale, ce qui indique un certain degré d'insulino-résistance. Plus tard dans la grossesse, les taux d'insulinémie basale et post prandiale augmentent, et va jusqu'à tripler lors du troisième trimestre (CATALANO, 1994). Cette réduction de sensibilité à l'insuline s'expliquerait par l'ensemble des modifications hormonales durant la grossesse. Ainsi, la sensibilité des cellules  $\beta$  change parallèlement à la croissance de l'unité fœto-placentaire et à l'élévation des  $\beta$ -HCG (gonadotrophine chorionique humaine), prolactine, cortisol et progestérone. Cette insulino-résistance permet au fœtus de profiter des nutriments de la période post prandiale. La conjugaison de ces deux phénomènes, l'insulino-résistance et l'hyperinsulinisme compensatoire, aboutit à maintenir la tolérance au glucose dans les limites de la normale, bien que légèrement moins bonne que chez la femme non enceinte, tout en garantissant au fœtus des substrats énergétiques en suffisance ((Mc FARLANE et al., 1988).

Les modifications que subit l'organisme au cours de la grossesse entraînent une transformation des mécanismes homéostatiques de la mère avec un bouleversement des normes biologiques. Par ailleurs, le placenta va sécréter des hormones dont le dosage est intéressant dans le diagnostic et la surveillance de la grossesse (KLEIN et al., 1989).

Le placenta est un organe hautement vascularisé qui se développe au cours des premières semaines de la grossesse afin de fournir au fœtus de l'oxygène, des nutriments et d'autres substances. Le placenta produit également des hormones importantes pour le maintien de la

grossesse. Les quatre hormones principales produites par le placenta sont la gonadotrophine chorionique humaine (HCG), la progestérone, les œstrogènes et l'hormone lactogène placentaire (HLP) (LEFEVRE, 1997). Lors d'une grossesse normale, on observe des modifications métaboliques physiologiques qui privilégient l'unité fœto-placentaire. Il s'agit essentiellement d'une insulino-résistance qui devient très importante au troisième trimestre, celle-ci résulte de l'action des hormones placentaire ; elle est majorée par une obésité, ou une inactivité maternelle. L'hyperinsulinisme qui en résulte est en fait initié très tôt durant la grossesse, sous l'effet de l'augmentation brutale des œstrogènes maternels dont l'effet stimulant de l'insulinosécrétion est bien connu (FOURNIE, 1997).

### **III.2. Grossesse et obésité**

La surcharge pondérale de la grossesse est devenue une situation obstétricale très fréquente et les grossesses chez les patientes obèses sont marquées par une incidence élevée de complications maternelles gravidiques (Diabète gestationnel, hypertension artérielle, pré-éclampsie, toxémie, accouchements prématurés, morbidité maternelle) (GILBOA et al., 2008; KIEL et al., 2007; MIGHTY et al., 2007) et fœtales (macrosomie, anomalies de fermeture du tube neural, mortalité périnatale, problèmes cardiaques, omphalocèles et d'autres anomalies) (NOHR et al., 2005; WATKINS et al., 2003).

Les taux de césariennes et de l'accouchement instrumental sont également plus élevés, essentiellement en raison des complications de la grossesse. Ces risques sont significativement accrus même pour des surcharges pondérales modérées ou pour un gain pondéral gravidique, et augmentent avec le niveau de l'obésité (CHU et al., 2007). Mais encore, selon les résultats de l'étude de GETAHUN, l'âge gestationnel des femmes enceintes obèses serait supérieur à celui des témoins non obèses (GETAHUN et al., 2007).

Il est maintenant bien établi que la grossesse chez la femme en surpoids ou obèse est une grossesse à risque et doit être prise en charge comme telle (GALTIER et al., 2003). Au Etats-Unis, les maladies cardiovasculaires restent les premières causes de mortalité chez les femmes ; le syndrome métabolique, incluant : obésité abdominale, dyslipidémies, insulino-résistance et hypertension artérielle, représente le facteur de risque majeur de ces maladies. Dans des circonstances plus sévères relatives aux femmes, s'ajoute : les contraceptifs oraux, le syndrome poly kystique ovarien, la ménopause mais aussi la grossesse (BENTLEY-LEWWIS et al., 2007).

La prévalence de l'obésité est en augmentation progressive dans les pays occidentaux, et la surcharge pondérale de la grossesse est donc une situation fréquente. À long terme, on observe une augmentation du risque d'obésité et de diabète de type 2 chez la mère, ainsi qu'une plus grande fréquence de l'obésité chez l'enfant, et que l'obésité infantile serait programmée *in utero* (DIXIT et al., 2008 ; GALTIER et al., 2003). Il semble donc légitime de proposer à ces patientes une prise en charge multidisciplinaire. Pendant la période préconceptionnelle, l'accent est mis sur l'obtention d'une perte de poids, la prévention des carences, la recherche de complications de l'obésité. Au cours de la grossesse, les apports nutritionnels devront être adaptés pour permettre une croissance fœtale satisfaisante, et l'apparition de complications obstétricales sera surveillée.

La prévalence de la surcharge pondérale chez la femme en âge de procréer est comprise entre 20 et 35 %, celle de l'obésité morbide est en augmentation progressive. Les effets néfastes de l'obésité morbide sur la santé sont reconnus depuis longtemps avec une majoration des cas de diabète et d'hypertension artérielle. Ce type d'obésité semble être un facteur de risque indépendant majeur de complications gravidiques et périnatales. Une étude qui décrit les complications obstétricales chez la femme obèse morbide, montre qu'un index de masse corporelle supérieur à 40 est un facteur de risque périnatal indépendant.

Un gain gestationnel important détermine le risque de présenter une surcharge pondérale après l'accouchement. Pour ce fait, en *post-partum*, la prévention de l'aggravation ultérieure de l'obésité passe par une prise en charge globale de la patiente dans son nouveau contexte familial et social (DIXIT et al., 2008 ; GROSSETTI et al., 2004).

L'obésité ou même le surpoids, et en particulier en période de grossesse, doivent être considérés comme des situations cliniques anormales : d'après certaines études, le risque de mort périnatale, est deux fois plus important entre un surpoids et l'évolution vers l'obésité (RAATIKAINEN et al., 2006 ; KRISTENSEN et al., 2005).

Plusieurs études ont démontré l'association d'une panoplie de complications liées au surpoids et à l'obésité gravidique et de l'importance d'une nutrition adaptée aux échanges métaboliques spécifiques durant la grossesse (BAĪKOVA et al., 2007; HENRIKSEN, 2007). De plus, selon l'étude récente de MICALI, les femmes enceintes ayant récemment présenté des symptômes de désordres nutritionnels (avant la grossesse) continuent à en avoir pendant la grossesse (MICALI et al., 2007).

### **III.3. Stress oxydant au cours de la grossesse**

#### **III.3.1. Stress oxydatif et grossesse**

Les phénomènes radicalaires jouent un rôle important dans la reproduction, la nidation de l'œuf fécondé et le développement de l'embryon. Mais un déséquilibre entre leur production, intense pendant la gestation, et leur élimination peut engendrer un stress oxydant (AUROUSSEAU et al., 2004). Ainsi, plusieurs études ont montré que le stress oxydatif est associé à la grossesse (AHN et al., 2007; PERKINS et al., 2006). Selon ADEMUYIWA, la Mn-SOD plasmatique jouerait un rôle important dans la neutralisation de l'anion superoxyde produit au niveau du placenta ; quant à la catalase elle serait responsable de la décomposition du peroxyde d'hydrogène au niveau érythrocytaire (ADEMUYIWA et al., 2007). En revanche la supplémentation en fer durant la grossesse contribue à l'augmentation du stress oxydatif chez les femmes enceintes qui en prennent, notamment une augmentation du MDA plasmatique maternel et placentaire (DEVIRIM et al., 2006).

Afin d'explorer une éventuelle relation entre le stress oxydant et la sévérité clinique des nausées et vomissements gravidiques, une étude a été faite sur des femmes enceintes souffrants de cet état comparées à des femmes enceintes en bonne santé. L'équipe de VERIT a pu démontrer que le stress oxydant est étroitement lié à cette symptomatologie et suggère que l'évaluation des marqueurs du statut oxydant/antioxydant total serait efficace en tant que diagnostique supplémentaire des nausées et vomissements gravidiques (VERIT et al., 2007). Une infection gravidique due à l'*Helicobacter pylori* est une forme sévère des nausées et vomissements pendant la grossesse ; elle serait elle aussi associée au stress oxydant reflétant l'augmentation de l'activité des ROS et la diminution du statut antioxydant (GÜNEY et al., 2007).

Les résultats récents de recherche de l'équipe de GRISSA suggèrent que le diabète gestationnel et la macrosomie fœtale sont associés à une chute de la régulation du statut antioxydant et que la macrosomie est associée à une altération du métabolisme lipidique (GRISSA et al., 2007).

La prééclampsie et l'hypertension gravidique représentent une cause majeure de la mortalité et de la morbidité maternelle, elle est aussi souvent à l'origine des accouchements prématurés. Le stress oxydant est considéré comme l'un des facteurs inducteurs de cette pathologie. L'étude récente de l'équipe de PATIL démontre que l'augmentation du niveau de la peroxydation lipidique notamment du MDA chez les patientes pré éclamptiques est due au déclin de l'efficacité des défenses antioxydantes (SOD, catalase, glutathion peroxydase et

glutathion réductase) comparées aux groupes témoins (femmes enceintes en bonne santé, et femmes non enceintes) (PATIL et al., 2007; PERKINS, 2006).

### **III.3.2. Stress oxydatif et développement fœtal**

Les espèces oxygénées réactives (EOR) agissent autant que messagers primaires ou secondaires aussi bien sur la croissance que sur la mort cellulaire. Plusieurs études ont pu démontrer le rôle important et direct des EOR sur le développement car le statut redox agit sur la régulation de certains facteurs de transcription qui influencent la signalisation cellulaire pathologique due à une prolifération et une différenciation erronée évoluant vers l'apoptose. Cependant, le stress oxydatif pourrait altérer plusieurs réactions qui affectent le développement embryonnaire (DENNERY, 2007).

La malnutrition maternelle associée au retard de croissance intra-utérin est étroitement liée à un stress oxydatif important. Ainsi le stress oxydant augmente chez les patientes qui présentent un retard de croissance intra-utérin avec : une augmentation du taux du MDA, de la xanthine oxydase, et de la glutathion peroxydase et une baisse du potentiel antioxydant total, du taux de la SOD, et de la catalase. Les paramètres du stress oxydant dans cette étude ont été évalués au niveau du plasma maternel, du sang ombilical et du placenta (BIRI et al., 2007).

La perturbation du statut vitaminique antioxydant maternel durant la grossesse peut affecter le développement fœtal (AHN et al., 2007). Une étude a même montré l'importance de la déficience en folates et de la supplémentation préventive à la vitamine C durant la grossesse. Cette étude a aussi démontré l'augmentation pondérale chez les futurs nouveau-nés après leur naissance et durant la première année de leur vie (HONG et al., 2007).

### **III.3.3. Stress oxydatif et placenta**

Le stress oxydant est caractérisé par un surplus de prooxydants contre une baisse des forces antioxydantes. Le placenta, tissu riche en hormones, est une importante source d'agents prooxydants, mais aussi d'enzymes antioxydantes, il est cependant capable de maintenir la peroxydation lipidique sous contrôle qui augmente pendant une grossesse normale. MUELLER et ses collaborateurs ont mesuré la formation des diènes conjugués pendant l'oxydation des LDL au niveau du placenta notant un Lag time plus court. L'Estriol, qui augmente énormément durant la grossesse est un antioxydant qui élève le Lag time de l'oxydation des LDL in vitro. Le rôle biologique d'un taux élevé en estriol peut être en partie responsable de l'autoprotection du placenta limitant les dommages du stress oxydatif (MUELLER et al., 2005). Le rôle de la vitamine E en tant qu'agent thérapeutique de la

prééclampsie a été souvent discuté quant à son association à un important stress oxydant au niveau du placenta et de la circulation maternelle, sans pour autant démontrer l'efficacité de l'administration de cette vitamine dans cette pathologie (DEBIER, 2007).

### **III.3.4. Stress oxydatif et accouchement**

Pendant l'accouchement, la femme est confrontée à un important stress oxydant, où les agents prooxydants proviennent du placenta (CINDROVA-DAVIES et al., 2007). Cependant, la césarienne n'induit pas plus de stress oxydant qu'un accouchement par voie basse (HRACSKO et al., 2007).

Le stress oxydant in utero peut être un facteur déterminant de la mortalité et la morbidité des nouveau-nés prématurés. La perturbation du statut redox maternel et placentaire prédispose à un accouchement prématuré. On note aussi que l'avortement spontané est multifactoriel, et parmi ses causes, le stress oxydant joue un rôle durant la grossesse (WEINBERGER et al., 2006).

Il apparait clairement que le stress oxydatif est important au cours de la grossesse, tout comme au cours de l'obésité. L'association obésité-grossesse risque d'accentuer ce stress oxydatif et majorer ses effets néfastes, non seulement chez la mère mais aussi chez le nouveau-né. Evaluer les marqueurs du statut oxydant / antioxydant au niveau de l'unité mère-placenta-fœtus est donc d'une importance capitale afin de dépister tout risque et améliorer la qualité de vie.

## **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## I. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

### I.1. Population étudiée

Notre étude porte sur les femmes enceintes venant accoucher au service de gynécologie obstétrique de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé Mère-Enfant du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Les obstétriciens, par des méthodes appropriées de diagnostic, permettent de déterminer les grossesses à haut risque (diabète, hypertension artérielle, prématurité, ...) qui sont écartées de notre étude.

Deux populations sont choisies et incluses dans ce travail :

- + Femmes témoins en bonne santé, non obèses, ne présentant aucune pathologie (n= 50),
- + Femmes obèses mais sans autre pathologie associée (n= 40).

Toutes ces femmes présentent des grossesses à terme ( $\geq 38$  semaines).

Toutes les femmes sont informées sur le but de l'étude et leurs consentements sont obtenus préalablement. Un interrogatoire minutieux est mené auprès des femmes sélectionnées afin de définir les caractéristiques suivantes :

- Age,
- Taille,
- Poids,
- Indice de Masse Corporelle (IMC : poids/ taille<sup>2</sup>),
- Tension artérielle,
- Voie d'accouchement,
- Age gestationnel,
- Nombre de parité, nombre de gestation,
- Ancienneté de l'obésité (pour les femmes obèses),
- Antécédents familiaux,
- Prise de contraceptifs oraux,
- Sexe et poids de naissance de leurs nouveau-nés,
- Conditions socioéconomiques.

Les prélèvements sanguins sont effectués sur les mères et leurs nouveau-nés (sang du cordon ombilical). Une partie aliquote du placenta est aussi prélevée. Les prélèvements de la mère, du nouveau-né et au niveau du placenta permettent d'identifier les modifications biochimiques au sein de l'unité mère-placenta-fœtus.

## **I.2. Prélèvements et préparation des échantillons**

### **I.2.1. Prélèvements sanguins**

Chez les femmes enceintes, les prélèvements sanguins sont réalisés au niveau des veines du pli du coude au moment de l'accouchement. Le sang fœtal est prélevé sur la veine ombilicale après délivrance et coupure du cordon ombilical.

Le sang prélevé (maternel ou fœtal) est recueilli sur des tubes héparinés puis centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 min. Le plasma est récupéré pour doser (le jour même) le glucose, les protéines totales, la vitamine C et les diènes conjugués ; une partie du plasma est conservée à -20°C pour le dosage des lipides, de l'urée, de la créatinine et des autres marqueurs plasmatiques du statut oxydant/antioxydant. Le culot est récupéré, lysé avec 2 volumes d'eau distillée glacé puis incubé pendant 15 min au réfrigérateur (2-8°C). Celui-ci est ensuite centrifugé à 4000 t/min pendant 10 min afin d'éliminer les débris cellulaires. Le surnageant récupéré constitue le lysat érythrocytaire qui servira pour le dosage des marqueurs érythrocytaires du statut oxydant/antioxydant.

### **I.2.2. Placenta**

Environ 10 g de placenta sont prélevés après la délivrance, le rinçage à l'eau physiologique permet d'éliminer le sang. Deux lysats sont préparés à partir du placenta selon la méthode de WANG (WANG et al., 1996).

- 1) Homogénat pour la détermination des paramètres lipidiques et des protéines totales.

10 ml d'eau physiologique sont additionnés à 1g de placenta. Après broyage au ultraturax et centrifugation à 3000 t/min pendant 10 min, le surnageant est récupéré dans un tube sec. Un volume de SDS 1% (Sodium dodecylsulfate) est additionné à un volume du surnageant récupéré. L'homogénat est incubé 1h dans la glace et conservé à -20°C en vue des différents dosages.

- 2) Homogénat pour la détermination des paramètres du statut oxydant/ antioxydant. 1g de placenta est placé dans 9 ml d'eau distillée glacée puis est broyé au ultraturax. L'ensemble est centrifugé ensuite à 3000 t/min pendant 10 min pour récupérer le surnageant qui constitue l'homogénat. Ce dernier est conservé à -20°C en vue des différents dosages.

## **II. ANALYSES BIOCHIMIQUES**

### **II.1. Dosage du glucose**

Le dosage du glucose est réalisé par méthode enzymatique colorimétrique (Kit PROCHIMA). En présence de la glucose-oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de la peroxydase et du phénol, oxyde un chromogène (4-aminoantipyrine) incolore en un colorant rouge à structure quinoneimine. L'absorption est mesurée à 505 nm et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration du glucose.

### **II.2. Détermination des protéines totales**

Les protéines totales sont dosées par la méthode colorimétrique de Biuret (Kits QUIMICA CLININICA APLICADA S. A, Espagne), sur le plasma (maternel et fœtal), ainsi que sur le l'homogénat placentaire. Les protéines forment avec les ions cuivriques, en milieu alcalin, un complexe coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en protéines. L'absorption est mesurée à 550 nm.

### **II.3. Détermination des paramètres lipidiques**

#### **II.3.1. Dosage du cholestérol total**

Le dosage du cholestérol total est réalisé par méthode enzymatique (Kits QUIMICA CLININICA APLICADA S. A, Espagne), sur le plasma (maternel et fœtal), ainsi que sur le l'homogénat placentaire. La réaction consiste à libérer le cholestérol de la liaison ester par la cholestérol-estérase, et d'oxyder le cholestérol libre non estérifié par la cholestérol-oxydase. L'indicateur est une quinonéimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminophénazone, sous l'action catalytique de la peroxydase. La concentration en quinonéimine colorée est mesurée à 510 nm, elle est proportionnelle à la concentration en cholestérol total.

#### **II.3.2. Dosage du LDL-cholestérol**

##### **• Préparation de la fraction LDL**

Les lipoprotéines de basse densité sont précipitées par une solution à pH= 5,08 (pH isoélectrique des LDL) contenant polyanion (héparine) et un chélateur (citrate trisodique). Après centrifugation les HDL, les VLDL et les chylomicrons restent dans le surnageant. Le culot est solubilisé dans une solution de citrate disodique.

##### **• Dosage du LDL-cholestérol**

Le principe est le même que pour celui du dosage du cholestérol total.

### **II.3.3. Dosage des triglycérides**

Les triglycérides sont dosés par méthode enzymatique (Kits QUIMICA CLINICA APLICADA S. A, Espagne), sur le plasma (maternel et fœtal), ainsi que sur le l'homogénat placentaire. Les triglycérides sont dosés après hydrolyse enzymatique par des lipases en glycérol et acides gras libres. L'indicateur est une quinonéimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4- aminoantipyrine et du 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase. Le taux des triglycérides est déterminé à une longueur d'ondes de 505 nm. La concentration en quinonéimine est proportionnelle à la concentration totale en triglycérides.

### **II.3.4. Dosage des phospholipides**

Les phospholipides sont dosés par méthode enzymatique (Kits BIOMERIEUX), sur le plasma (maternel et fœtal), ainsi que sur l'homogénat placentaire. Les phospholipides sont hydrolysés par la phospholipase D. La choline libérée est oxydée en bétaine par la choline oxydase. L'indicateur est une quinonéimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminoantipyrine et du phénol, sous l'action catalytique de la peroxydase. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en phospholipides qui est mesurée à une longueur d'onde de 505 nm.

### **II.4. Détermination des teneurs en urée**

L'urée plasmatique est dosée par méthode colorimétrique (Kits PROCHIMA). En présence d'un réducteur et d'ion  $Fe^{3+}$ , l'urée réagit sur la diacétylmonoxime pour donner un complexe coloré rose. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en urée qui est mesurée à une longueur d'onde de 590 nm.

### **II.5. Détermination des teneurs en créatinine**

Le dosage de la créatinine est effectué sur le plasma des mères et de leurs nouveau-nés selon la réaction de Jaffé. Il se fait par une méthode colorimétrique avec déprotéinisation, en présence d'acide trichloroacétique ou d'acide tungstique (Kits BIOMAGHREB). La créatinine forme avec l'acide picrique en milieu alcalin un complexe coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration qui est mesurée à une longueur d'onde de 520 nm.

### **III. DETERMINATION DU STATUT OXYDANT/ANTIOXYDANT**

#### **III.1. Dosage des vitamines**

##### **III.1.1. Dosage des caroténoïdes et des vitamines A et E (ZAMAN et al., 1993)**

Le dosage des caroténoïdes ( $\alpha$ -carotène,  $\beta$ -carotène, lycopène, cryptoxanthine et lutéine), vitamine A (rétinol) et E ( $\alpha$  tocophérol) a été réalisé au laboratoire UPRS - Lipides, Nutrition et Cancer de l'université de Bourgogne (France). Ces vitamines sont analysées sur le plasma maternel et fœtal ainsi qu'au niveau du placenta par chromatographie liquide haute performance (HPLC) en phase inverse selon la méthode de ZAMAN et al. (1993). Cette méthode permet une analyse quantitative basée sur le fait que l'aire des pics chromatographiques est proportionnelle à la concentration des vitamines présente dans l'échantillon, par comparaison au pic de l'étalon interne, Tocol (Lara Spiral, Couternon, France), introduit dans l'échantillon avant l'injection dans le chromatographe.

La phase stationnaire inverse est composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 18 atomes de carbones (colonne C18; HP ODS Hypersil C18 ; 200 mm x 4,6 mm; Lara Spiral, maintenance temperature of analytical column, 35°C). La phase mobile est constituée par le mélange méthanol/eau (98/2, V/V), délivrée à un débit constant, 1ml/min grâce à une pompe (Waters 501 HPLC Pomp). Après précipitation des protéines par l'éthanol et addition de l'étalon interne, les caroténoïdes et les vitamines A et E, sont extraites de l'échantillon par l'hexane. Les dosages des caroténoïdes, des vitamines A et E sont réalisés par HPLC équipé d'un détecteur (à barrettes de diodes) à absorption UV qui permet de détecter simultanément le pic correspondant à la vitamine E à 292 nm, celui de la vitamine A à 325 nm, et celui des caroténoïdes à 450 nm. En réalité, les spectres d'absorption des différents caroténoïdes sont très proches ( $\alpha$ -carotène, 448 nm;  $\beta$ -carotène, 450 nm; lutéine, 446 nm; lycopène, 455 nm; cryptoxanthine, 452 nm). De plus, leurs temps de rétention en chromatographie sont peu variables vu leur forte hydrophobicité et leur isomérisation (STACEWICZ et al., 1987; MILNE et al., 1986). Ainsi, les pics de détection des caroténoïdes sur le chromatogramme, dans les conditions utilisées dans notre travail, ne sont pas nettement séparés et les résultats concernant les différents caroténoïdes ( $\alpha$ -carotène,  $\beta$ -carotène, lycopène, cryptoxanthine et lutéine) sont donc présentés ensemble après addition des différentes aires des pics chromatographiques qui leur correspondent (STEGHENS et al., 2000).

##### **III.1.2. Dosage de la vitamine C (JACOTA et DANI, 1982)**

La vitamine C plasmatique est dosée selon la méthode de JACOTA et DANI (1982) utilisant le réactif de Folin et une gamme d'acide ascorbique. Après précipitation des

protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (10%) et centrifugation, le réactif de Folin est ajouté au surnageant. La vitamine 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 vitamine C à une longueur d'onde de 769 nm présente dans l'échantillon. La concentration est déterminée à partir de la courbe étalon obtenue grâce à une solution d'acide ascorbique.

### **III.2. Détermination du pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC) (BLACHE et PROST, 1992)**

Le pouvoir antioxydant total du plasma, c'est à dire sa capacité à absorber les radicaux oxygènes libres (*ORAC* : Oxygen Radical Absorbance Capacity) est estimé par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse induite par les radicaux libres *in vitro* en présence du plasma selon la méthode de BLACHE et PROST (1992). Cette méthode est basée sur le suivi en fonction du temps de l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres.

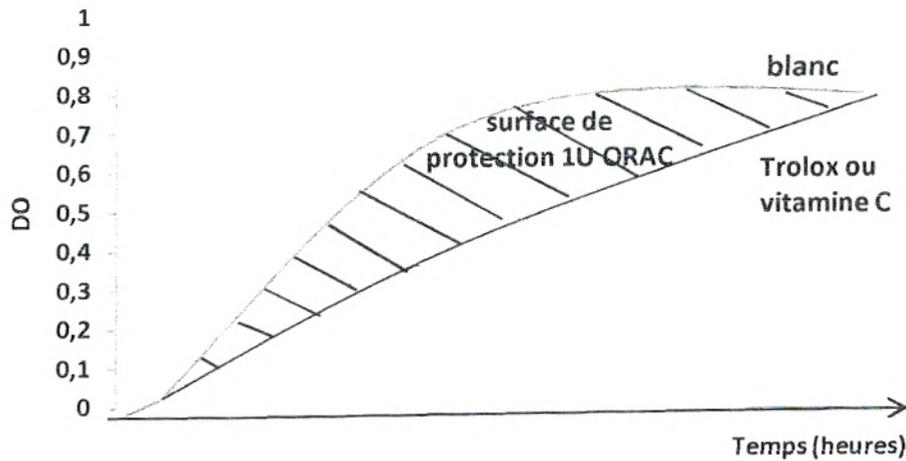
Il s'agit de soumettre une suspension d'hématies (sang d'un donneur) à une agression radicalaire dans des conditions strictement contrôlées et standardisées. Tous les systèmes enzymatiques et chimiques de l'échantillon se mobilisent pour protéger l'intégrité des cellules jusqu'à leur lyse. Ainsi l'hémolyse 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.

L'addition d'une quantité déterminée d'un antioxydant, vitamine E (Trolox) ou vitamine C (acide ascorbique) permet de neutraliser une quantité de radicaux libres dans le milieu d'incubation et permet donc la protection des globules rouges contre l'attaque des radicaux libres et l'hémolyse. La courbe de cinétique de lyse des globules rouges est donc déviée et un décalage de la courbe est observé en fonction du temps.

Le plasma contient plusieurs systèmes de défenses antioxydantes et permet ainsi la protection des globules rouges contre l'attaque radicalaire. En présence du plasma, un décalage de la courbe de la cinétique d'hémolyse des globules rouges est aussi observé. Le pouvoir antioxydant total du plasma représente donc la capacité du plasma à neutraliser les radicaux libres générés *in vitro* et donc à freiner l'hémolyse des globules rouges attaquées, donc indirectement, ralentir l'augmentation de la densité optique à 450 nm.

Afin de permettre une quantification de ce pouvoir antioxydant total, l'utilisation des antioxydants purifiés (Trolox, vitamine C) à concentrations connues permet l'étalonnage.

Ainsi une unité ORAC correspond à la surface de protection donnée par 1  $\mu\text{M}$  Trolox ou 2  $\mu\text{M}$  vitamine C (concentration finale).



L'ORAC de chaque échantillon est calculé en mesurant la surface nette de protection sous courbe cinétique de l'hémolyse. Ainsi :

$$\text{ORAC} = S_{\text{blanc}} - S_{\text{échantillon}} / S_{\text{blanc}} - S_{\text{antioxydant}}$$

Où S : aire sous la courbe cinétique de l'hémolyse

Antioxydant : Trolox (1  $\mu\text{M}$ ) ou vitamine C (2  $\mu\text{M}$ )

Il existe une autre méthode de calcul :

$$1 \text{ U ORAC} = \sum (\text{DO}_{\text{Blanc}} - \text{DO}_{\text{Etalon}}) / \text{nombre DO.}$$

$$\text{ORAC}_{\text{Echantillon}} = [\sum (\text{DO}_{\text{Blanc}} - \text{DO}_{\text{Echantillon}}) / \text{nombre DO}] / [\sum (\text{DO}_{\text{Blanc}} - \text{DO}_{\text{Etalon}}) / \text{nombre DO}] \times 1 \text{ U ORAC.}$$

NB : Les DO sont lues toutes les 5 minutes.

### III.3. Détermination du taux d'hydroperoxydes (NOUROOZ-ZADEH et al., 1996).

Les hydroperoxydes plasmatiques, érythrocytaires et placentaires, marqueurs de l'oxydation des lipides, sont mesurés par l'oxydation d'ions ferriques utilisant le xylénol orange en conjugaison avec le ROOH réducteur spécifique de la triphénylphosphine (TPP), selon la méthode de NOUROOZ-ZADEH et al. (1996). Cette méthode est basée sur une peroxydation rapide transformant le  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$  en milieu acide. Les ions  $\text{Fe}^{3+}$  en présence du xylénol orange [(O-cresolsulfonphthalein-3',3''-bis (methyliminodiacetic acid sodium)), forment un complexe  $\text{Fe}^{3+}$ -xylénol orange. Le taux d'hydroperoxydes plasmatiques,

érythrocytaires et placentaire correspond à la différence entre l'absorbance du plasma et l'absorbance du blanc. La lecture se fait à 560 nm. Le taux des HP est calculé en utilisant le coefficient d'extinction ( $\epsilon = 4.4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$  à 560 nm).

#### **III.4. Détermination des protéines carbonylées (LEVINE et al., 1990)**

Les protéines carbonylées du plasma, du lysat érythrocytaire ou placentaire (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4- dinitrophénylhydrazine selon la méthode de LEVINE et al. (1990). La réaction aboutit à la formation de la dinitrophényl hydrazone colorée.

Les concentrations des groupements carbonylés sont déterminées par lectures à 350 et 375 nm et calculées selon un coefficient d'extinction ( $\epsilon = 21,5 \text{ (mmol/l)} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

#### **III.5. Détermination du malondialdéhyde (NOUROOZ-ZADEH et al., 1996)**

Le malondialdéhyde (MDA) plasmatique, érythrocytaire et placentaire est mesuré selon la méthode de NOUROOZ-ZADEH et al. (1996). Il représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ( $\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$  à 532 nm).

#### **III.6. Oxydation in vitro des lipoprotéines et détermination des diènes conjugués (ESTERBAUER et al., 1989)**

L'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques, induite par les métaux (cuivre), est déterminée par le suivi au cours du temps de la formation des diènes conjugués selon la méthode d'ESTERBAUER et al., (1989). La formation des diènes conjugués résulte du réarrangement des doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) suite à l'abstraction radicalaire d'un hydrogène malonique.

Les diènes conjugués sont estimés en utilisant le coefficient d'extinction ( $\epsilon=29,50 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) à 234 nm. Les variations de l'absorbance des diènes conjugués (DO) en fonction du temps, permettent de déterminer trois phases consécutives :

- Phase de latence,
- Phase de propagation,
- Phase de décomposition.

A partir de la courbe cinétique, plusieurs marqueurs de l'oxydation *in vitro* des lipoprotéines plasmatiques sont déterminés :

- T lag (minutes): se calcule sur la courbe cinétique, en projetant la  $DO_{t(0)}$  sur la pente, puis sur l'axe des X,
- Taux initial des diènes conjugués ( $\mu\text{mol/l}$ ),
- Taux maximum des diènes conjugués ( $\mu\text{mol/l}$ ),
- T max (minutes): il s'agit du temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale, il se calcule sur la courbe en projetant  $DO_{\text{max}}$  sur la pente, puis sur l'axe des X.

### **III.7. Détermination de l'activité enzymatique antioxydante de la catalase**

**(CAT ; EC 1.11.1.6) (AEBI, 1974).**

Le taux de l'activité de la catalase est mesuré au niveau du plasma, du lysat érythrocytaire et du lysat placentaire. Cette activité enzymatique est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène selon la méthode d'AEBI (1974). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient la source enzymatique (plasma ou lysat), le  $\text{H}_2\text{O}_2$ , et le tampon phosphate (50 mmol/l, pH 7,0). Après incubation de 5 min, le réactif Titanium oxyde sulfate ( $\text{TiOSO}_4$ ) est ajouté. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du  $\text{H}_2\text{O}_2$  restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l.

Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$$A = \log A_1 - \log A_2.$$

A1 est la concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de départ

A2 est la concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$  après incubation (au bout de 5 min)

L'activité spécifique est exprimée en U/min/ml de sérum ou du lysat érythrocytaire et en U/min/g de placenta.

### **IV. ANALYSE STATISTIQUE**

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre témoins et obèses est réalisée par le test « t » de *Student* pour les différents paramètres. Les différences sont considérées significatives à

\*  $P < 0,05$  et hautement significatives à \*\*  $P < 0,001$ .

Dans chaque groupe (témoin ou obèse), des corrélations entre les différents paramètres au niveau des mères, des placentas et des nouveau-nés sont déterminées afin d'analyser les interrelations au sein de l'unité mère-placenta-fœtus.

Tous les calculs sont réalisés grâce à un logiciel STATISTICA, version 4.1 (STATSOFT, TULSA, OK).

## **I. Caractéristiques et variables socio-économiques de la population étudiée (Tableaux II et III)**

L'analyse des caractéristiques de la population étudiée montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les tranches d'âge des mères témoins et obèses. En revanche, l'Indice de masse corporelle (IMC) montre une différence hautement significative entre les deux groupes. L'ensemble des mères témoins et obèses ne présentent ni pathologies associées, ni antécédents pathologiques. Toutes les mères ont eu une grossesse à terme et ont accouché dans la majorité des cas par voie basse (Tableau II).

L'âge gestationnel des femmes des deux groupes se situe entre 37 et 39 semaines et leur tension artérielle est tout à fait normale. Concernant le nombre de gestations et de parités, aucune différence significative n'est à noter entre les mères obèses et les mères témoins. On note cependant, plus d'accouchements par voie chirurgicale chez les femmes enceintes obèses (25.03 %) par rapport aux témoins (6.25 %) (Tableau II).

Chez les mères obèses, le questionnaire a révélé un pourcentage important (66.67 %) d'antécédents familiaux (obésité, hypertension artérielle et diabète non insulino-dépendant) comparé à celui des mères témoins (12.5 % de cas d'hypertension artérielle et de diabète non insulino-dépendant). 16.67 % des mères obèses possèdent un antécédent familial d'obésité contre aucune mère témoin (Tableau II).

La prise des contraceptifs oraux à long terme (plus de 5 ans) est moins marquée chez les mères témoins (12.5 %) que chez les obèses (33.33 %) (Tableau II).

Dans notre population, les femmes obèses présentent une obésité ancienne de plus de 5 ans dans la majorité des cas (75 %) (Tableau II).

Pour ce qui est du profil des nouveau-nés, aucune différence significative n'est notée concernant le poids de naissance du groupe obèse comparé au groupe témoin (Tableau II).

L'analyse des variables socio-économiques montre que le niveau d'instruction des mères ainsi que le revenu global de la famille sont relativement similaires dans les deux groupes obèses et témoins (Tableau III).

**Tableau II: Caractéristiques de la population étudiée.**

Paramètres	Mères témoins	Mères obèses
<b>1. PROFIL DES MERES</b>		
Nombre	50	40
Age (ans)	29 ± 5.25	31.31 ± 5.91
Indice de masse corporelle (kg/m <sup>2</sup> )	22.61 ± 2.13	33.17 ± 3.40***
Tension artérielle haute (cm Hg)	11.56 ± 1.03	11.94 ± 0.77
Tension artérielle basse (cm Hg)	7.62 ± 1.02	7.69 ± 0.95
Accouchement		
• voie basse	93.75 %	74.97 %
• voie chirurgicale (césarienne)	6.25 %	25.03 %
Age gestationnel (semaines)	38 ± 1	38 ± 1
Nombre gestations	2.81 ± 1.33	3.56 ± 2.00
Nombre parités	2.69 ± 1.30	3.12 ± 1.63
Activité physique (min/j)	25.31 ± 9.74	33.73 ± 10.17
Ancienneté de l'obésité		
• < 5 ans	/	25 %
• > 5 ans	/	75 %
Pathologies associées	1 cas d'allergie	1 cas d'asthme
Antécédents pathologiques	/	1 cas RAA
Antécédents familiaux	12.50 %	66.67 %
• Obésité	/	16.67 %
• Hypertension artérielle	6.25 %	33.33 %
• Diabète non insulino-dépendant	6.25 %	16.67 %
Contraceptifs oraux	43.75 %	66.66 %
• < 5 ans	31.25 %	33.33 %
• > 5 ans	12.5 %	33.33 %
<b>2. PROFIL DES NOUVEAU-NES</b>		
• Nombre	50	40
• Poids de naissance (kg)	3.47 ± 0.41	3.67 ± 0.35
• Sexe masculin/ féminin	28 / 22	23 / 17

RAA : Rhumatisme articulaire aigu.

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type ou le pourcentage obtenu à partir de la population étudiée. La comparaison des moyennes entre témoins et obèses est effectuée par le test « t » de Student.

\*\*\* P < 0.01.

**Tableau III : Variables socio-économiques.**

<b>Paramètres</b>	<b>Mères témoins</b>	<b>Mères obèses</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Niveau d'instruction</b></li> </ul>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Analphabète</b></li> </ul>	18.75 %	16.67 %
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Primaire</b></li> </ul>	18.75 %	16.67 %
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Moyen</b></li> </ul>	18.75 %	25 %
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Secondaire</b></li> </ul>	31.25 %	33.33 %
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Supérieur</b></li> </ul>	12.5 %	8.33 %
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Revenu global de la famille</b></li> </ul>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Faible</b></li> </ul>	43.75 %	33.33 %
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Moyen</b></li> </ul>	43.75 %	58.33 %
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Elevé</b></li> </ul>	12.5 %	8.33

Chaque valeur représente le pourcentage obtenu à partir de la population étudiée.

## **II. PARAMETRES BIOCHIMIQUES CHEZ LES MERES ET LES NOUVEAU-NES**

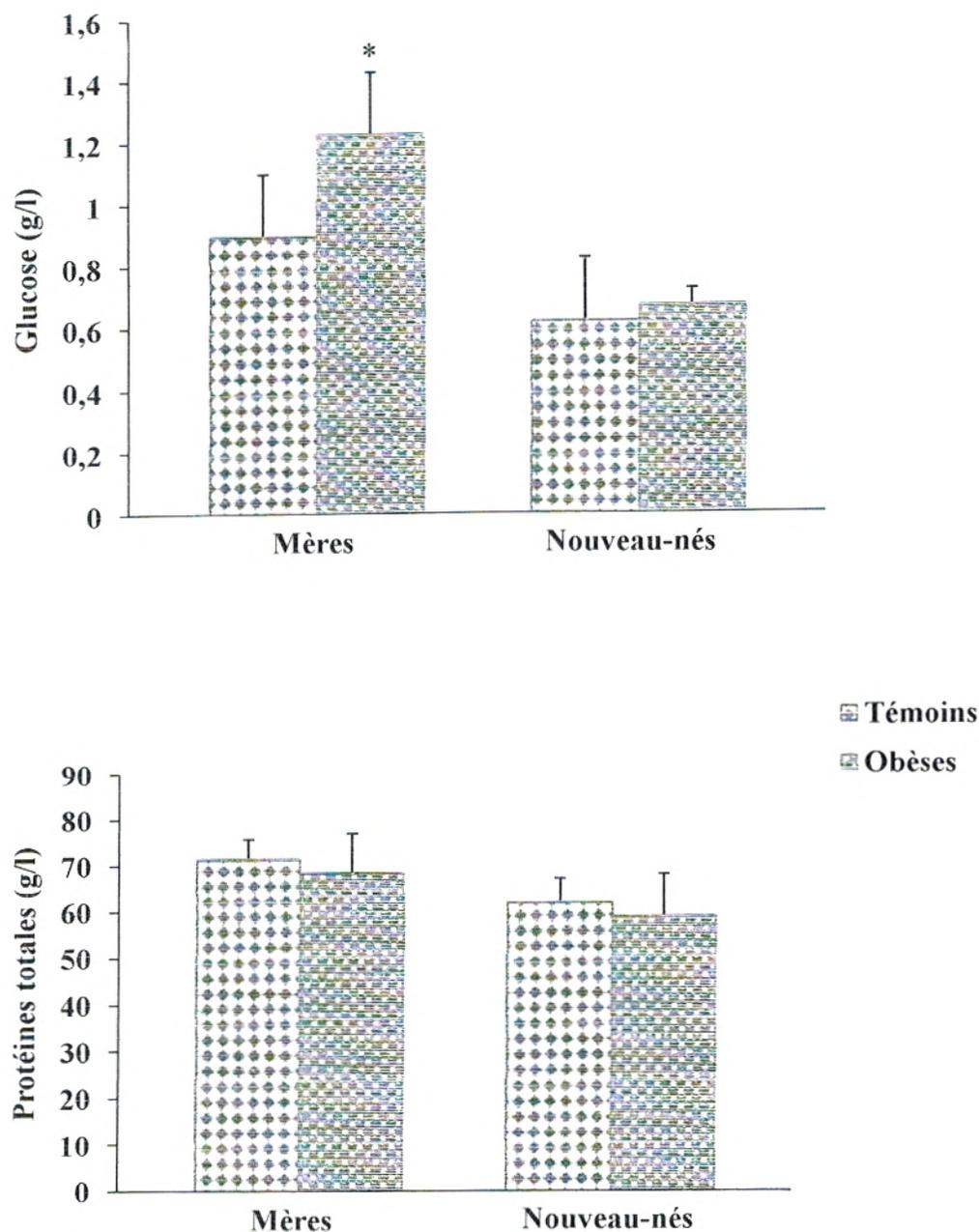
### **II.1. Teneurs plasmatiques en glucose, protéines totales, urée et créatinine chez les mères et leurs nouveau-nés (Figures 4 et 5 et Tableau A1 en annexe).**

Chez les mères obèses, on note une augmentation significative des taux plasmatiques en glucose par rapport aux valeurs des mères témoins (Figure 4). Par contre, on ne remarque aucune variation concernant les teneurs plasmatiques en protéines totales, urée et créatinine chez les mères obèses comparées aux mères témoins (Figures 4 et 5).

Chez les nouveau-nés du groupe obèse, les teneurs plasmatiques en glucose, protéines totales, urée et créatinine sont similaires à celles des nouveau-nés témoins.

### **II.2. Teneurs plasmatiques en cholestérol, LDL-cholestérol, triglycérides et phospholipides chez les mères et leurs nouveau-nés (Figures 6 et 7 et Tableau A2 en annexe).**

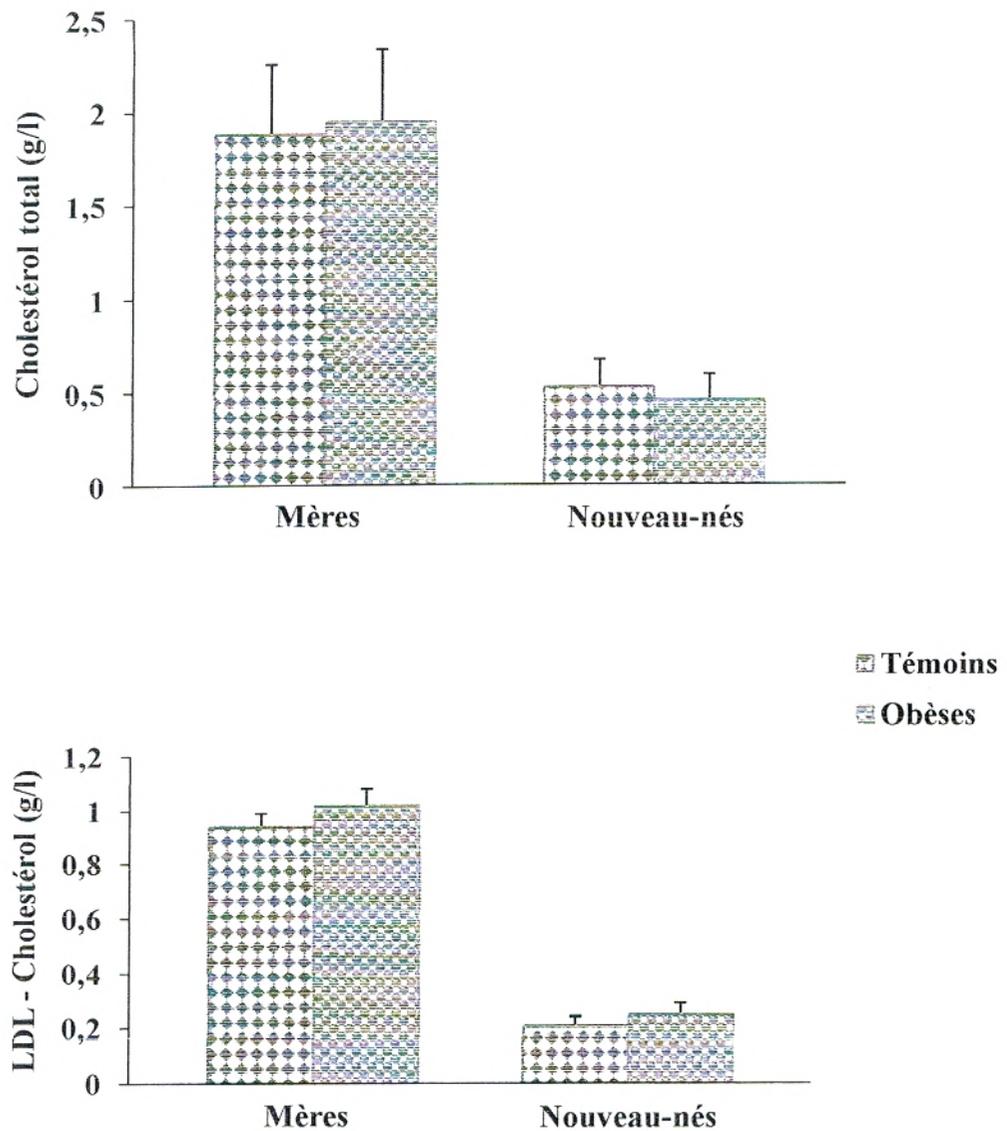
Les teneurs plasmatiques en cholestérol, LDL-cholestérol, et phospholipides ne montrent aucune différence significative chez le groupe obèse (mères et leurs nouveau-nés) comparé au groupe témoin (mères et nouveau-nés). En revanche, une augmentation significative en triglycérides est notée chez les mères obèses comparées aux mères témoins ; cette variation ne concerne pas les nouveau-nés.



**Figure 4 : Teneurs plasmatiques en glucose et protéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

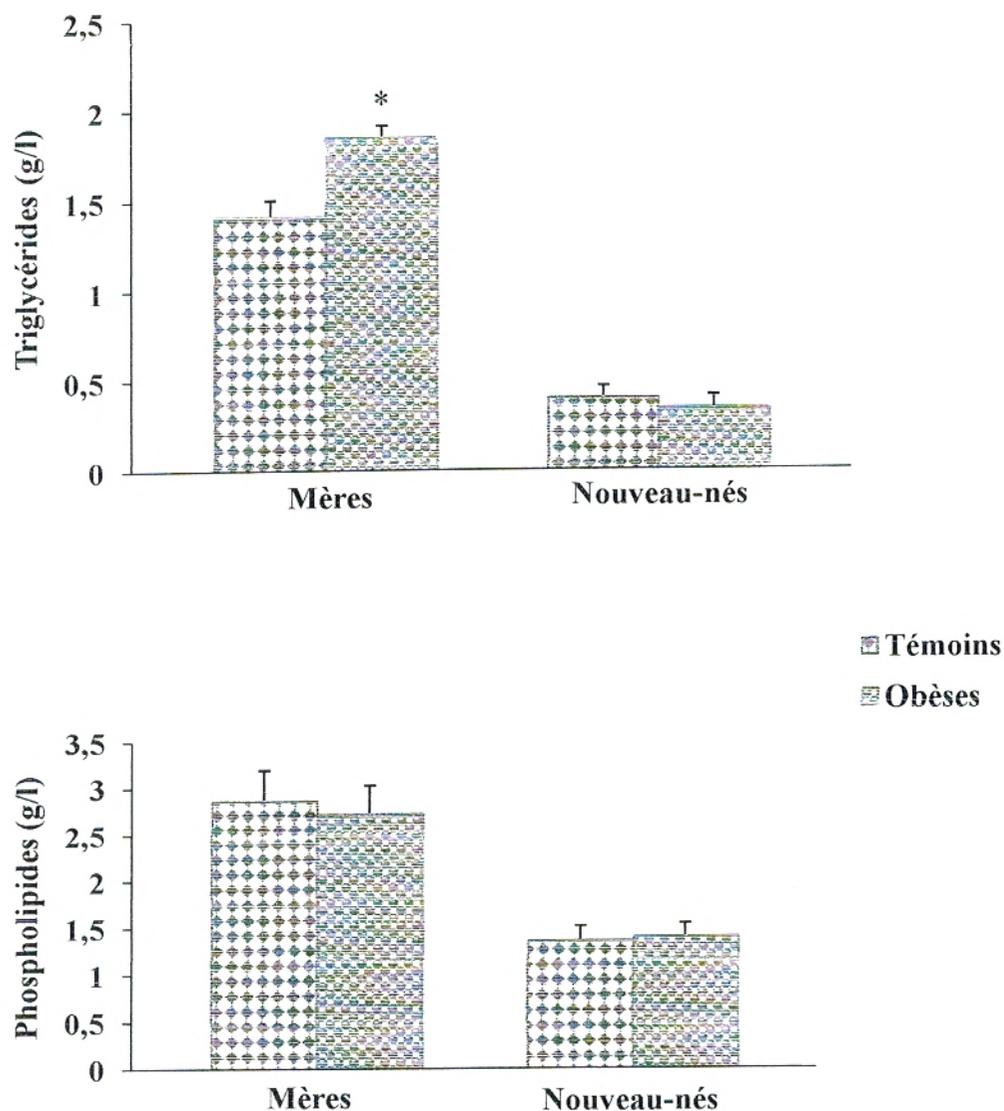
\* ( $P < 0.05$ ) Différence significative entre témoins et obèses.



**Figure 6 : Teneurs plasmatiques en cholestérol total et en LDL-cholestérol chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

Aucune différence significative n'est observée entre les deux groupes.



**Figure 7 : Teneurs plasmatiques en triglycérides et en phospholipides chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

\* ( $P < 0.05$ ) Différence significative entre témoins et obèses.

### **III. STATUT OXYDANT / ANTIOXYDANT CHEZ LES MÈRES ET LES NOUVEAU-NÉS**

#### **III.1. Teneurs plasmatiques en vitamine A, C, E et caroténoïdes chez les mères et leurs nouveau-nés (Figures 8 et 9 et Tableau A3 en annexe).**

Une diminution hautement significative en vitamine C est notée chez les mères obèses comparées aux mères témoins. Cependant, chez les nouveau-nés, les teneurs plasmatiques en vitamine C sont similaires à celles des nouveau-nés témoins (Figure 8).

Chez les mères obèses, les taux plasmatiques en vitamine E sont diminués significativement par rapport aux valeurs des mères témoins, contrairement à leurs nouveau-nés qui présentent des taux normaux (Figure 8).

Les taux plasmatiques en vitamine A montrent une augmentation significative chez les mères obèses et hautement significative chez leurs nouveau-nés comparés à leurs témoins respectifs.

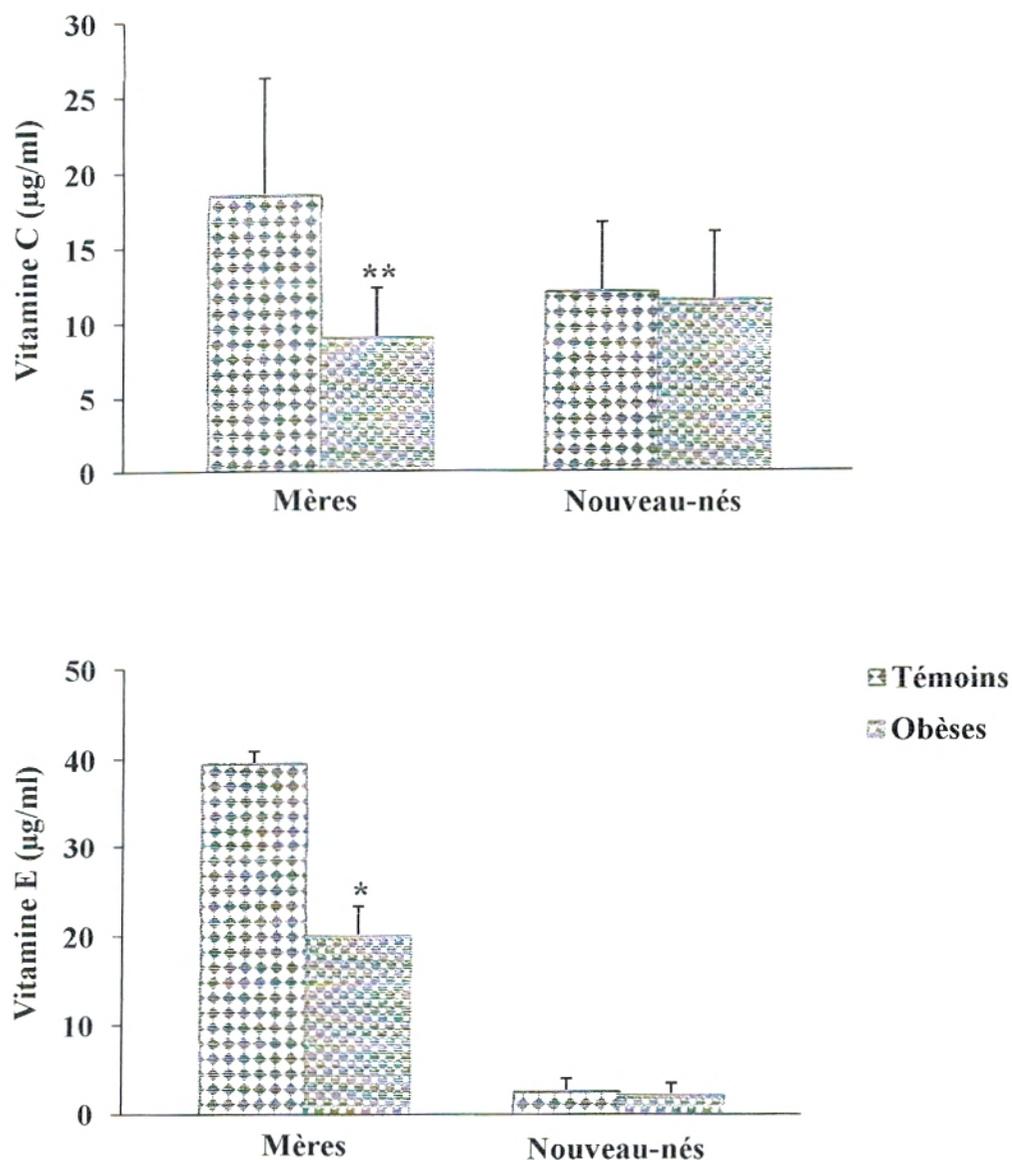
Une augmentation hautement significative en caroténoïdes est notée chez les mères obèses comparées aux mères témoins. Cette augmentation est aussi très significative chez les nouveau-nés du groupe obèse comparés aux nouveau-nés témoins (Figure 9).

#### **III.2. Pouvoir antioxydant total (ORAC) et activité antioxydante de la catalase plasmatique et érythrocytaire chez les mères et leurs nouveau-nés (Figure 10 et Tableau A4 en annexe).**

La capacité du plasma à absorber les radicaux libres (ORAC) représentant le pouvoir antioxydant total est similaire chez les mères obèses comparées aux mères témoins.

L'ORAC ne présente pas de variations significatives entre les deux groupes de nouveau-nés étudiés.

Les mères obèses présentent des activités de la catalase plasmatique et érythrocytaire similaires à celles des mères témoins. De la même façon, ces activités de la catalase ne varient pas significativement entre les deux groupes de nouveau-nés.

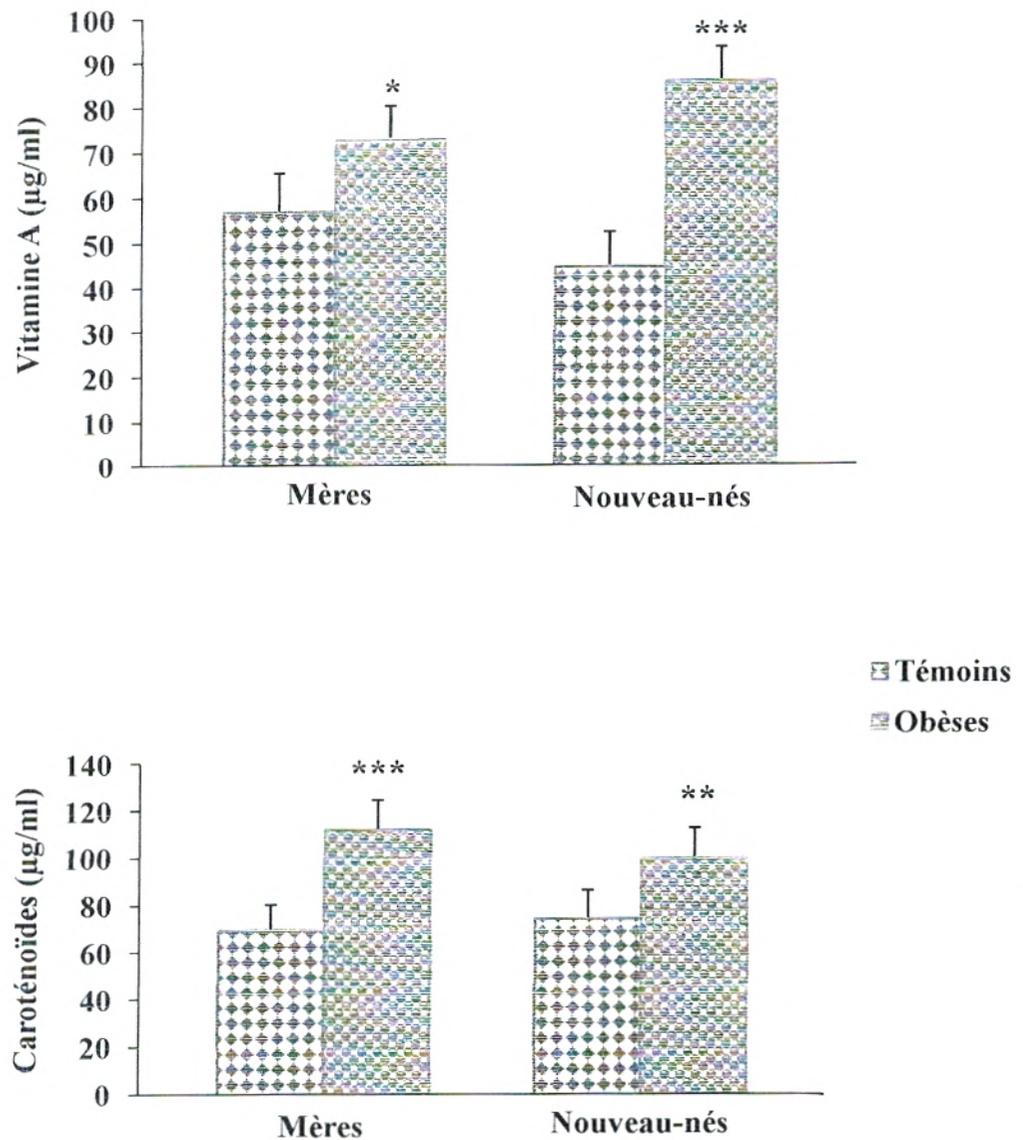


**Figure 8 : Teneurs plasmatiques en vitamine C et E chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

\*( $P < 0.05$ ) Différence significative entre témoins et obèses.

\*\*( $P < 0.01$ ) Différence très significative entre témoins et obèses.



**Figure 9 : Teneurs plasmatiques en vitamine A et en caroténoïdes chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

\*( $P < 0.05$ ) Différence significative entre témoins et obèses.

\*\*( $P < 0.01$ ) Différence très significative entre témoins et obèses.

\*\*\*( $P < 0.001$ ) Différence hautement significative entre témoins et obèses.

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

### **III.3. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde, en hydroperoxydes et en protéines carbonylées chez les mères et leurs nouveau-nés (Figures 11, 12 et 13 et Tableau A5 en annexe).**

Chez les mères obèses, aucune différence significative n'est notée concernant les taux en malondialdéhyde et en protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires comparés aux valeurs témoins. Chez leurs nouveau-nés, ces paramètres sont aussi semblables à ceux des nouveau-nés témoins.

En revanche, les taux plasmatiques en hydroperoxydes sont augmentés significativement chez les mères obèses et chez leurs nouveau-nés par rapport à leurs témoins respectifs. Les hydroperoxydes érythrocytaires sont aussi significativement élevés chez les nouveau-nés de mères obèses comparés aux témoins. Leur augmentation est hautement significative chez les mères obèses comparées aux mères témoins.

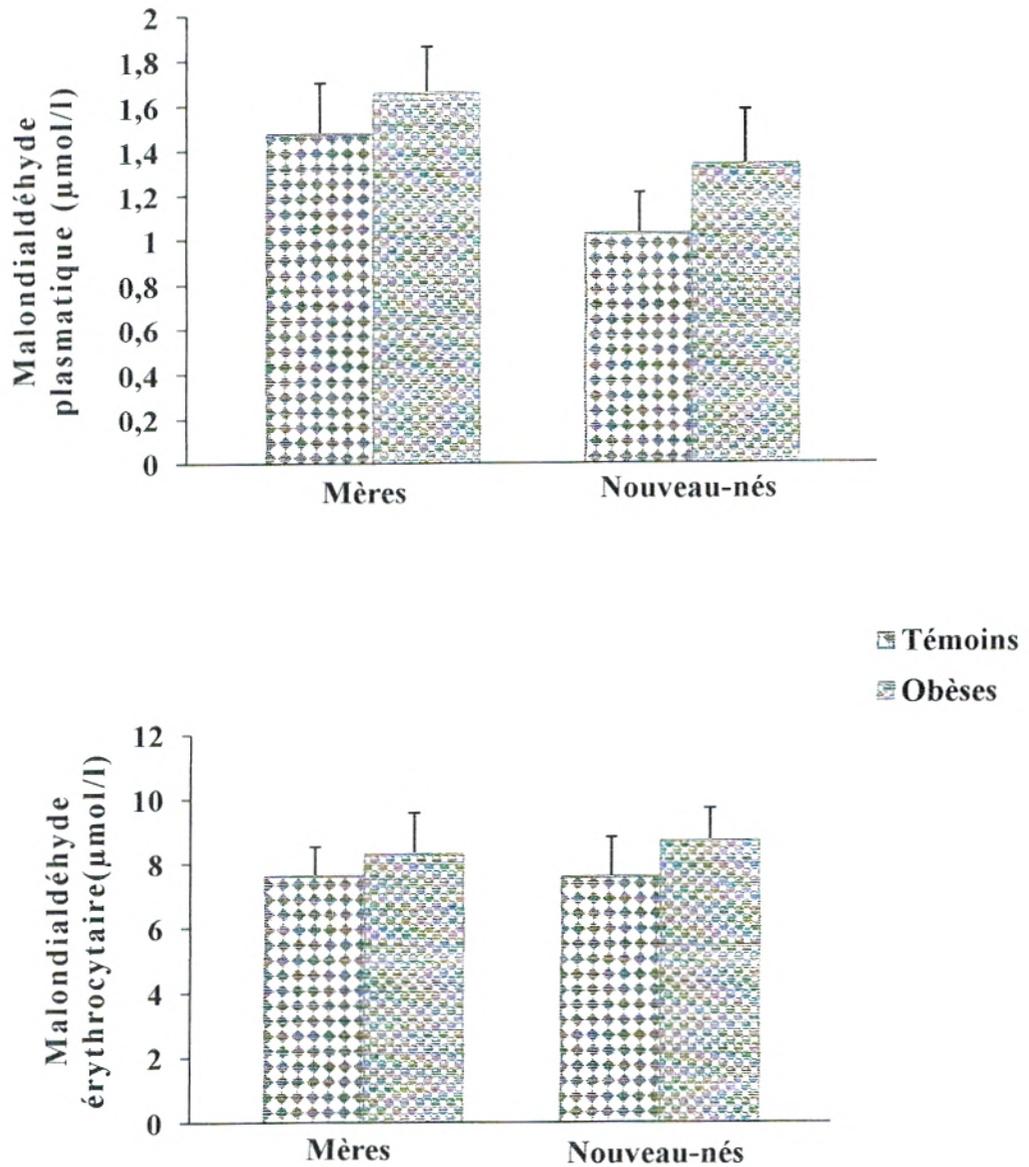
### **III.4. Oxydation *in vitro* des lipoprotéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés (Figures 14 et 15 et Tableau A6 en annexe).**

Aucune variation significative n'est notée dans les taux plasmatiques initiaux des diènes conjugués chez les mères obèses et chez leurs nouveau-nés comparés à leurs témoins respectifs.

Après oxydation *in vitro* des lipoprotéines plasmatiques par le  $\text{CuSO}_4$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$  (générateurs de radicaux libres), leurs teneurs en diènes conjugués augmentent dans le milieu d'incubation chez tous les groupes étudiés. Les teneurs maximales en diènes conjugués sont semblables chez les mères obèses et témoins, et chez leurs nouveau-nés respectifs (Figure 14).

La phase Lag représente la phase précédant l'induction de l'oxydation des lipoprotéines *in vitro*, et donc reflète la protection que possède le sérum pour résister aux attaques radicalaires. Cette phase Lag est significativement diminuée chez les mères obèses comparées aux mères témoins. Cette diminution est aussi observée chez les nouveau-nés de mères obèses comparés aux nouveau-nés témoins (Figure 15).

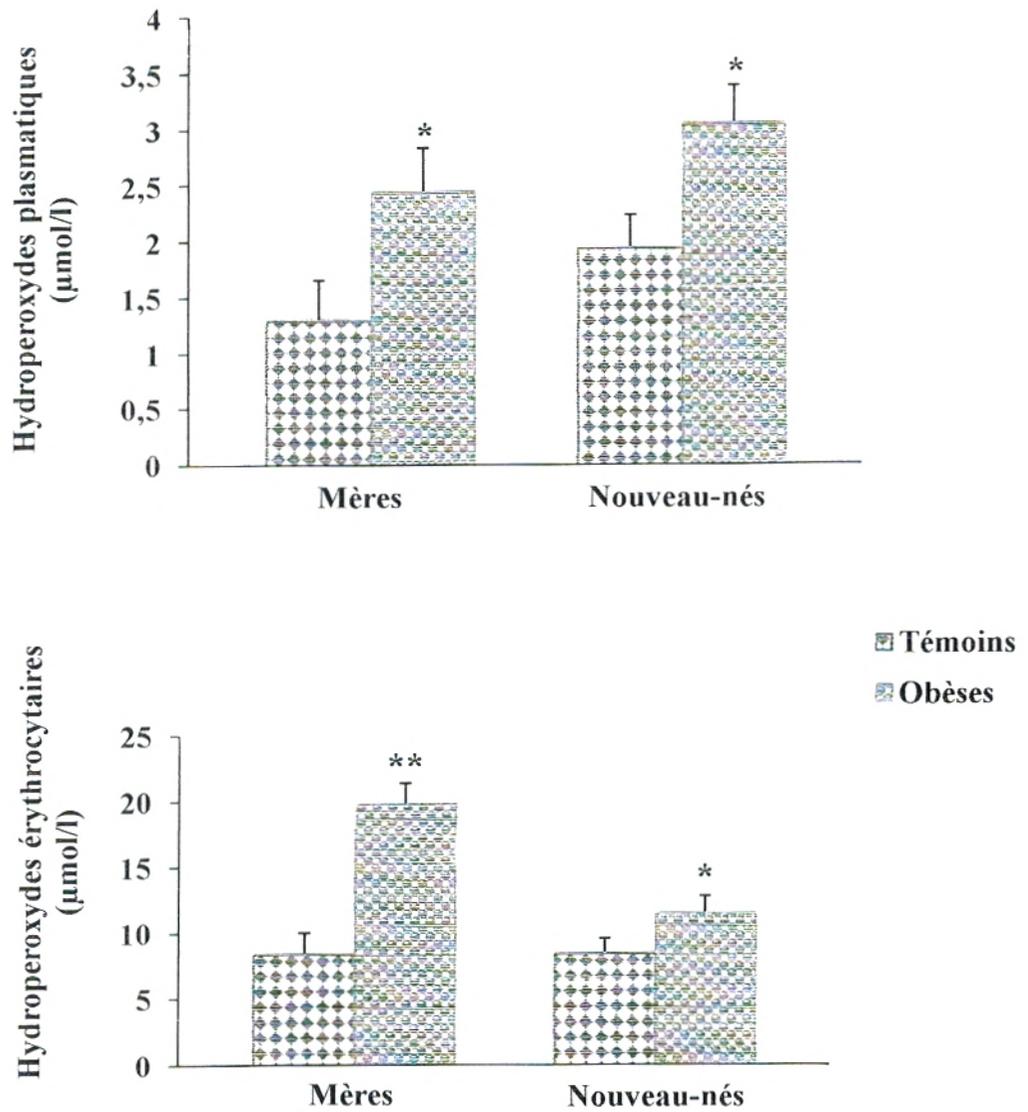
De plus, le temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale des lipoprotéines *in vitro* ( $T_{\text{max}}$ ) est diminué significativement chez les mères obèses ainsi que chez leurs nouveau-nés comparés à leurs témoins respectifs.



**Figure 11 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

Aucune différence significative n'est observée entre les deux groupes.

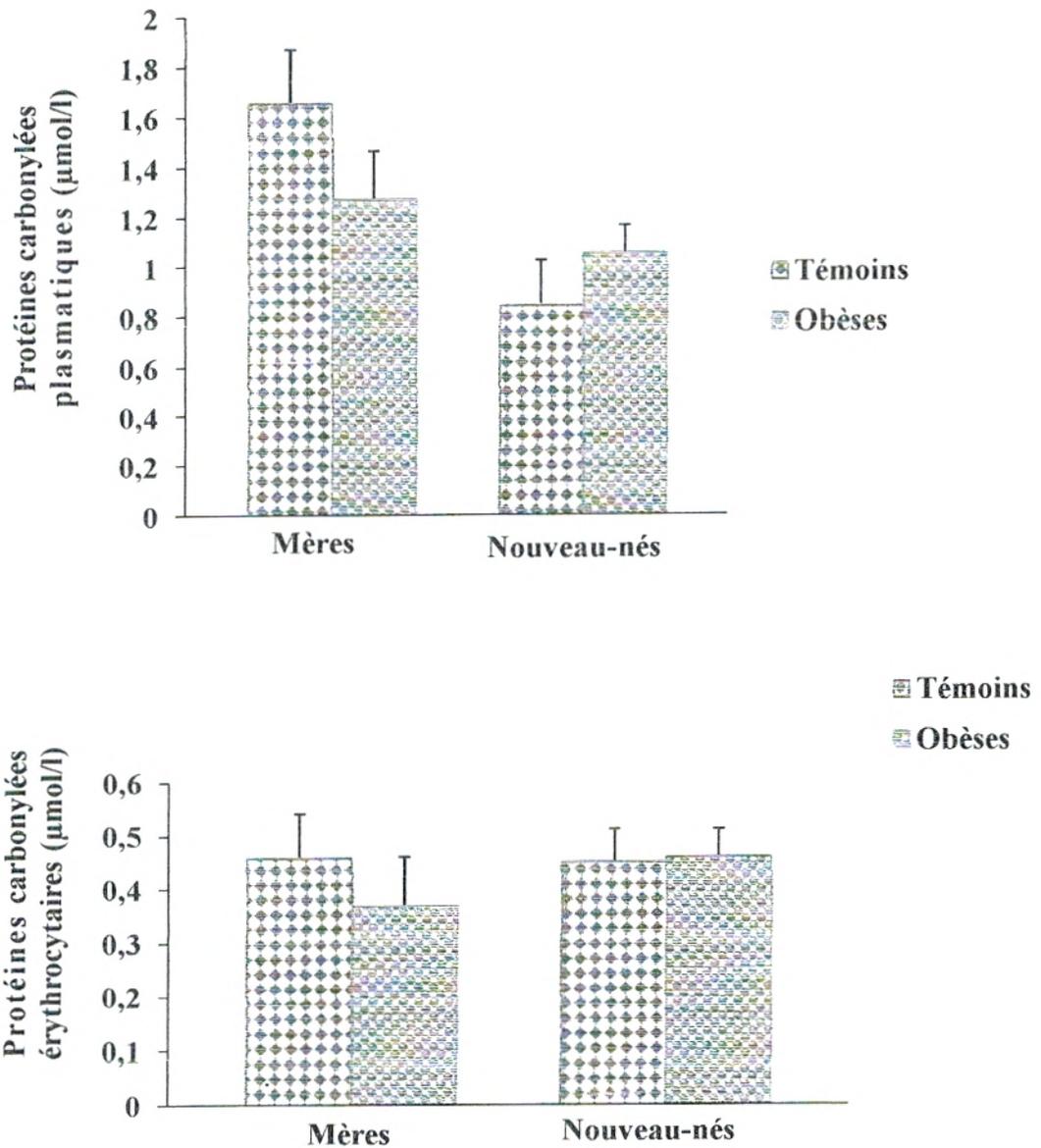


**Figure 12 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en hydroperoxydes chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

\*( $P < 0.05$ ) Différence significative entre témoins et obèses.

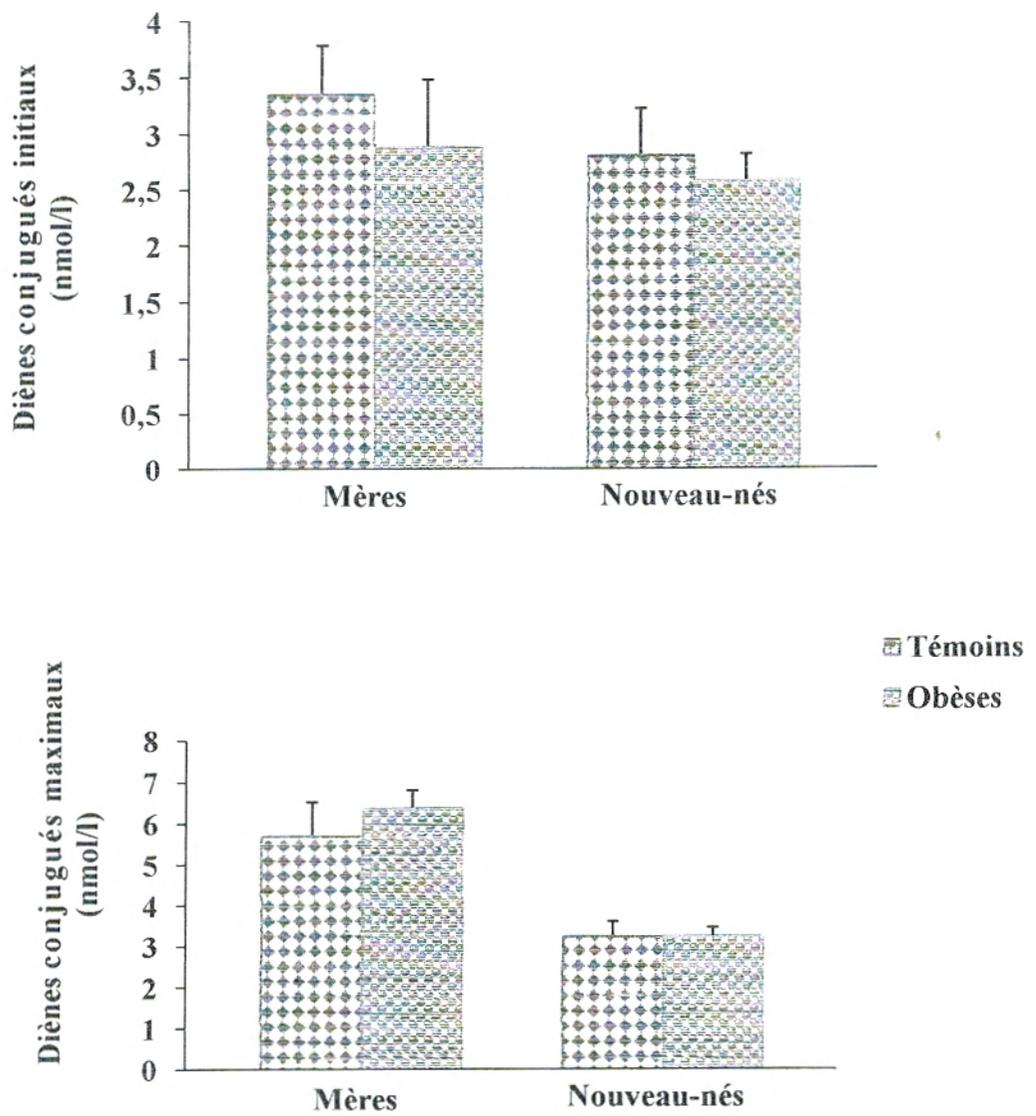
\*\*( $P < 0.01$ ) Différence très significative entre témoins et obèses.



**Figure 13 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en protéines carbonylées chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

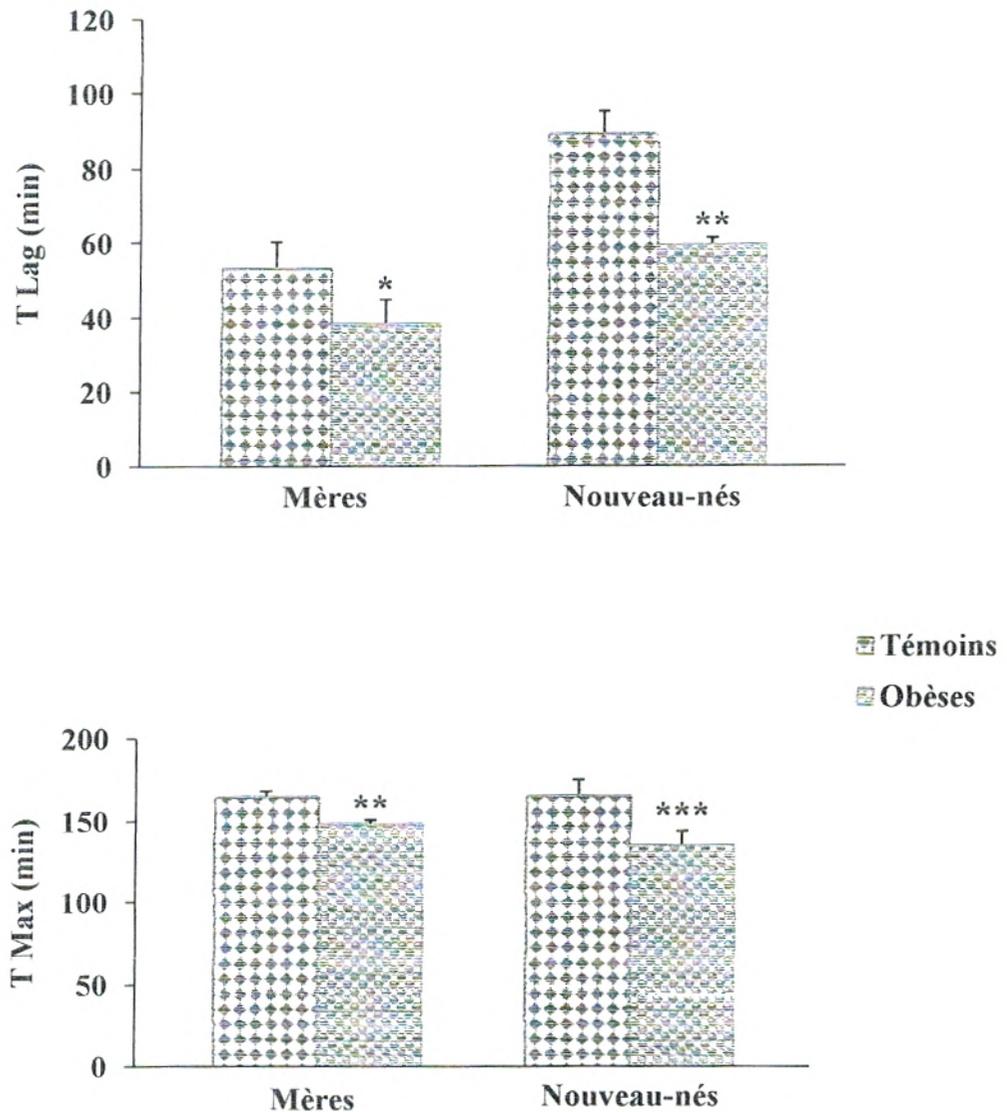
Aucune différence n'est observée entre les deux groupes.



**Figure 14 : Oxydation *in vitro* des lipoprotéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés (Taux des diènes conjugués initiaux et maximaux).**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test « t » de Student après analyse de variance.

Aucune différence n'est observée entre les deux groupes.



**Figure 15 : Oxydation *in vitro* des lipoprotéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés (T Lag et T Max).**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type.

T Lag = phase précédant l'induction de l'oxydation des lipoprotéines *in vitro*;

Tmax = temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale des lipoprotéines *in vitro*. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test t de Student après analyse de variance.

\*( $P < 0.05$ ) Différence significative entre témoins et obèses.

\*\*( $P < 0.01$ ) Différence très significative entre témoins et obèses.

\*\*\*( $P < 0.001$ ) Différence hautement significative entre témoins et obèses.

#### **IV. PARAMETRES BIOCHIMIQUES ET STATUT OXYDANT/ANTIOXYDANT DU PLACENTA**

##### **IV.1. Teneurs en protéines totales et en lipides du placenta (Figures 16 et 17 et Tableau A7 en annexe).**

Chez les mères obèses, les teneurs placentaires en protéines totales sont très significativement augmentées, alors que celles en cholestérol total sont significativement diminuées par rapport aux valeurs obtenues chez les mères témoins (Figure 16).

De plus, une augmentation significative des teneurs placentaires en triglycérides est aussi observée chez les mères obèses versus mères témoins.

Les teneurs en phospholipides placentaires ne varient pas significativement entre les deux groupes étudiés.

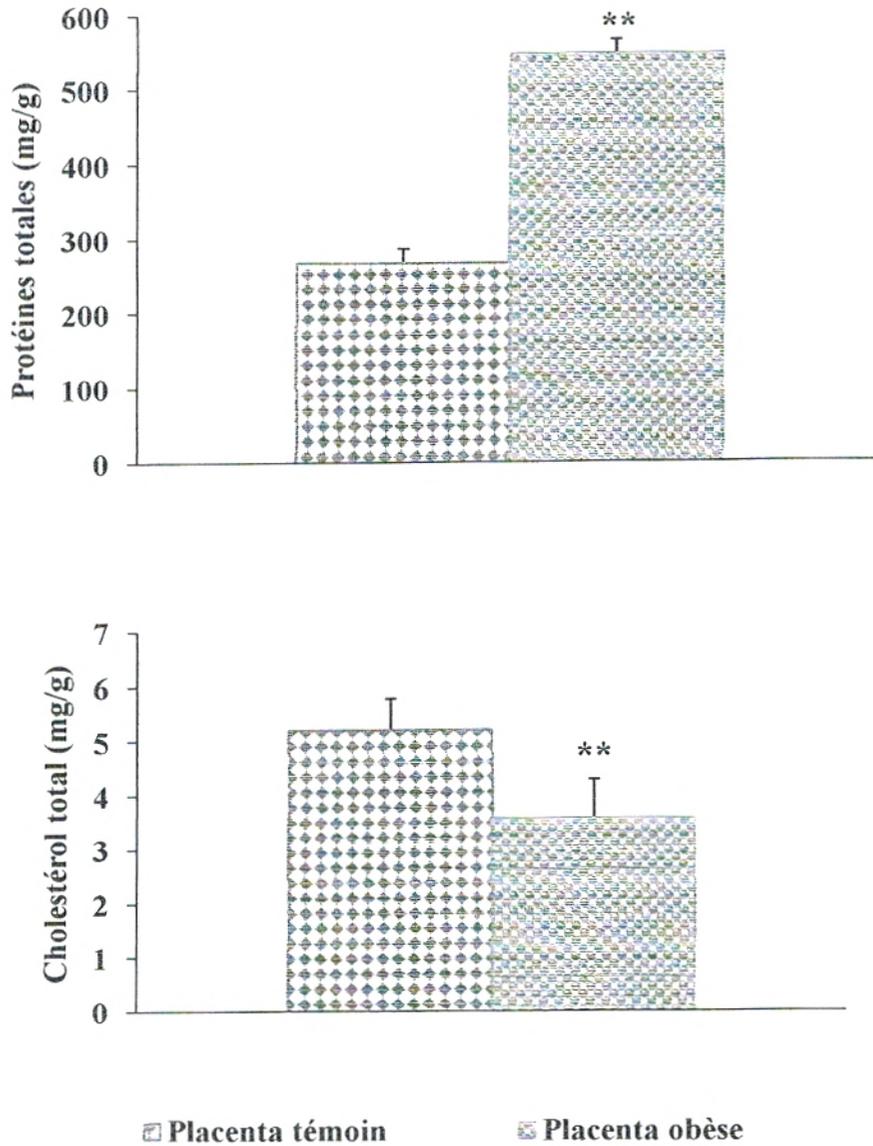
##### **IV.2. Teneurs en vitamines A, C, E et caroténoïdes du placenta (Figures 18 et 19 et Tableau A8 en annexe).**

Au niveau du placenta des mères obèses, les teneurs en vitamine A, C, et E sont significativement diminuées par rapport aux valeurs obtenues au niveau du placenta des mères témoins. Les teneurs placentaires en caroténoïdes ne montrent aucune différence significative entre les deux groupes.

##### **IV.3. Teneurs en malondialdéhyde, hydroperoxydes, protéines carbonylées et activité antioxydante de la catalase du placenta (Figures 20 et 21 et Tableau A8 en annexe).**

Le placenta des mères obèses montre des teneurs significativement élevées en malondialdéhyde et en hydroperoxydes comparées aux teneurs placentaires des mères témoins. L'augmentation des teneurs en protéines carbonylées placentaires est hautement significative chez les mères obèses par rapport aux mères témoins.

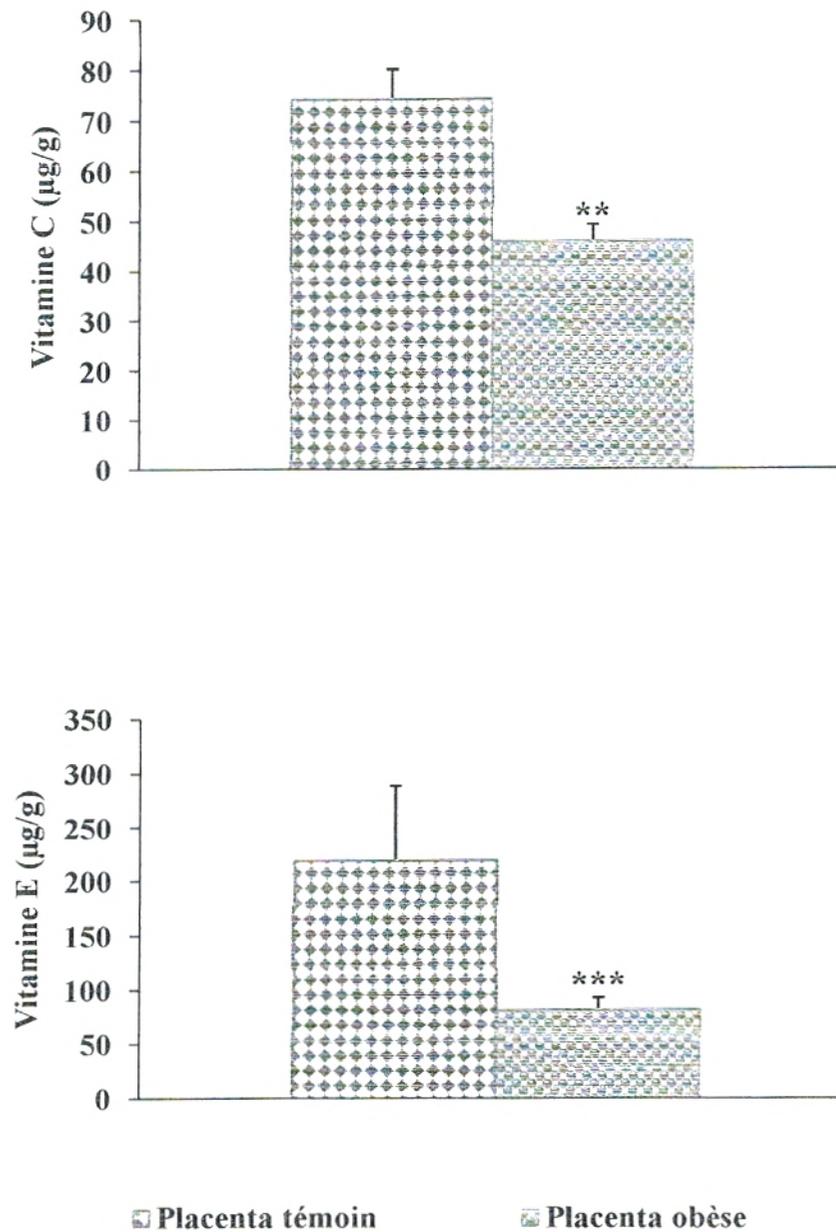
Aucune différence n'est notée concernant l'activité antioxydante de la catalase au niveau du placenta entre les deux groupes.



**Figure 16 : Teneurs en protéines totales et en cholestérol du placenta.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test t de Student après analyse de variance.

\*\*( $P < 0.01$ ) Différence très significative entre témoins et obèses.

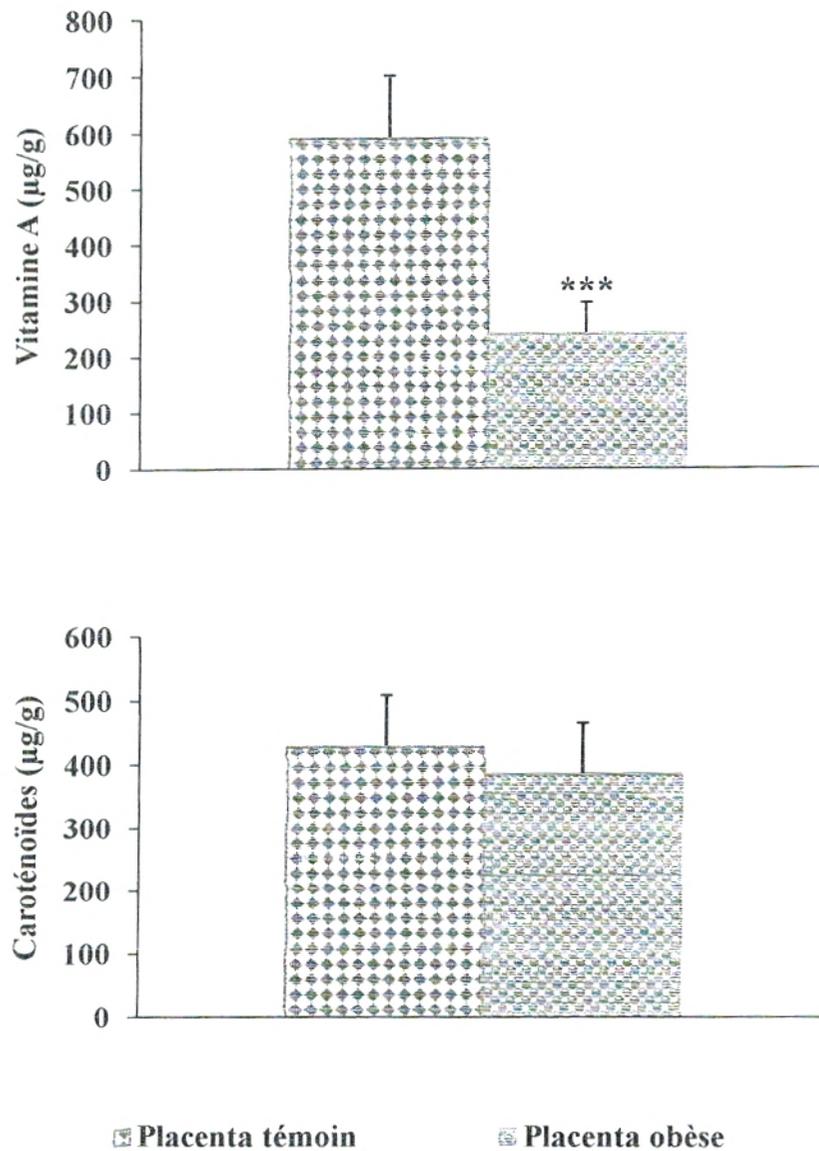


**Figure 18: Teneurs en vitamines C et E du placenta.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test t de Student après analyse de variance.

\*\* (P < 0.01) Différence très significative entre témoins et obèses.

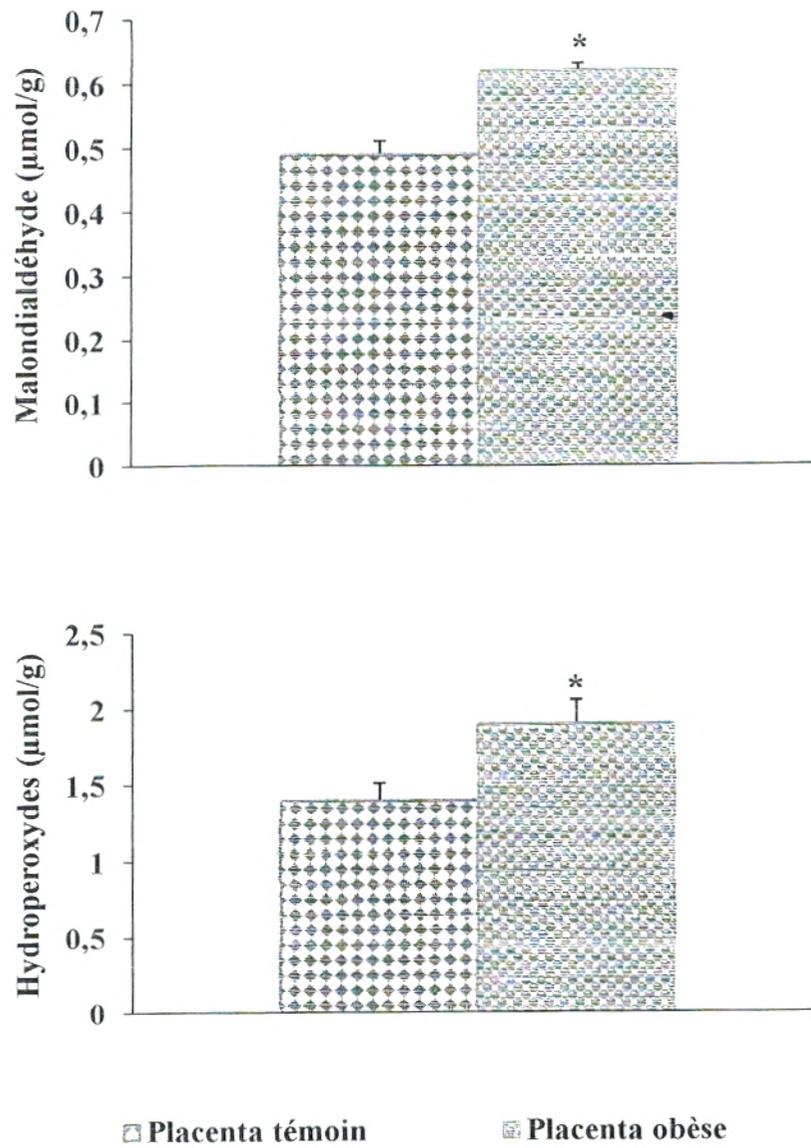
\*\*\* (P < 0.001) Différence hautement significative entre témoins et obèses.



**Figure 19: Teneurs en vitamines A et en caroténoïdes du placenta.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test t de Student après analyse de variance.

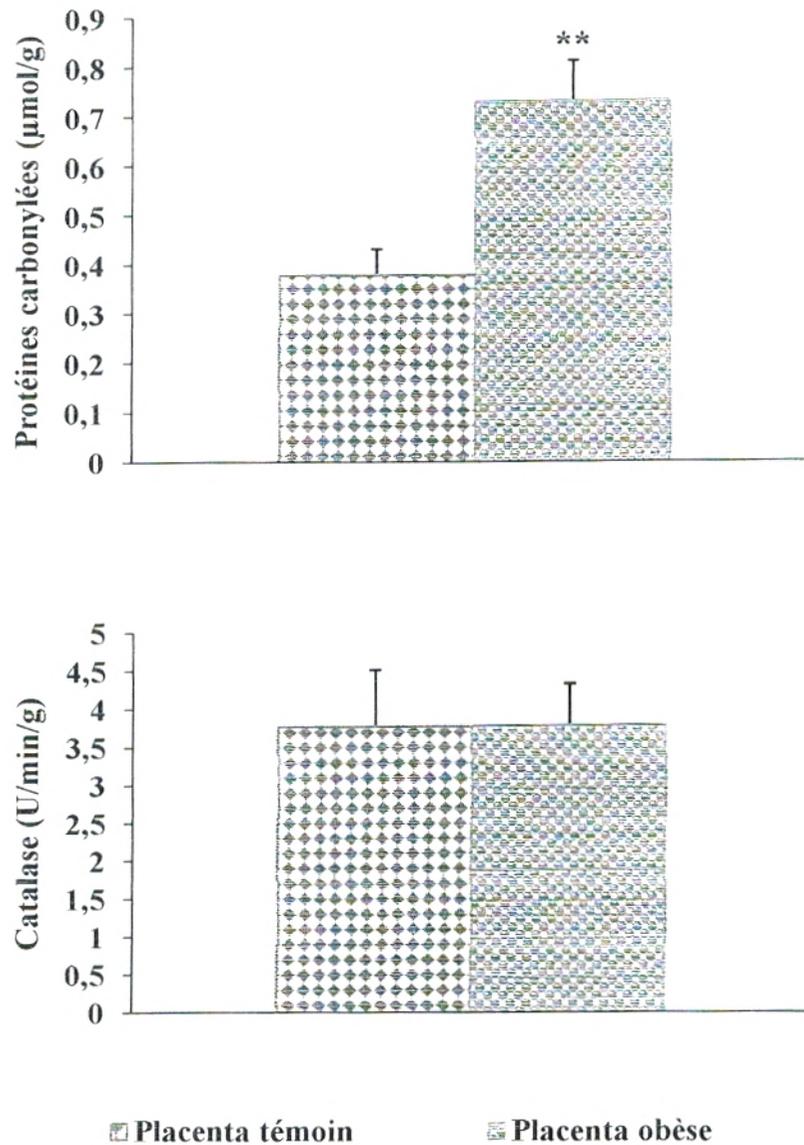
\*\*\*( $P < 0.001$ ) Différence hautement significative entre témoins et obèses.



**Figure 20: Teneurs en malondialdéhyde et en hydroperoxydes du placenta.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test t de Student après analyse de variance.

\*(P < 0.05) Différence significative entre témoins et obèses.



**Figure 21: Teneurs en protéines carbonylées et activité antioxydante de la catalase du placenta.**

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  l'écart type. La comparaison des moyennes entre les obèses et les témoins est effectuée par le test t de Student après analyse de variance.

\*\* (P < 0.01) Différence très significative entre témoins et obèses.

## **V. Corrélations des différents paramètres entre mères, nouveau-nés et placenta chez les témoins et les obèses**

Dans le but d'étudier la relation entre les différents paramètres au sein de l'unité mère-placenta-fœtus, différentes corrélations ont été calculées grâce au logiciel STATISTICA. Les corrélations significatives sont représentées dans les Tableaux IV, V et VI.

### **V.1. Corrélations des différents paramètres entre mères et nouveau-nés chez les témoins et les obèses (Tableau IV)**

Dans le groupe obèse, les triglycérides maternels sont corrélés positivement aux triglycérides fœtaux ; cette corrélation n'existe pas chez les témoins. Les corrélations relatives au statut oxydant de la mère obèse montrent une corrélation positive entre le MDA plasmatique et les hydroperoxydes érythrocytaires maternels et ceux de leurs nouveau-nés, et une corrélation négative entre les protéines carbonylées plasmatiques maternelles et le pouvoir antioxydant total fœtal, ainsi qu'une corrélation négative entre les protéines carbonylées érythrocytaires maternelles et le taux en caroténoïdes chez leurs nouveau-nés. Concernant le statut antioxydant des mères obèses, la vitamine A est corrélée négativement aux hydroperoxydes plasmatiques et aux protéines carbonylées érythrocytaires de leurs nouveau-nés. L'activité de la catalase érythrocytaire maternelle est corrélée négativement aux hydroperoxydes, aux protéines carbonylées et au MDA plasmatique fœtaux.

Dans le groupe témoin, le statut oxydant des mères révèle plusieurs corrélations négatives avec les paramètres fœtaux. Les hydroperoxydes (plasmatiques et érythrocytaires), les protéines carbonylées (plasmatiques et érythrocytaires) et le MDA plasmatique maternels sont corrélés négativement aux taux de la vitamine A chez leurs nouveau-nés. Les hydroperoxydes (plasmatiques et érythrocytaires) et les protéines carbonylées érythrocytaires maternels présentent une corrélation négative au pouvoir antioxydant total de leur progéniture. De plus, le MDA plasmatique maternel est corrélé négativement à l'activité de la catalase plasmatique fœtale. La catalase érythrocytaire et le taux de vitamine A maternels sont corrélés négativement aux protéines carbonylées plasmatiques et érythrocytaires des nouveau-nés témoins. De plus, une corrélation positive est notée entre les taux en vitamine A maternels et caroténoïdes fœtaux chez les témoins.

**Tableau IV: Corrélations significatives des différents paramètres entre les mères et leurs nouveau-nés chez les témoins et les obèses.**

Paramètres Mères (témoins ou obèses)	Nouveau-nés témoins	Nouveau-nés obèses
Triglycérides	/	Triglycérides (P = + 0.04)
Vitamine E	HP érythrocytaires (P = - 0.05)	/
Vitamine A	Caroténoïdes (P = + 0.001) PC plasmatiques (P = - 0.001) PC érythrocytaires (P = - 0.05) /	/ / PC érythrocytaires (P = - 0.03) HP plasmatiques (P = - 0.04)
MDA plasmatiques	Vitamine A (P = - 0.03) CAT plasmatique (P = - 0.04) /	/ / MDA plasmatique (P = +0.03)
HP plasmatiques	ORAC (P = - 0.03)	/
HP érythrocytaires	Vitamine A (P = - 0.01) ORAC (P = - 0.03) /	/ / HP érythrocytaires (P = +0.04)
PC plasmatiques.	Vitamine A (P = - 0.03) /	/ ORAC (P = - 0.04)
PC érythrocytaires	Vitamine A (P = - 0.05) ORAC (P = -0.05) /	/ / Caroténoïdes (P = - 0.03)
CAT érythrocytaire	PC plasmatiques (P = - 0.01) PC érythrocytaires (P = - 0.05) / /	PC plasmatiques (P = - 0.04) / MDA plasmatique (P = - 0.04) HP plasmatiques (P = - 0.02)

MDA : Malondialdéhyde ; HP : Hydroperoxydes ; PC : Protéines carbonylées ;

CAT : Catalase.

Les différentes corrélations entre les paramètres maternels et fœtaux sont calculées par le logiciel STATISTICA.

Différence significative à  $P < 0.05$ .

## **V.2. Corrélations des différents paramètres entre placenta et nouveau-nés chez les témoins et les obèses (Tableau V)**

Dans le groupe obèse, les hydroperoxydes placentaires sont corrélés positivement aux hydroperoxydes plasmatiques des nouveau-nés. Concernant les antioxydants au niveau du placenta, les caroténoïdes et la vitamine E sont toutes les deux corrélées négativement aux protéines carbonylées plasmatiques fœtales. La vitamine A, quant à elle, est corrélée négativement au MDA plasmatique chez les nouveau-nés.

Dans le groupe témoins, on note une corrélation positive entre les protéines totales du placenta et celles des nouveau-nés. Les teneurs en MDA et les hydroperoxydes placentaires sont corrélés négativement, respectivement, aux caroténoïdes et à la catalase plasmatique fœtales.

## **V.3. Corrélations des différents paramètres entre placenta et mères chez les témoins et les obèses (Tableau VI)**

Les triglycérides du placenta sont corrélés positivement à ceux des mères aussi bien chez les témoins que chez les obèses.

Dans le groupe obèse, la vitamine E placentaire est corrélée positivement à celle des mères. Le MDA placentaire est corrélé négativement aux teneurs maternelles en vitamine E. L'activité de la catalase placentaire est corrélée négativement au MDA plasmatique maternel.

Chez les témoins, le MDA placentaire est corrélé négativement à la catalase plasmatique maternelle et les protéines carbonylées placentaires sont corrélées négativement aux caroténoïdes et aux vitamines A et E. Concernant les antioxydants au niveau du placenta, les caroténoïdes et la catalase sont respectivement corrélés négativement aux hydroperoxydes et aux protéines carbonylées plasmatiques chez les mères.

**Tableau V: Corrélations significatives des différents paramètres entre placenta et nouveau-nés chez les témoins et les obèses.**

<b>Paramètres placenta (témoin ou obèse)</b>	<b>Nouveau-nés témoins</b>	<b>Nouveau-nés obèses</b>
Protéines totales	Protéines totales (P = + 0.04)	/
Vitamine E	/	PC plasmatiques (P = - 0.02)
Vitamine A	/	MDA plasmatique (P = - 0.05)
Caroténoïdes	/	PC plasmatiques (P = - 0.05)
MDA	Caroténoïdes (P = - 0.02)	/
HP	CAT plasmatique (P = - 0.04)	/
	/	HP plasmatiques (P = + 0.03)

MDA : Malondialdéhyde ; HP : Hydroperoxydes ; PC : Protéines carbonylées ;

CAT : Catalase.

Les différentes corrélations entre les paramètres maternels et fœtaux sont calculées par le logiciel STATISTICA.

Différence significative à  $P < 0.05$ .

**Tableau VI: Corrélations significatives des différents paramètres entre placenta et mères chez les témoins et les obèses.**

<b>Paramètres placenta (témoin ou obèse)</b>	<b>Mères témoins</b>	<b>Mères obèses</b>
Triglycérides	Triglycérides (P = + 0.01)	Triglycérides (P = + 0.01)
Vitamine E	/	Vitamine E (P = + 0.03)
Caroténoïdes	HP plasmatiques (P = - 0.03)	/
MDA	CAT plasmatique (P = - 0.01) /	Vitamine E (P = - 0.03)
PC	Vitamine E (P = - 0.03) Vitamine A (P = - 0.01) Caroténoïdes (P = - 0.02)	/
CAT	PC plasmatiques (P = - 0.03) /	MDA plasmatique (P = - 0.02)

MDA : Malondialdéhyde ; HP : Hydroperoxydes ; PC : Protéines carbonylées ;  
CAT : Catalase.

Les différentes corrélations entre les paramètres maternels et fœtaux sont calculées par le logiciel STATISTICA.

Différence significative à  $P < 0.05$ .

## **DISCUSSION**

L'obésité est le risque majeur dans le développement de la résistance à l'insuline et du diabète non insulino-dépendant (KOÇAK et al., 2007). L'obésité abdominale, est associée à une morbidité et mortalité cardiovasculaire (DAVI et al., 2002) en particulier chez la femme, chez laquelle s'ajoute des circonstances spécifiques telles que la grossesse (BENTLEY-LEWIS et al., 2007 ; BONORA, 2006). La grossesse entraîne normalement une augmentation de tous les lipides et lipoprotéines sériques (KNOPP et al., 1981). Cette hyperlipidémie peut être exagérée par l'obésité.

La grossesse est caractérisée par une adaptation de l'organisme maternel favorisant un développement optimal du fœtus. Lors de la grossesse normale, les adaptations du métabolisme, sous dépendance hormonale, s'installent progressivement. Ces adaptations peuvent être perturbées en cas de stress oxydatif. Dans ce cas, l'unité mère-placenta-fœtus peut être affectée entraînant des anomalies du développement fœtal. Dès le premier trimestre de la grossesse normale, une augmentation des lipides peroxydés plasmatiques est retrouvée. Si la grossesse reste normale, cette augmentation se stabilise. Parallèlement, les concentrations plasmatiques en vitamine C et E augmentent. Il semble donc que la notion de balance anti/prooxydant soit applicable à la grossesse (LEFEVRE, 1997).

Les cibles privilégiées des radicaux libres sont l'ADN, les lipides membranaires et les protéines. Le stress oxydatif se caractérise par un déséquilibre entre les prooxydants (radicaux libres, peroxydes) et les antioxydants (superoxydes dismutases, catalases, glutathion peroxydase, vitamines antioxydantes) (HALENG et al., 2007; BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2000).

Les radicaux libres font partie intégrante du fonctionnement de l'organisme et jouent un rôle important, notamment pour la reproduction, la nidation de l'œuf fécondé et le développement de l'embryon (AUROUSSEAU et al., 2004). En effet, les phénomènes radicalaires sont impliqués dans la multiplication la différenciation, la croissance et le fonctionnement des différents types de cellules ; ils jouent un rôle important pendant la gestation. Mais un déséquilibre entre la production, intense pendant la gestation, et leur élimination peut engendrer un stress oxydant. Ce dernier peut conduire à l'altération de l'organisme de la mère et de son fœtus (MYATT et al., 2004).

Les résultats des travaux d'ADEMUYIWA et al. (2007) suggèrent que le stress oxydant est plus important chez les femmes enceintes comparées aux femmes qui ne le sont pas. Il est donc d'autant plus important d'évaluer le statut oxydant/antioxydant chez la femme obèse enceinte, et c'est dans cet optique que nous contribuons à déterminer quelques

marqueurs de ce statut oxydant (hydroperoxydes, protéines carbonylées, malondialdéhyde, diènes conjugués) et antioxydant (catalase, vitamines, ORAC) chez les femmes obèses enceintes et leurs fœtus et à les comparer à un groupe témoin de femmes enceintes non obèses et leurs fœtus de la région de Tlemcen. De plus, les marqueurs du stress oxydatif sont aussi déterminés au niveau du placenta afin de mieux évaluer le risque vis-à-vis de l'unité mère-placenta-fœtus.

Durant la grossesse, les apports en énergie doivent assurer l'entretien de nouveaux tissus maternels et fœtaux, l'augmentation du métabolisme de base lié à l'accroissement de la masse tissulaire, l'accroissement des réserves maternelles (lipides dans le tissu adipeux maternel) et la couverture des besoins du fœtus et de ses annexes (utérus, placenta, liquide amniotique). Les besoins au cours de la grossesse sont estimés d'après les quantités de nutriments (graisses, protéines, calcium, fer, etc.) transférées à l'organisme fœtal, le placenta et l'organisme maternel, auxquelles s'ajoutent, pour l'énergie, les coûts de maintenance de l'unité fœto-placentaire et de l'organisme maternel.

Lors de la grossesse normale, on observe des modifications métaboliques physiologiques qui privilégient l'alimentation fœtale. Il s'agit essentiellement d'une insulino-résistance qui devient très importante au troisième trimestre. Cette insulino-résistance résulte de l'action des hormones placentaires. Elle est majorée par une obésité, ou une inactivité maternelle. Elle entraîne une augmentation progressive des besoins en insuline. Le pancréas augmente donc sa production d'insuline pour maintenir une glycémie normale. Cet hyperinsulinisme est en fait initié très tôt durant la grossesse, sous l'effet de l'augmentation brutale des œstrogènes maternels dont l'effet stimulant de l'insulinosécrétion est bien connu (LEFEVRE, 1997).

Durant les deuxième et troisième trimestres de la grossesse, il est reconnu que les besoins en insuline de la femme enceinte sont deux à trois fois plus importants qu'en temps normal. Cela s'expliquerait par l'augmentation progressive, durant la grossesse, de la production d'hormones « anti-insulines » (par exemple, les hormones placentaires, le cortisol et les hormones de croissance), qui réduisent les effets de l'insuline sur l'organisme. Elles sont essentielles au bon déroulement d'une grossesse, donc à la santé du fœtus et de la mère. Normalement, cette résistance à l'insuline stimule le pancréas à produire davantage d'insuline pour compenser. Les femmes qui ont une tendance occulte au diabète sont celles dont le pancréas ne peut produire ce surplus d'insuline. Chez elles, s'installe alors l'hyperglycémie (BUCHANAN et al., 2005 ; FONTAINE, 2003).

A côté de ces altérations du métabolisme des glucides, les modifications lipidiques et lipoprotéiques observées au cours de la grossesse sont complexes. Une hyperlipidémie globale existe au cours de la grossesse normale. Les concentrations en cholestérol total, triglycérides, LDL cholestérol, sont augmentées. Les modifications du bilan lipidique sont surtout significatives en fin de grossesse. La dyslipoprotéïnémie de la femme enceinte est proche de celle observée chez les femmes prenant des œstroprogestatifs, elle est transitoire et se normalise après accouchement (MAZURKIEWICS et al., 1994).

La principale caractéristique du profil lipidique est l'apparition de concentrations plasmatiques de triglycérides deux à trois fois supérieures aux concentrations prégestationnelles. Le maximum est atteint au troisième trimestre de grossesse (en moyenne 2,85 g/l) et le retour aux concentrations prégravidiques s'effectue, en général, six semaines après la délivrance. Ces modifications sont directement en rapport avec une augmentation de la synthèse hépatique des lipoprotéines de très basse densité, transporteurs des triglycérides endogènes. Une forte corrélation a été établie entre triglycérides plasmatiques et œstrogènes, rendant compte de la synthèse accrue de lipoprotéines de très basse densité sous l'effet du niveau élevé d'œstrogènes relatif à la grossesse. Les modifications du métabolisme des triglycérides et des acides gras libres ne sont significatives qu'à partir du second trimestre de la grossesse. Les triglycérides sont la source d'acide gras utilisée prioritairement par le placenta, préférentiellement aux acides gras libres. L'ensemble de ces modifications se traduit par une synthèse accrue de triglycérides par le foie, secrétés sous forme de lipoprotéines de très basse densité (VLDL) (LEFEVRE et al., 1997).

Les concentrations plasmatiques de cholestérol subissent des variations moindres: elles sont en augmentation de 50 à 60 % par rapport à la période prégravidique. Ces variations de la cholestérolémie résultent de l'augmentation, d'une part, des lipoprotéines de très basse densité et, d'autre part, des lipoprotéines de basse densité, qui en sont le sous-produit (augmentation d'environ 36 % au cours de la grossesse) (DURACK-BOWN, 1996).

L'obésité est normalement associée à des modifications métaboliques avec risque cardiovasculaire important (DAVI et al., 2002). Ces altérations métaboliques sont accentuées lors de la grossesse (BENTLET-LEWIS et al., 2007 ; BONORA, 2006). De plus, les grossesses chez les patientes obèses sont marquées par une incidence élevée de complications maternelles (diabète gestationnel, hypertension artérielle, syndromes toxémiques) et fœtales (macrosomie, anomalies de fermeture du tube neural, mortalité

périnatale). A long terme, on observe une augmentation du risque d'obésité et de diabète de type 2 chez la mère, ainsi qu'une plus grande fréquence de l'obésité chez l'enfant de mère obèse (MERZOUK et al., 2000).

Nos résultats montrent une hyperglycémie chez les femmes enceintes obèses comparées aux témoins. L'obésité est une pathologie métabolique qui se caractérise par une insulino-résistance (KOÇAK et al., 2007). De plus, l'hyperglycémie, l'hyperinsulinémie, l'insulino-résistance et l'hyperlipidémie sont des anomalies métaboliques classiques associées au développement du surpoids. Des modifications métaboliques similaires accompagnent l'évolution d'une gestation normale. Ces modifications sont d'autant plus marquées chez les femmes enceintes obèses (KNOPP et al., 1981).

Concernant le métabolisme protéique, nos résultats ne révèlent pas de modifications du taux des protéines totales chez les mères obèses par rapport aux témoins. De même, le bilan rénal ne semble pas être altéré lors de l'obésité chez la femme enceinte car nos résultats ne montrent pas de modifications des taux plasmatiques de l'urée et de la créatinine chez les mères obèses par rapport aux mères témoins.

Concernant le profil lipidique, nos résultats montrent une hypertriglycéridémie chez les mères obèses comparées aux témoins. Ces résultats concordent avec ceux de MERZOUK et al. (2000) qui ont montré que les niveaux sériques des triglycérides durant la grossesse sont nettement plus élevés chez les femmes obèses comparées aux femmes non obèses. L'augmentation du taux des œstrogènes et celle de l'insulino-résistance durant la gestation sont considérées comme responsables de cette hyperlipidémie (NEARY et al., 1995).

Par contre, aucune modification des taux sériques du cholestérol total, des LDL-cholestérol ainsi que celui des phospholipides n'est notée chez les mères obèses comparées aux témoins. Ces résultats sont en partie en accord avec ceux de HERRERA et al. (2006) qui affirme une hypertriglycéridémie chez la femme enceinte avec une légère diminution des concentrations plasmatique du cholestérol et des phospholipides. D'après d'autres auteurs, la grossesse entraîne normalement une augmentation de tous les lipides et lipoprotéines sériques (KNOPP et al., 1981). Cette hyperlipidémie peut être exagérée par l'obésité où ces modifications sont classiques et sont les conséquences, soit d'une augmentation de la production hépatique des VLDL, soit d'une réduction du catabolisme de ces lipoprotéines (PORTE et al., 1998). En effet, l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL), enzyme responsable du catabolisme des VLDL, est réduite en cas d'obésité. De

plus, il a été démontré que l'activité de la LPL est réduite au cours de la grossesse suite à l'insulinorésistance (ROVAMO et al., 1984).

Nos résultats ne montrent pas de modifications des teneurs en glucose chez les nouveau-nés de mères obèses par rapport aux témoins. En revanche, d'autres auteurs ont noté que l'hyperglycémie maternelle observée lors de l'obésité peut être un facteur majeur responsable de l'hyperglycémie et par la suite de l'hypertriglycéridémie fœtales (MERZOUK et al., 2000). Aussi, les perturbations métaboliques associées au diabète gestationnel et à l'obésité maternelle modifient profondément l'environnement intra-utérin, favorisant la croissance pondérale du fœtus (GUERRE-MILLO et al., 2005).

De même que chez leurs mères, aucune modification des taux plasmatiques en protéines, en urée et en créatinine n'est notée chez les nouveau-nés de mères obèses comparés aux nouveau-nés témoins.

Nos résultats ne révèlent aucune modification des concentrations plasmatiques en triglycérides, en cholestérol, et en phospholipides chez les nouveau-nés de mères obèses comparés aux mères témoins. Par contre, les résultats de MERZOUK et al. (2000) montrent une augmentation significative des taux sériques des triglycérides, des phospholipides et du cholestérol total des nouveau-nés des mères obèses comparés aux témoins. Ceci peut être expliqué par le fait que, dans l'étude de MERZOUK et al. (2000), les nouveau-nés de mères obèses sont macrosomiques et présentent donc une obésité précoce. Cependant, dans notre travail, le poids des nouveau-nés de mères obèses est normal.

Nos résultats montrent des taux plasmatiques en lipides (triglycérides, cholestérol total et phospholipides) faibles chez les nouveau-nés comparés à leurs mères. Nos résultats concordent avec ceux de MERZOUK et al. (2000). En effet, le système de transport des lipides chez le nouveau-né est différent de celui de l'adulte. Plusieurs études montrent, qu'à la naissance, les concentrations sériques en triglycérides, en cholestérol total et en phospholipides dans le sérum du cordon ombilical du nouveau-né, sont faibles par rapport à celles de l'adulte. En suite, elles augmentent fortement pour atteindre des valeurs maximales au bout du troisième jour pour les triglycérides et du cinquième jour pour le cholestérol total et les phospholipides (LANE et al., 1986).

Dans le but de mieux voir les transferts entre les mères et leur progéniture, nous avons, dans notre travail déterminé ces même paramètres métaboliques (protéines totales et lipides) au niveau du placenta.

musculaire qui sont tous deux altérés. Les patients présentant les plus faibles niveaux d'activité des enzymes du cycle de Krebs seraient les plus enclins à l'accumulation de tissu adipeux en cas de suralimentation. Il existe des interactions entre le métabolisme du glucose et des lipides: lorsque le taux de lipides est élevé et que le glucose est bas, les lipides sont principalement oxydés en raison d'un taux faible de malonyl CoA. A l'inverse, quand le taux de glucose est élevé et que les lipides sont bas, l'oxydation des lipides est réduite ce qui est probablement responsable de l'accumulation de graisses chez les patients obèses (MERCIER, 2001). Dans ce sens, il est primordial de mesurer la peroxydation lipidique, car il s'agit d'un phénomène normalement contrôlé dans toutes les cellules de l'organisme et une grande variété de mécanismes antioxydants limite ce processus. En effet, les antioxydants agissent en formant des produits non radicalaires, en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras, ou en absorbant l'énergie excédentaire de l'oxygène singulier pour la transformer en chaleur (CHISELLI et al., 2000).

Le stress oxydatif est aussi associé à l'apparition de plusieurs pathologies au cours de la grossesse (Prééclampsie, hypertension gravidique, diabète gestationnel, macrosomie fœtale, accouchement prématuré, ...). Seulement, les radicaux libres font partie intégrante du fonctionnement de l'organisme et jouent un rôle important, notamment pour la reproduction, la nidation de l'œuf fécondé et le développement de l'embryon (ROBLES et al., 2001). En effet, les phénomènes radicalaires sont impliqués dans la multiplication, la différenciation, la croissance et le fonctionnement des différents types de cellules. Ils jouent un rôle très important pendant la gestation. Mais un déséquilibre entre leur production, intense pendant la gestation, et leur élimination peut engendrer un stress oxydant. Ce dernier peut conduire à l'altération de l'organisme de la mère et de son fœtus (MYATT et al., 2004).

Des modifications importantes du déséquilibre oxydant/antioxydant existe pendant la grossesse normale, et au cours de l'obésité. Mais le stress oxydant reste difficile à mettre en évidence puisque l'augmentation des prooxydants est suivie d'une élévation des antioxydants de façon à garder l'équilibre. Cependant, cet équilibre peut être rompu chez certaines femmes enceintes obèses avec des conséquences néfastes chez la mère et son bébé. A priori, deux raisons expliqueraient le déséquilibre entre les facteurs oxydants et les antioxydants responsables de la dysfonction endothéliale : il surviendra, à la fois, une augmentation du stress oxydatif (formation accrue de radicaux libres entraînant la

peroxydation lipidique), à laquelle s'ajouterait une diminution de l'activité des enzymes et des vitamines responsable de la neutralisation des radicaux libres. Cependant, très peu d'études n'abordent l'évaluation du statut redox en cas d'association des deux états: obésité-grossesse. Il est donc intéressant de mesurer les répercussions des dommages oxydatifs sur la mère, le nouveau-né et le placenta.

Dans notre étude, et afin d'évaluer le stress oxydant au niveau de l'unité mère-placenta-nouveau-né, nous avons exploité plusieurs marqueurs, aussi bien prooxydants qu'antioxydants.

La peroxydation lipidique a été estimée par la mesure des hydroperoxydes ; produits essentiels de la peroxydation des lipides, d'acides gras polyinsaturés (AGPI) ou de leurs esters (exemples : phospholipides et triglycérides), ainsi qu'à leur décomposition (GERARD-MONNIER et al., 1996). Nous avons aussi mesuré le malondialdéhyde, autre paramètre de la peroxydation des lipides. Il s'agit d'un aldéhyde formé lors de la coupure des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons ou à partir de composés non lipidiques tels que l'acide ascorbique, les acides aminés, le désoxyribose ou le saccharose lorsqu'ils sont exposés à l'action des radicaux hydroxyles, en présence de métaux (LEFEVRE et al., 1998). La peroxydation des lipides provoque la libération d'autres produits d'oxydation: les diènes conjugués. L'oxydation in vitro des lipoprotéines plasmatiques, induite par les métaux (cuivre), est déterminée par le suivi au cours du temps de la formation de ces diènes conjugués. La formation de ces derniers, résulte du réarrangement des doubles liaisons éthyléniques des acides gras polyinsaturés (AGPI) suite à l'abstraction radicalaire d'un hydrogène malonique (ESTERBAUER et al., 1989).

Par ailleurs, nous avons dosé le taux des protéines carbonylées. Elles sont considérées comme des marqueurs de l'oxydation des protéines (MAYNE, 2003). Ces carbonyles protéinés sont formés lorsque les espèces réactives à l'oxygène attaquent les résidus d'acides aminés (particulièrement l'histidine, proline, arginine et lysine) (LEAN et al., 2007).

Il existe un système antioxydant complexe incluant des composants enzymatiques ou non, qui protège les biomolécules (protéines, lipides, ...) contre les effets néfastes des radicaux libres. En effet, l'hyperproduction de radicaux libres, et donc les dommages tissulaires qu'ils engendrent, sont limités par la présence naturelle endogène de substances antioxydantes. D'autres systèmes de destruction des radicaux libres ne sont pas enzymatiques mais stœchiométriques, les molécules réagissant une à une; lorsqu'elles ont

acides gras dont les concentrations sont fortement modifiées au cours de la grossesse normale (LEFEVRE et al., 1997).

Nos résultats, montre une augmentation significative des taux des produits de l'oxydation des biomolécules, notamment lipidiques, au niveau placentaire (malondialdéhyde, hydroperoxydes). Selon MUELLER et al. (2005), le placenta représente, pendant une grossesse normale, une source majeure d'agents prooxydants et de système antioxydant et il est capable de garder la peroxydation lipidique sous contrôle. Le taux des produits de la peroxydation des lipides tels que les TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) augmente au niveau du placenta et de l'utérus, et ce ci même pendant une grossesse normale (BARTH et al., 1997). Alors que selon LEFEVRE (1997), dans le placenta normal, les hydroperoxydes seraient maintenus à des concentrations faibles par l'activité glutathion peroxydase. L'augmentation des hydroperoxydes et du MDA au niveau des placentas des mères obèses peut être donc liée à une réduction des défenses antioxydantes placentaires.

En cas d'attaque oxydative lipidique, les diènes conjugués augmentent dans le plasma au cours de la grossesse normale (LEFEVRE et al., 1997). Cependant nos résultats ne révèlent pas de modifications concernant les diènes conjugués dans le groupe obèse par rapport au témoin. En revanche, les valeurs du lag time (TLag) c'est-à-dire, le temps qui permet d'estimer la résistance des lipoprotéines à l'oxydation *in vitro*, ainsi que du Tmax ; temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale des lipoprotéines (ESTERBAUER et al., 1989), sont, dans notre étude, significativement plus basses chez les mères obèses et leurs nouveau-nés comparés aux témoins. Cette diminution explique la grande susceptibilité des lipoprotéines à l'oxydation, induisant une chute de la protection antioxydante. Le taux élevé en estriol pendant la grossesse normale peut être en partie responsable de l'autoprotection qui limite les dommages oxydatifs ; il augmente le TLag de l'oxydation des LDL *in vitro* (MUELLER et al., 2005).

Par ailleurs, une diminution des concentrations plasmatiques en protéines carbonylées observée à la fin de la grossesse peut être liée en partie à l'hémodilution connue au cours de la grossesse. L'oxydation des protéines est un signe de l'endommagement tissulaire, causé par le stress oxydatif, l'augmentation des carbohydrates, ou les deux (BAYNES, 1999). Cependant, dans notre travail, les valeurs plasmatiques et érythrocytaires maternelles et fœtales en protéines carbonylées ne révèlent aucune variation dans le groupe obèse par rapport au groupe témoin. Alors que, selon ATABEK et al. (2006), le taux des produits de l'oxydation des protéines chez des obèses est significativement plus

élevé que celui du groupe témoin ; aussi ce même paramètre est nettement plus élevé chez les sujets présentant une insulino-résistance par rapport aux sujets sains, ainsi cette étude montre que l'oxydation des protéines en obésité est un important marqueur du stress oxydatif et que l'insulino-résistance peut jouer un rôle important comme source du stress oxydatif et dans le développement d'autres pathologies.

Par ailleurs, on note une augmentation importante du taux des protéines carbonylées placentaires chez les obèses comparés aux témoins. Ceci peut être lié à l'augmentation des teneurs placentaires en protéines dans le groupe obèse par rapport au groupe témoin, et à une réduction des défenses antioxydantes placentaires.

Dans notre étude, les taux plasmatiques en vitamines C et E sont diminués significativement chez les mères obèses par rapport aux mères témoins. Ces données sont en accord avec ceux de LEE et al. (2004) qui a constaté une réduction des taux en vitamines C et E chez les femmes enceintes, reflet d'une grande utilisation de ces vitamines suite au stress oxydant. Par contre, d'autres auteurs ont montré que les concentrations en vitamines C et E augmentent au cours de la grossesse, parallèlement à l'élévation des hydroperoxydes afin de maintenir une balance oxydante/antioxydante normale chez la femme enceinte.

Nos résultats concordent aussi avec les travaux d'AASHEIM et al. (2008) qui ont montré que l'obésité entraîne, aussi bien chez les hommes que chez les femmes, une diminution significative du statut vitaminique, essentiellement celles des vitamines C, 25-hydroxyvitamine D et vitamine E. Nos résultats sont aussi en accord avec ceux de GALAN et al. (2005), où les concentrations sériques en vitamine C sont faibles chez les sujets obèses. Par contre, on ne note aucune variation des taux de ces deux vitamines chez les nouveau-nés de mères obèses comparés aux témoins.

Une diminution de la consommation alimentaire des vitamines C et E au cours de la grossesse peut aussi expliquer ces résultats (LEE et al., 2004). De même, selon DEBIER (2007), la grossesse est souvent associée à un stress oxydatif qui consomme les vitamines antioxydantes et entraîne parfois des accouchements prématurés. Les enfants prématurés, face à ce stress oxydatif, présentent une déficience en  $\alpha$ -tocophérol (vitamine E), accumulée depuis le troisième trimestre de la grossesse. Ce désordre métabolique est associé à un important stress oxydant au niveau de la circulation maternelle mais aussi au niveau du placenta.

Selon GALAN et al. (2005), le taux sérique en  $\beta$ -carotène serait diminué chez les obèses, ce qui est contradictoire avec nos résultats qui montrent une augmentation significative

des taux plasmatiques en vitamine A et caroténoïdes ; aussi bien chez les mères obèses, que chez leurs nouveau-nés comparés aux témoins. Une augmentation de la consommation de vitamine A et caroténoïdes par les mères obèses peut expliquer les taux plasmatiques élevés.

On note, dans notre travail, une diminution très significative des teneurs placentaires en vitamines A, C, E et caroténoïdes chez les mères obèses comparées aux mères témoins. La défense antioxydante placentaire est donc faible, ce qui peut expliquer l'augmentation des taux placentaires des hydroperoxydes, du MDA et des protéines carbonylées au cours de la grossesse associée à l'obésité. D'un autre côté, un stress oxydatif exagéré peut provoquer une déplétion en vitamines antioxydantes.

Pendant la grossesse, la dégradation du peroxyde d'hydrogène au niveau érythrocytaire est essentiellement due à l'activité enzymatique antioxydante de la catalase (ADEMUYIWA et al., 2007). Mais nos résultats ne révèlent pas de modifications des niveaux plasmatiques, érythrocytaires et placentaires de la catalase dans le groupe obèse comparé au témoin.

Dans notre travail, le pouvoir antioxydant total de l'organisme (ORAC), ne montre pas de modification chez les mères obèses et leurs nouveau-nés comparés à leurs témoins respectifs. Ceci peut être expliqué par l'augmentation de la protection antioxydante, notamment l'augmentation des taux maternels et fœtaux en vitamine A et caroténoïdes, ainsi que des teneurs érythrocytaires normales en catalase. Il faut noter que l'ORAC représente la synergie de plusieurs antioxydants présents dans l'organisme comme l'albumine, l'acide urique, la ferritine, les oligo-éléments en plus des vitamines et enzymes antioxydantes. De plus, les réactions *in vitro*, comme le cas de l'ORAC, peuvent ne pas refléter la situation réelle *in vivo*. Dans ce cas, la détermination de chaque marqueur du stress oxydatif reste le meilleur moyen pour évaluer la balance oxydante/antioxydante de l'organisme.

Afin de bien voir les répercussions du stress oxydant sur l'unité mère-placenta- nouveau-né, différentes corrélations ont été calculées entre les paramètres. Dans le groupe témoin, nos résultats montrent que les marqueurs de la peroxydation lipidique (MDA et hydroperoxydes) sont corrélés négativement aux antioxydants (la catalase et caroténoïdes) et ceci entre les mères, le placenta et les nouveau-nés. Aussi, les protéines carbonylées sont corrélées négativement aux vitamines, à la catalase et à l'ORAC entre les mères et leurs fœtus et entre les mères et le placenta. Ces différentes corrélations suggèrent que le

statut oxydant/antioxydant de la mère influence celui du placenta qui influence à son tour celui du fœtus.

Dans le groupe obèse, le MDA et les hydroperoxydes maternels sont corrélés positivement à ceux des nouveau-nés. Aussi, les hydroperoxydes placentaires sont corrélés positivement aux hydroperoxydes fœtaux. Les produits de l'oxydation des lipides maternels seraient ainsi accumulés au niveau du placenta puis transférés chez le fœtus. D'autre part, le MDA maternel est corrélé négativement à la catalase fœtale et placentaire. Par ailleurs, les protéines carbonylées maternelles sont corrélées négativement aux vitamines, à la catalase et au pouvoir antioxydant total entre les mères et leur progéniture. Par contre, on note une corrélation positive entre la vitamine E placentaire et maternelle, ce qui témoigne d'une défense antioxydante au niveau du placenta. Dans le groupe obèse, ces différentes corrélations montrent qu'un excès de production de radicaux libres chez la mère est transféré au placenta puis au fœtus dont les défenses antioxydantes deviennent plus importantes pour lutter contre ce stress oxydatif.

Il faut noter que les corrélations retrouvées au sein de l'unité mère-placenta-fœtus chez les obèses sont différentes de celles des témoins. Les différences entre les corrélations du groupe témoin et celles du groupe obèse appuient la thèse de la rupture de l'équilibre oxydant/antioxydant, et donc l'existence d'un stress oxydatif durant la grossesse chez les femmes obèses avec des répercussions au niveau de l'unité mère-placenta-fœtus.

## **CONCLUSION**

La grossesse est une circonstance particulière de la vie qui comporte un risque évident chez la femme obèse. Nos résultats montrent que, les femmes enceintes obèses présentent des perturbations du métabolisme glucidique et lipidique, ces modifications ne concernent pas leurs nouveau-nés. Il s'agit d'une hyperglycémie maternelle ainsi qu'une hypertriglycéridémie maternelle et placentaire. Ces anomalies métaboliques classiques durant la grossesse sont associées au développement d'un surpoids ou d'une obésité. Elles sont liées à l'augmentation des œstrogènes et à l'insulinorésistance de la grossesse. Concernant le métabolisme protéique et le bilan rénal, ils ne semblent pas être altérés chez les femmes obèses enceintes et leurs nouveau-nés.

Par ailleurs, notre travail révèle un déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante au niveau de l'unité mère-placenta-fœtus chez les femmes obèses. Celui-ci est marqué par des variations du système de défense antioxydante (essentiellement des variations des taux de vitamines maternelles, fœtales et placentaires). Un régime alimentaire non adapté peut être à l'origine de ces perturbations. Le pouvoir antioxydant total ainsi que la catalase ne semblent pas être concernés par ces variations.

On note aussi des altérations des molécules biologiques, avec une augmentation de l'oxydation lipidique (augmentation des taux du MDA placentaire et augmentation des hydroperoxydes maternels, fœtaux et placentaires) et protéique (augmentation du taux des protéines carbonylées placentaires). Ces altérations sont dues au fait que le placenta est une source d'agents prooxydants d'une part, et d'autre part, par le fait que les femmes enceinte obèses présentent un taux élevé en lipides, sujets d'attaques radicalaires. De plus, certaines défenses antioxydantes (vitamine C et E) sont réduites chez les mères obèses et leurs nouveau-nés, et même au niveau du placenta.

Ces perturbations du statut oxydant/antioxydant qui atteignent toute l'unité mère-placenta-fœtus, peuvent être responsables, pendant la grossesse, d'importantes complications maternelles et fœtales, et justifient l'intérêt d'une surveillance particulière. Ainsi, la détermination de tous les marqueurs du stress oxydatif (antioxydants et oxydants) est indispensable à l'évaluation de la balance oxydante/antioxydante chez ces patientes. La recherche de tous les marqueurs reflétant une altération de l'unité mère-placenta-fœtus représente une étape incontournable pour améliorer les programmes de prévention. De plus, un suivi et une prise en charge, notamment nutritionnelle, des femmes obèses est nécessaire durant leur grossesse dans le but de prévenir les effets néfastes des dommages oxydatifs aussi bien sur les mères que sur leur fœtus.

La grossesse est une circonstance particulière de la vie qui comporte un risque évident chez la femme obèse. Nos résultats montrent que, les femmes enceintes obèses présentent des perturbations du métabolisme glucidique et lipidique, ces modifications ne concernent pas leurs nouveau-nés. Il s'agit d'une hyperglycémie maternelle ainsi qu'une hypertriglycéridémie maternelle et placentaire. Ces anomalies métaboliques classiques durant la grossesse sont associées au développement d'un surpoids ou d'une obésité. Elles sont liées à l'augmentation des œstrogènes et à l'insulinorésistance de la grossesse. Concernant le métabolisme protéique et le bilan rénal, ils ne semblent pas être altérés chez les femmes obèses enceintes et leurs nouveau-nés.

Par ailleurs, notre travail révèle un déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante au niveau de l'unité mère-placenta-fœtus chez les femmes obèses. Celui-ci est marqué par des variations du système de défense antioxydante (essentiellement des variations des taux de vitamines maternelles, fœtales et placentaires). Un régime alimentaire non adapté peut être à l'origine de ces perturbations. Le pouvoir antioxydant total ainsi que la catalase ne semblent pas être concernés par ces variations.

On note aussi des altérations des molécules biologiques, avec une augmentation de l'oxydation lipidique (augmentation des taux du MDA placentaire et augmentation des hydroperoxydes maternels, fœtaux et placentaires) et protéique (augmentation du taux des protéines carbonylées placentaires). Ces altérations sont dues au fait que le placenta est une source d'agents prooxydants d'une part, et d'autre part, par le fait que les femmes enceinte obèses présentent un taux élevé en lipides, sujets d'attaques radicalaires. De plus, certaines défenses antioxydantes (vitamine C et E) sont réduites chez les mères obèses et leurs nouveau-nés, et même au niveau du placenta.

Ces perturbations du statut oxydant/antioxydant qui atteignent toute l'unité mère-placenta-fœtus, peuvent être responsables, pendant la grossesse, d'importantes complications maternelles et fœtales, et justifient l'intérêt d'une surveillance particulière. Ainsi, la détermination de tous les marqueurs du stress oxydatif (antioxydants et oxydants) est indispensable à l'évaluation de la balance oxydante/antioxydante chez ces patientes. La recherche de tous les marqueurs reflétant une altération de l'unité mère-placenta-fœtus représente une étape incontournable pour améliorer les programmes de prévention. De plus, un suivi et une prise en charge, notamment nutritionnelle, des femmes obèses est nécessaire durant leur grossesse dans le but de prévenir les effets néfastes des dommages oxydatifs aussi bien sur les mères que sur leur fœtus.

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. AASHEIM ET., HOFSE D., HJELMESAETH J., BIRKELAND KI., BØHMER T. (2008) Vitamin status in morbidly obese patients: across-sectional study. *Am J Clin Nutr.* 87(2):362-369.
2. ADEMUYIWA O., ODUSOGA OL., ADEBAWO OO., UGBAJA RN. (2007) Endogenous antioxidant defences in plasma and erythrocytes of pregnant women during different trimesters of pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* N°:1-6.
3. AEBI H. (1974) Catalase. In methods of enzymatic analysis. 2<sup>nd</sup> E G Bergmeyer Verlag chimie Gmmbb Weinheim. 2:673-684.
4. AHN YM., KIM YJ., PARK H., PARK B., LEE H. (2007) Prenatal vitamin C status is associated with placental apoptosis in normal-term human pregnancies. *Placenta.* 28(1):31-8.
5. ARTEEL G.A., SIES H. (2001) The biochemistry of selenium and the glutathione system. *Enviro. Toxicol Pharmacol.* 10:153-158.
6. ATABEK ME., KESKIN M., YAZICI C., KENDIRCI M., HATIPOGLU N., KOKLU E., KURTOGLU S. (2006) Protein oxidation in obesity and insulin resistance. *Eur J Pediatr.* 165(11):753-756.
7. AUROUSSEAU B., DURAND D., GRUFFAT D. (2004) Contrôle des phénomènes oxydatifs pendant la gestation chez les monogastriques et les ruminants. *INRA Prod Anim.* 17: 339-354.
8. BAĪKOVA D., MARKOV D., MARKOV P., IVANOV S. (2007) Modern medicobiological nutritional requirements for pregnant women. *Akush Ginecol (Sofia).* 46(6):27-31.
9. BARDON S., BENELLI C., BERNARD-GALLON D., BLOTTIER H., DEMARQUOY J., DUEE PH., FOREST C. (2005) Dietary fatty acids and cancer: potential cellular and molecular mechanisms. *Bulletin du cancer.* 92(7):697-707.
10. BARTH A., PEIKER G., GROSS W., SCHRÖDER S., MICHELS W. (1997) Peroxidative and glutathione status in uterus and placenta after normal and pathological pregnancy. *Exp Toxicol Pathol.* 49 (6):497-500.
11. BAYNES J.W., THORPE S.R. (1999) Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. *Diabetes.* 48:1-9.
12. BENTLEY-LEWWIS R., KORUDA K., SEELY EW. (2007) The metabolic syndrome in women. *Nature Clinical Practice Endocrinology and Metabolism.* 3(10):696-704.
13. BIASI F. (1994) Oxidative stress in the development of human ischemic hepatitis during circulatory shock. *Free Rad Biol Med.* 17:225-23.

14. BIRI A., BOZKURT N., TURP A., KAVUTCU M., HIMMETOGLU O., DURAK I. (2007) Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. *Gynecol Obstet Invest.* 64(4):187-92.
15. BLACHE D., PROST M. (1992). Free radical attack: Biological test for human resistance capability. In proceeding of the college park on chemical evolution. *Chemical Analysis Laboratory. NASA, WASHINGTON.* 82-98.
16. BONNEFONT-ROUSSELOT D., BASTARD J.P., JAUDON M.C., DELATTRE J. (2000) Consequences of the diabetic statut on the oxidant/antioxydant balance. *Diabetes Metab.* 26:163-176.
17. BONNEFONT-ROUSSELOT D., THEROND P., BEAUDEUX J-L., PEYNET J., LEGRAND A., DELATTRE J. (2001) Vieillessement et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels ? *Annales de Biologie Clinique.* 59(4):453-459.
18. BONORA E. (2006) The metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Ann Med.* 38(1): 64-80.
19. BOUCHARD C. (1991) Génétique des obésités. Editions techniques- *Encyclopédie Médico-chirurgicale* (Paris, France), Endocrinologie-Nutrition. 10506 C<sup>10</sup>, 4p.
20. BOUZID Z. (2005) Phénomène du surpoids et de l'obésité en Algérie. *El Watan.*
21. BOVERIS A., CHANCE B. (1973) The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J.* 134:707-716.
22. BUCHANAN TA., XIANG AH. (2005) Gestational diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 115:485-491.
23. BUETTNER GR., JURKIEWICZ BA. (1996) Catalytic metals, ascorbate and free radicals: Combination to avoid. *Radiat Res.* 145:532-541.
24. BUTTE NF. (2000) Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* 71:1256-1261S.
25. CATALANO PM. (1994) Carbohydrate metabolism and gestational diabetes. *Clin Obstet Gynecol.* 37:25-38.
26. CERISOLA A.S., MISTRAL J. (2004) L'obésité aux états unis; enjeux économiques et défis politiques. *Agence financière de Washington.* 1-10.
27. CHALLIER JC., UZAN S. (2002) Le placenta humain et ses pathologies : l'oxygène en question. *REVUE M/S : médecine sciences.* 19(11) :345-352.
28. CHAUDIERE J., GERARD D. (1988) Dosage de l'activité glutathion peroxydase. *Biologie des lipides chez l'Homme. Editions Médicales Internationales.* 275-289.

29. CHU SY., KIM SY., SCHMID CH., DIETZ PM., CALLAGHAN WM., LAU J., CURTIS KM. (2007) Maternal obesity and risk of cesarean delivery: a meta-analysis. *Obes Rev.* 8(5): 385-394.
30. CINDROVA-DAVIES T., YUNG HW., JOHNS J., SPASIC-BOSCOVIC O., KOROLCHUK S., JAUNIAUX E., BURTON GJ., CHARNICK-JONES DS. (2007) Oxidative stress, gene expression, and protein changes induced in the human placenta during labor. *Am J Pathol.* 171(4):1168-1179.
31. CINO M., DEL MAESTRO RF. (1989) Generation of hydrogen peroxide by grain mitochondria: the effect of reoxygenation following postdecapitative ischemia. *Arch Biochem Biophys.* 269:623-638.
32. CLERC C. (1993) Les problèmes posés par le dosage de la tocophérolémie; résultats d'une enquête et d'un essai pluricentrique. *ISB.* 18:2-5.
33. COLLINS A. (1997) Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation and application. *Environ Mol Mutagen.* 30: 139-146.
34. COLLINS AR., BROWN J., BOGDANOV M. (2000) Comparison of different methods of measuring 8-oxoguanine as a marker of oxidative damage. *Free Radical Res.* 32: 333-341.
35. DAVI G., GUAGNANO MT., CIABATTONI G., BASILI S., FALCO A., MARINOPICCOLI M., NUTINI M., SENSI S., PATRONO C. (2002) Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA.* 288(16):2008-2014.
36. DEBIER C. (2007) Vitamin E during pre-and postnatal periods. *Vitam Horm.* 76:357-373.
37. DELATTRE J., GARDES M., JORE D. (2001) Stress oxydant et diabète sucré. *Journal de la société de biologie.* 195(4) :375-376.
38. DE LEENHEER AP., NELIS HJ., LAMBERT WE., BAUWENS RM. (1988) Chromatography of fat-soluble vitamins in clinical chemistry. *J Chromatogr.* 429:3-58.
39. DENNERY PA. (2007) Effects of oxidative stress on embryonic development. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 81(3):155-162.
40. DEVRIM E., TARHAN I., ERGÜDER IB., DURAK I. (2006) Oxidant/antioxidant status of placenta, blood, and cord blood samples from pregnant women supplemented with iron. *J Sos Gynecol Investig.* 13(7):502-5.
41. DIXIT A., GIRLING JC. (2008) Obesity and pregnancy. *J Obstet Gynecol.* 28(1):14-23.
42. DURACK-BOWN I. (1996) L'hyperlipidémie gestationnelle. *Sang, Thrombose, Vaisseaux.* 8(10) :635-641.

43. ESTERBAUER H. (1996) Estimation of peroxidative damage: a critical review. *Pathologie et biologie*. 44(1) :6-85
44. ESTERBAUER H., STRIEGL G., PUHL H., ROTHENEDER M. (1989). Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Biol Med*. 6 :67-75.
45. FAVIER A. (2003) Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
46. FAVIER A. (1997) Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annales de Biologie Clinique*. 55(1) :9-16.
47. FENSTER CP., WEINSIER RL., DARLEY-USMAR VM., PATEL RP. (2002) Obesity, aerobic exercise and vascular disease: the role of oxidant stress. *Obes Res*. 10(9):964-968.
48. FONTAINE P. (2003) Diabète gestationnel. *Revue du praticien*. 53 :1894-1899.
49. FOURNIE A. (1997) Le diabète gestationnel. Recommandations. *Diabète & Métabolisme*. 23:48-52.
50. FURUKAWA S., FUJITA T., SHIMABUKURO M., IWAKI M., YAMADA Y., NAKAJIMA Y., NAKAYAMA O., MAKISHIMA M., MATSUDA M., SHIMOMURA I. (2004) Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 114(12):1752-1761.
51. GALAN P., VITERI FE., BERTRAI S., CZERNICHOW S., FAURE H., ARNAUD J., RUFFIEUX D., CHENAL S., ARNAULT N., FAVIER A., ROUSSEL AM., HERCBERG S. (2005) Serum concentrations of beta-carotene, vitamin C and E, zinc and selenium are influenced by sex, age, diet, smoking status, alcohol consumption and corpulence in a general French adult population. *Eur J Clin Nutr*. 59(10):1181-1190.
52. GALILI O., VERSAEI D., SATTLER KJ., OLSON ML., MANNHEIM D., McCONNELL JP., CHADE AR., LERMAN LO., LERMAN A. (2007) Early experimental obesity is associated with coronary endothelial dysfunction and oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 292(2):904-911.
53. GALINIER A., CARRIERE A., FERNANDEZ Y., CARPENE C., ANDRE M., CASPAR-BAUGUIL S., THOUVENOT JP., PERIQUET B., PENICAUD L., CASTEILLA L. (2006) Adipose tissue proadipogenic redox changes in obesity. *J Biol Chem*. 281(18):12682-12687.

67. HANDELMAN GJ. (2000) Evaluation of Oxidant Stress in Dialysis Patients. *Blood Purif.* 18:343-349.
68. HANSEN LL., IKEDA Y., OLSEN GS. (1999) Insulin signaling is inhibited by micromolar concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Evidence for a role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in tumor necrosis factor alpha-mediated insulin resistance. *J Biol Chem.* 274:25078-25084.
69. HENRIKSEN T. (2007) Nutrition, weight and pregnancy. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 127(18):2399-2401.
70. HERBERT V., SHAW S., JAYATILLEK E. (1996) Vitamin C-driven free radical generation from iron. *J Nutr.* 126:1213S-1220S.
71. HERRERA E., AMUSQUIVAR E., LOPEZ-SOLDADO I., ORTEGA H. (2006) Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. *Horm Res.* 65(3):59-64.
72. HONG J., PARK EA., KIM YJ., LEE HY., PARK BH., HA EH., KONG KA., PARK H. (2007) Association of antioxidant vitamins and oxidative stress levels in pregnancy with infant growth during the first year of life. *Public Health Nutr.* 1-8.
73. HRACSKO Z., SAFAR Z., ORVOS H., NOVAK Z., PAL A., VARGA IS. (2007) Evaluation of oxidative stress markers after vaginal delivery or cesarean section. *In Vivo.* 21(4):703-706.
74. JACOTA SK., DANI HM. (1982) A new colorimetric technique for estimation of vitamine C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry.* 127:178-182.
75. JAESCHKE H. (1995) Mechanism of oxidant stress-induced acute tissue injury. *Proc Soc Exp Biol Med.* 209:104-111.
76. JEANRENAUD B. (1992) Physiopathologie des obésités, du diabète non insulino-dépendant et de leurs complications métaboliques. Editions techniques- *Encyclopédie Médico-chirurgicale* (Paris, France), Endocrinologie-Nutrition, 10506 F<sup>10</sup>, 4p
77. KAMIGAKI M., SAKAUE S., TSUJINO I., OHIRA H., IKEDA D., ITOH N., ISHIMARU S., OHTSUKA Y., NISHIMURA M. (2006) Oxidative stress provokes atherogenic changes in adipokine gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 339(2):624-632.
78. KEMALI Z. (2003) L'obésité au Maghreb. *Le guide de la médecine et de la santé.* p1-3.
79. KHALIL A. (2002) Mécanisme moléculaire de l'effet protecteur de la vitamine E dans l'athérosclérose. *Can J Physiol Pharmacol.* 80(7): 662-669.
80. KIEL DW., DODSON EA., ARTAL R., BOEHMER TK., LEET TL. (2007) Gestational weight gain and pregnancy outcomes in obese women: how much is enough?. *Obstet Gynecol.* 110(4):752-758.

93. LEVINE RL., WEHR N., WILLIAMS JA., STADTMAN ER., SHACTE<sup>R</sup> E. (2000) Determination of Carbonyl Groups in Oxidized Proteins. *Methods molecular biology*. 99:15-24.
94. MADORE F. (2004) Biomarqueurs du Stress Oxydatif. *Société de la revue Médecine sciences*. 20(12):1-10.
95. MAECHLER P., JORNOT L., WOLLHEIM CB. (1999) Hydrogen peroxide alters mitochondrial activation and insulin secretion in pancreatic beta-cells. *J Biol Chem*. 274:27905-27913.
96. MAYNE ST. (2003) Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr*. 133:933 S-940S.
97. MAZURKIEWICS JC., WATTS GF., SLAVIN BM., LOWRY C, KOUKKOU E. (1994) Serum lipids, lipoproteins and apolipoproteins in pregnant non-diabetic patients. *J Clin Pathol*. 47: 728-31.
98. MCFARLANE CM., TSAKALAKOS N. (1988) The extended Pedersen hypothesis. *Clin Physiol Biochem*.6:68-73.
99. MERCIER J. (2001) Muscle périphérique et maladies métaboliques. *Revue des maladies respiratoires*. 18(2) :224.
100. MERZOUK H., MEGHELLI-BOUCHENAK M., LOUKIDI B., PROST J., BELLEVILLE J. (2000) Impaired serum lipids and lipoproteins in fetal macrosomia related to maternal obesity. *Biology of the Neonate*. 77:17-24.
101. MICALI N., TREASURE J., SIMONOFF E. (2007) Eating disorders symptoms in pregnancy: A longitudinal study of women with recent and past eating disorders and obesity. *J Psychosom Res*. 63(3):297-303.
102. MIGHTY HE., FAHEY AJ. (2007) Obesity and pregnancy complications. *Curr Diab Rep*. 7(4):289-294.
103. MILNE DB., BOTNEN J. (1986) Retinol,  $\alpha$  tocopherol, lycopene and  $\alpha$  and  $\beta$  carotene simultaneously determined in plasma by isocratic liquid chromatography. *Clin Chem*. 32:874-876.
104. MIWA I, ICHIMURA N., SUGIURA M. (2000) Inhibition of glucose-induced insulin secretion by 4-hydroxy 2-nonenal and other lipid peroxidation products. *Endocrinology*. 141:2761-2772.
105. MOREL Y., BAROUKI R. (1999) Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*. 3:481-496.

106. MUELLER A., KOEBNICK C., BINDER H., HOFFMANN I., SCHILD RL., BECKMANN MW., DITTRICH R. (2005) Placental defence is considered sufficient to control lipid peroxidation in pregnancy. *Med Hypotheses*. 64(3):553-557.
107. MUNDY AL., HAAS E., BHATTACHARYA I., WIDMER CC., KRETZ M., BAUMANN K., BARTON M. (2007) Endothelin stimulates vascular hydroxyl radical formation: effects of obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 293(6): R2218-2224.
108. MYATT L., CUI X. (2004) Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol*. 122(4):369-382.
109. NEARY RH., KILBY MD., KUMPATULA P., GAME FL., BHATNAGAR D., DIRRINGTON PN., O'BRIEN S. (1995) Fetal and maternal lipoprotein metabolism in human pregnancy. *Clin Sci*. 88:311-318.
110. NEGRE-SALVAYRE A., HIRTZ C., CARRERA G. (1997) A role of uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. *FASEB J*. 11:809-815.
111. NOHR EA., BECH BH., DAVIES MJ., FRYDENBERG M., HENRIKSEN TB., OLSEN J. (2005) Pregnancy obesity and fetal death: a study within the Danish National Birth Cohort. *Obstet Gynecol*. 106(2):250-259.
112. NOUROOZ- ZADEH J., LING KLE, WOLFF SP. (1996) Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxydes in plasma. *Biochem J*. 313:781-786.
113. NOVELLI JP. (1997) Role of free radicals in septic choc. *J Physiol Pharmacol*. 48: 517-527.
114. OMS (2003) Prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale. *Rapport d'une consultation de l'OMS*. N°:854(498 pages).
115. PATIL SB., KODLIWADMATH MV., KODLIWADMATH SM. (2007) Role of lipid peroxidation and enzymatic antioxidants in pregnancy-induced hypertension. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 34(4):239-241.
116. PERKINS AV. (2006) Endogenous anti-oxidants in pregnancy and preeclampsia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 46(2):77-83.
117. PINCEMAIL J., LECOMTE J., COLLART E., CASTIAUX JP., DEFRAIGNE JO. (2003) Stress oxydant, antioxydant et exercice physique. *Médecine Interne*. 8:56.
118. PINCEMAIL J., MEURISSE M., LIMET R., DEFRAIGNE JO. (1999) L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour la médecine. *Vaisseaux, cœur, poumons*. 4(5) :1-7.

119. PORTE D., SEELEY RJ., WOODS SC., BASKIN DG., FIGLEWICZ DP., SCHWARTZ MW. (1998) Obesity, diabetes and the central nervous system. *Diabetologia*. 41:89-91.
120. RAATIKAINEN K., HEISKANEN N., HEINONEN S. (2006) Transition from overweight to obesity worsens pregnancy outcome in a BMI-dependent manner. *Obesity*. 14(1):165-171.
121. REHMAN A., NOUROOZ J., MÖLLER W. (1999) Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *FEBS Lett*. 448:120-122.
122. REILLY M. (1996) Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circul*. 94:19-25.
123. ROBLES R., PALOMINIO N., POBLES A. (2001) Oxidative stress in the neonate. *Early Human Development*. 65:75-81.
124. ROCK E. (2003) Stress oxydant, micronutriments et santé. *Université d'été de Nutrition, Clermont Ferrand*. 37-42.
125. ROVAMO L., TASKINEN MR., KURSIS T., NIKKILA E A., EHNHOLM C., RAIVIO KO. (1984) Postheparin lipase activities and plasma lipoproteins in newborn infants. *Ped Res*. 18:642-647.
126. RUDICH A., TIROSH A., POTASHNIK R. (1999) Lipoic acid protect against oxidative stress induced impairment in insulin stimulation of protein kinase B and glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia*. 42:949-957.
127. SÖDERGREN E., NOUROOZ-ZADEH J., BERGLUND L., VESSBY B. (1998) Re-evaluation of the ferrous oxidation in xylenol orange assay for the measurement of plasma lipid hydroperoxydes. *Elsevier Sciences*. 1-10.
128. STABLO-BOLTRI (2008) Prévalence du surpoids et de l'obésité de l'adulte jeune en médecine générale: L'étude SUPRA. *Thèse de doctorat en médecine, Université Claude Bernard, Lyon*. 75p.
129. STACEWICZ-SAPUNTZAKIS M., PHYLLIS E. BOWEN, WALTER KIKENDALL J., BURGESS M. (1987) Simultaneous determination of serum retinol and various carotenoids: their distribution in middle-aged men and women. *Journal of micronutrient Analysis*. 3:27-45.
130. STEGHENS JP., LYAN B., LE MOEL G., FAYOL V., FAURE H., DUBOIS F., NABET F. (2000) Dosage des caroténoïdes par chromatographie liquide haute performance: des difficultés aux solutions. *Ann Biol. Clin*. 58:327-335.

- 131.** THEROND P. (2006) Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, AND) par le stress oxydant. *Elsevier Masson SAS*. 64(6) :383-389.
- 132.** TIROSH A., POTASHNIK R., BASHAN N., RUDICH A. (1999) Oxidative stress disrupts insulin-induced cellular redistribution of insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase in 3T3-L1 adipocytes. A putative cellular mechanism for impaired protein kinase B activation and GLUT4 translocation. *J Biol Chem*. 274:10595-10602.
- 133.** TURRENS JF., ALEXANDRE A., LEHNINGER AL. (1985) Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys*. 237:408-414.
- 134.** VALKONEN M., KUUSI T. (1997) Spectrophotometric assay for total peroxy radical-trapping antioxidant potential in human serum. *J Lipid Res*. 38:823-833.
- 135.** VERIT FF., EREL O., SAV M., CELIK N., CADIRCI D. (2007) Oxidative stress is associated with clinical severity of nausea and vomiting of pregnancy. *Am J Perinatol*. 24(5):283-289.
- 136.** VINCENT HK., INNES KE., VINCENT KR. (2007) Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab*. 9(6):813-839.
- 137.** VÎRGOLICI B., MOHORA M., STOIAN I., LIXANDRU D., GAMAN L., PAVELIU F. (2005) A comparative oxidative stress study-obesity with and without diabetes mellitus. *Rom J Intern Med*. 43(3-4):261-268.
- 138.** WANG Y., WALSH SW. (1996) Antioxidant activities and mRNA expression of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in normal and preeclamptic placentas. *J Soc Gynecol Invest*. 3:179-184.
- 139.** WATKINS ML., RASMUSSEN SA., HONEIN MA., BOTTO LD., MOORE CA. (2003) Maternal obesity and risk for birth defects. *Pediatrics*. 111(5Part 2):1152-1158.
- 140.** WAYNER DDM., BURTON GW., INGOLD KO., LOCKE S. (1985) Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capacity of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Lett*. 187: 33-37.
- 141.** WEINBERGER B., NISAR S., ANWAR M., OSTFELD B., HEGYI T. (2006) Lipid peroxidation in cord blood and neonatal outcome. *Pediatr Int*. 48(5):479-783.
- 142.** ZAMAN Z., FIELDEN P., FROST PG. (1993) Simultaneous determination of vitamins A and E and carotenoids in plasma by reversed-phase HPLC in Elderly and younger subjects. *Clinical chemistry*. 39 (1). 2229-2234.

## **ANNEXES**

## Description des méthodes utilisées

### 1. Précipitation de la fraction LDL

#### • Réactifs et solutions nécessaires :

##### ▪ Réactif de précipitation des LDL:

- Héparine (100000 U/L)
- Citrate trisodique 64 mM /L (pH= 5,08) : Acide citrique (0,1 M), citrate disodique (0,1M), HCl pour ajuster le pH.

##### ▪ Solution de solubilisation :

- Citrate disodique (1M),
- Eau physiologique NaCl (150Mm/L).

#### • Mode opératoire :

- 300µl de plasma et ajouter 3mL de réactif de précipitation,
- Mélanger et incuber pendant 15 mn à T° ambiante. Centrifuger 20 min à 4000t/min.
- Eliminer le surnageant puis resuspendre le culot dans 300 µl de solution de solubilisation. Vortexer.

### 2. Dosage des Caroténoïdes et des vitamines A et E (ZAMAN et al., 1993)

- Mettre 200µl de plasma dans un tube en verre et ajouter 100µl de standard interne : Tocol à 5%, qui correspond à 5µg de tocol / 100µl d'éthanol pour 200µl de plasma (20 ml de solution mère tocol : 50µg / ml d'éthanol glacial -20°C), permettant la précipitation des protéines.
- Vortexer pendant 10 secondes et ajouter 100µl de L-acide ascorbique à 1% (20 ml de solution mère d'acide ascorbique à 1 g/ 100 ml d'éthanol), il joue un rôle antioxydant.
- Le mélange est vortexer pendant 30 secondes et extrait par 2 ml d'hexane contenant 0.01 BHT (0.01g de BHT, antioxydant pour le solvant, dans 100 ml d'hexane).
- Vortexer pendant 1min et centrifuger à 3000 t/min pendant 5min pour séparer les phases. La phase supérieure est reprise soigneusement dans un tube (répéter 2 fois l'extraction).
- L'hexane est évaporé sous vide grâce à un évaporateur pendant 15 min. le résidu est repris dans 50µl de diéthyl éther et complété avec 150µl de la phase mobile méthanol/eau 98/2 V/V. Les tubes doivent être laissés dans la glace pour éviter toute évaporation avant le passage en HPLC.
- 10µl de ce mélange sont injectés dans la colonne du chromatographe et la masse du rétinol présente dans l'échantillon est calculée comme suit :

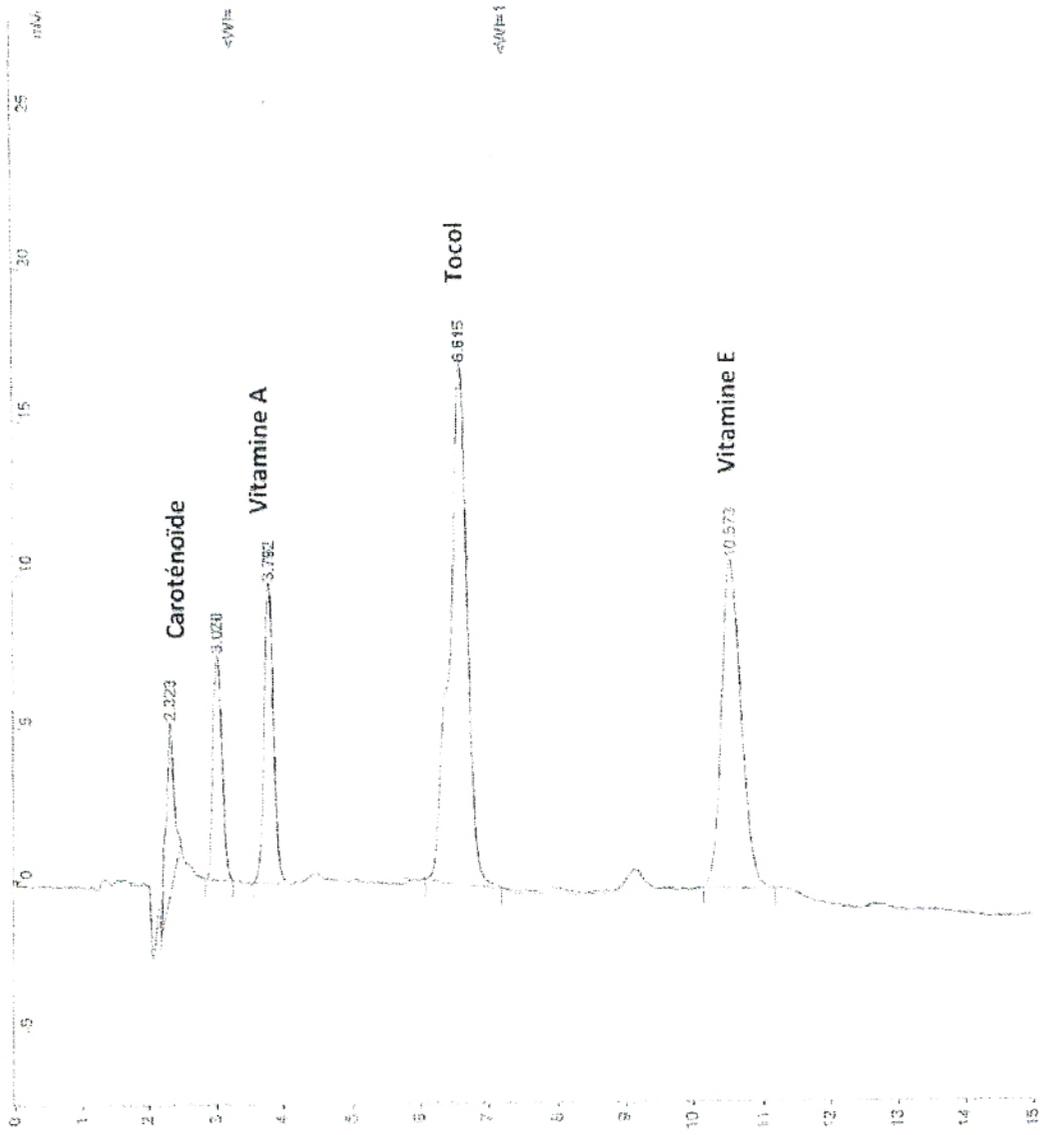
Masse du rétinol = surface du pic du rétinol / surface du pic rétinyl acétate x masse de rétinyl acétate mis dans les échantillons.

• **Conditions expérimentales de la HPLC**

- Phase stationnaire : silice greffé,
- Colonne : C18; HP ODS Hypersil C18 ; 200 mm x 4,6 mm; température 35°C,
- Phase mobile : méthanol / eau (98/2), débit 1ml / min.
- Spectres d'absorption : voir tableau suivant

<b>Vitamines</b>	<b>Réponse spectrale</b>	<b>Temps de sortie</b>
Vitamine E	292 nm	5 minutes
Vitamine A	325 nm	2 minutes
Caroténoïdes	450 nm	15 minutes

A partir des chromatogrammes obtenus (figure A1), les pics correspondants aux différentes vitamines sont identifiés et les surfaces servent aux différents calculs.



**Exemple d'un chromatogramme de l'HPLC des vitamines A, E et caroténoïdes.**

#### 4. Dosage des hydroperoxydes plasmatiques, érythrocytaires et placentaires (Méthode de Nourooz-Zadeh et al., 1996)

- **Réactifs et solutions nécessaires**

- **Réactif de FOX**

- dans un bécher, dissoudre 9,8 g de sulfate d'ammonium ferrique dans 10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (250 mmol/L);
- Ajouter 90 ml de méthanol et mélanger ;
- Ajouter ensuite 7,6 g de Xylénol orange et bien mélanger la solution obtenue. Conserver à l'abri de la lumière.

- **Mode opératoire**

Prévoir 2 tubes pour chaque échantillon :

- *Tube blanc* : 90 µl d'H<sub>2</sub>O distillée, 10 µl méthanol.
- *Tube test* : 90 µl plasma ou lysat érythrocytaire ou homogénat placentaire, 10 µl méthanol.
- Vortexer et incuber les 2 tubes 30 min à température ambiante ;
- Ajouter dans les 2 tubes 900 µl réactif Fox. Incuber pendant 30 min à température ambiante, puis centrifuger à 6000 t/min pendant 10 min ;
- Lire la DO du surnageant au spectrophotomètre contre le blanc (H<sub>2</sub>O distillée) à 560 nm ;
- Calculer la différence : DO.test – DO.blanc ;
- Calculer la concentration des hydroperoxydes en utilisant le coefficient d'extinction :

$\epsilon = 4,4 \cdot 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Par l'équation suivante :

$$C = \text{DO} / \epsilon \text{ (Reporter les résultats en } \mu\text{mol/L).}$$

#### 5. Dosage des protéines carbonylées (Méthode de Levine et al., 1990)

- **Réactifs et solutions nécessaires**

- **Solution d'acide trichloroacétique (TCA) à 500g/L** : Dans un bécher, mettre 5 g de TCA dans 10 ml d'H<sub>2</sub>O distillée.
- **Solution d'acide chlorhydrique (HCl) 2mol/L** : dans un bécher, mettre 16,5 ml d'HCl à 37,5% et compléter à 100 ml par l'H<sub>2</sub>O distillée.
- **Solution de 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH)** : dans un bécher, mettre 0,2 g de DNPH dans 100 ml de HCl à 2 mol/l.
- **Solution de NaOH 2M** : préparer 8 g de NaOH dans 100 ml d'eau distillée.

- **Mode opératoire**

Prévoir 2 tubes pour chaque échantillon :

- *Tube blanc* : 50 µl plasma ou de lysat érythrocytaire ou homogénat placentaire, et 1 ml de HCl 2 mol/L ; vortexer.
- *Tube test* : 50 µl plasma ou de lysat érythrocytaire ou homogénat placentaire, et 1 ml de DNPH ; vortexer.
- Incuber pendant 1h à T° ambiante ;
- Ajouter dans chaque tube 200 µl de TCA (500g/L) et centrifuger à 3000 t/min pendant 10 min ;
- Eliminer le surnageant et solubiliser le culot dans 2 ml de NaOH à 2M ;
- Lire la DO au spectrophotomètre contre le blanc (H<sub>2</sub>O distillée) à 350 nm et à 375 nm.
- Calculer la différence : DO.test – DO.blanc pour chaque longueur d'onde puis faire la moyenne entre les DO à 350 nm et celles à 375 nm.
- Calculer la concentration des protéines carbonylées en utilisant le coefficient d'extinction  $\epsilon = 21,5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Par l'équation suivante :

$$C = \text{DO} / \epsilon \text{ (Reporter les résultats en } \mu\text{mol/L).}$$

## 6. Dosage du malondialdéhyde (MDA) plasmatique, érythrocytaire et placentaire (Méthode Méthode de Nourooz-Zadeh et al., 1996)

### • Réactifs et solutions nécessaires

- *Solution d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,67%* : dans un bécher, mettre 0,67 g de TBA dans 100 ml d'H<sub>2</sub>O distillée.
- *Solution d'acide trichloroacétique (TCA) à 20%* : dans un bécher, mettre 20 g de TCA dans 100 ml d'H<sub>2</sub>O distillée.

### • Mode opératoire

- 100 µl de plasma ou de lysat érythrocytaire ou homogénat placentaire ;
- 100 µl TBA 0,67% ;
- 500 µl TCA 20% ;
- Vortexer et incuber au bain-marie à 100°C pendant 20 min ;
- Laisser refroidir puis centrifuger à 6000 t/min pendant 10 min ;
- Lire la DO du surnageant au spectrophotomètre contre le blanc (H<sub>2</sub>O distillée) à 532 nm.
  - Calculer la concentration du MDA en utilisant le coefficient d'extinction

$\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Par l'équation suivante :

$$C = \text{DO} / \epsilon. \text{ (Reporter les résultats en } \mu\text{mol/L).}$$

## 7. Dosage de l'activité de la Catalase (Méthode d'Aebi, 1974)

### • Réactifs et solutions nécessaires

- *Eau physiologique* : NaCl à 9‰.
- *Solution de peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) à 30 mmol/L* : 0,34 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  dans 100 ml d' $\text{H}_2\text{O}$  physiologique.
- *Solution d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 2 N* : mélanger 51,5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (95 %) à 500 ml d' $\text{H}_2\text{O}$  distillée.
- *Réactif Titanium oxyde sulfate ( $\text{TiOSO}_4$ )* : dissoudre 1,7 g de  $\text{TiOSO}_4$  dans 500 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N ; faire bouillir pendant 10 min en couvrant le récipient. Laisser reposer une nuit, puis filtrer la solution et la conserver à l'abri de la lumière à  $T^\circ$  ambiante.

### • Mode opératoire

- Le lysat érythrocytaire est dilué au 1/150 dans de l' $\text{H}_2\text{O}$  physiologique.
- 500  $\mu\text{l}$  plasma ou lysat érythrocytaire ou homogénat placentaire;
- 500  $\mu\text{l}$  d' $\text{H}_2\text{O}_2$  à 30 mmol/L ;
- 500  $\mu\text{l}$  d' $\text{H}_2\text{O}$  physiologique.
- *Tube blanc* : 1.5 ml d' $\text{H}_2\text{O}$  physiologique
- Vortexer et incuber 5 min à  $T^\circ$  ambiante ;
- Ajouter 500  $\mu\text{l}$   $\text{TiOSO}_4$  et vortexer ; Lire la DO au spectrophotomètre contre le blanc ( $\text{H}_2\text{O}$  distillée) à 420 nm.

### • Gamme étalon

	10 mmol/L	0,5 mmol/L	1 mmol/L	1,5 mmol/L	2 mmol/L
$\text{H}_2\text{O}_2$ (30 mmol/L)	1 ml	50 $\mu\text{l}$	100 $\mu\text{l}$	150 $\mu\text{l}$	200 $\mu\text{l}$
$\text{H}_2\text{O}$ physiologique	2 ml	2,95 ml	2,9 ml	1,85 ml	1,8 ml
Réactif $\text{TiOSO}_4$	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

### • Calcul de l'activité de la Catalase

- On trace la courbe de la gamme étalon :  $\text{DO} = f(\text{H}_2\text{O}_2)$ , on obtient une droite d'où on va projeter les DO des échantillons pour avoir les concentrations d'  $\text{H}_2\text{O}_2$  restantes.
- Le calcul de l'activité de la catalase se fait comme suit :

$$A = \log \text{ concentration de départ} - \log \text{ concentration restante}$$

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

- Volume de l'incubation = 1,5 ;
  - Dilution 1/3 pour la préparation du lysat érythrocytaire, puis 1/50 ;
  - Volume de l'échantillon = 0,5 ml ;
  - Temps de l'incubation = 5 min.
- Les formules sont donc :
- **Activité de la catalase plasmatique** =  $A \times 1,5 / 0,5 / 5$  (U/ml).
  - **Activité de la catalase érythrocytaire** =  $A \times 1,5 \times 150 / 0,5 / 5$  (U/ml).
  - **Activité de la catalase placentaire** =  $[A \times 1,5 / 0,5 / 5 \text{ (U/ml)}] \times 9$  (U/g).

## 8. Dosage des diènes conjugués (*Méthode d'ESTERBAUER, et al., 1989*)

### • Réactifs et solutions nécessaires

- Eau physiologique ;
- **Sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ) à 100  $\mu\text{M}$**  : 0.16 g de  $\text{CuSO}_4$  dans 1L d'eau distillée, diluer cette solution au 1/10.

### • Mode opératoire

- 10  $\mu\text{l}$  plasma, 300  $\mu\text{l}$   $\text{CuSO}_4$ , 2690  $\mu\text{l}$  d'eau physiologique. Vortexer.
- Lire la DO, contre le blanc (eau physiologique), à 234 nm toutes les 10 min pendant 6 h.
- **Calcul** : Les diènes conjugués sont estimés en utilisant le coefficient d'extinction ( $\epsilon = 29,50 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) à 234 nm. Les variations de l'absorbance des diènes conjugués (DO) en fonction du temps, permettent de déterminer trois phases consécutives :
  - Phase de latence,
  - Phase de propagation,
  - Phase de décomposition.

A partir de la courbe cinétique, plusieurs marqueurs de l'oxydation *in vitro* des lipoprotéines plasmatiques sont déterminés :

- T lag (minutes): se calcule sur la courbe cinétique, en projetant la  $\text{DO}_{t(0)}$  sur la pente, puis sur l'axe des X,
- Taux initial des diènes conjugués ( $\mu\text{mol/l}$ ),
- Taux maximum des diènes conjugués ( $\mu\text{mol/l}$ ),
  - T max (minutes): il s'agit du temps nécessaire pour obtenir l'oxydation maximale, il se calcule sur la courbe en projetant  $\text{DO}_{\text{max}}$  sur la pente, puis sur l'axe des X.

## 9. Détermination du pouvoir antioxydant ORAC (Méthode BLACHE et PROST, 1992)

### • Réactifs et solutions nécessaires

- Eau physiologique ;
- Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 30% ;
- **CuSO<sub>4</sub> à 2 mM** : 0.32 g CuSO<sub>4</sub> dans 1l d'eau distillée.
- **Vitamine C (400 µM)** : 7.045 mg d'acide ascorbique dans 100 ml d'eau distillée.
- **Traitement des GR** : Centrifuger le sang du donneur à 2000 t/min pendant 10 min et éliminer le plasma, puis laver délicatement 1 volume du culot avec 2 volumes d'eau physiologique (sans lyser les GR), puis centrifuger à nouveau à 2000 t/min pendant 5 min.

### • Mode opératoire

#### ▪ Tube blanc :

- On ajoute à 1 ml de GR : 20 µl de CuSO<sub>4</sub> (2 mM), 20 µl d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %) et 2 ml d'eau physiologique, puis remuer délicatement ;
- Incuber 5 min à T° ambiante, centrifuger pendant 5min à 2000 t/min ;
- Lire la DO à 450 nm du surnageant puis le remettre dans le tube,
- Répéter cette opération toutes les 10 min pendant 1 h.

#### ▪ Tube étalon :

- On ajoute à 1 ml de GR : 20 µl de CuSO<sub>4</sub> (2 mM), 20 µl d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %), 2 ml d'eau physiologique, et 20 µl de vitamine C (400 µM) puis on remue délicatement ;
- On incube 5 min à T° ambiante et on centrifuge pendant 5min à 2000 t/min ;
- On lit la DO à 450 nm du surnageant puis on le remet dans le tube. Cette opération est répétée toutes les 10 min pendant 1 h (t<sub>5</sub>, t<sub>10</sub>, t<sub>20</sub>, t<sub>30</sub>, t<sub>40</sub>, t<sub>50</sub>, t<sub>60</sub>).

#### ▪ Tube test :

- On ajoute à 1 ml de GR, 20 µl de CuSO<sub>4</sub> (2 mM), 20 µl d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %), 2 ml d'eau physiologique, et 20 µl de plasma à tester puis on remue délicatement,
- On incube 5 min à T° ambiante et on centrifuge pendant 5min à 2000t/min,
- On lit la DO à 450 nm du surnageant qui est remis dans le tube. Cette opération est répétée toutes les 10 min pendant 1 h (t<sub>5</sub>, t<sub>10</sub>, t<sub>20</sub>, t<sub>30</sub>, t<sub>40</sub>, t<sub>50</sub>, t<sub>60</sub>).
- **Calcul** : Calcul d'une unité ORAC :  $\Delta DO (DO_{\text{blanc}} - DO_{\text{étalon}})$  à t<sub>5</sub>, t<sub>10</sub>, t<sub>20</sub>, t<sub>30</sub>, t<sub>40</sub>, t<sub>50</sub>, t<sub>60</sub> et faire la moyenne de ces dernières :  $1 \text{ U ORAC} = \sum (\Delta DO \text{ à } t_5, t_{10}, t_{20}, t_{30}, t_{40}, t_{50}, t_{60}) / 7$ .

$$\text{ORAC}_{\text{Echantillon}} = \left[ \sum (DO_{\text{Blanc}} - DO_{\text{Echantillon}}) / \text{nombre DO} \right] / \left[ \sum (DO_{\text{Blanc}} - DO_{\text{Etalon}}) / \text{nombre DO} \right] \times 1 \text{ U ORAC.}$$

**Tableau A1 : Teneurs plasmatiques en glucose, protéines totales, urée et créatinine chez les mères et leurs nouveau-nés**

Paramètres	Témoins	Obèses
<b><u>Mères :</u></b>		
Glucose (g/l)	0.90 ± 0.08	1.23 ± 0.07*
Protéines totales (g/l)	71.52 ± 4.10	68.40 ± 8.49
Urée (g/l)	0.27 ± 0.04	0.30 ± 0.06
Créatinine (mg/l)	8.83 ± 0.61	9.62 ± 0.52
<b><u>Nouveau-nés :</u></b>		
Glucose (g/l)	0.62 ± 0.04	0.67 ± 0.05
Protéines totales (g/l)	62 ± 4.91	58.80 ± 9.07
Urée (g/l)	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.03
Créatinine (mg/l)	6.24 ± 0.37	6.49 ± 0.48

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le test « t » de *Student* après analyse de variance :

- Mères obèses comparées aux mères témoins : \*P < 0.05.
- Nouveau-nés comparés aux nouveau-nés témoins ; NS : non significatif.

**Tableau A2 : Teneurs plasmatiques en lipides chez les mères et leurs nouveau-nés**

Paramètres	Témoins	Obèses
<b><u>Mères :</u></b>		
Cholestérol total (g/l)	1.89 ± 0.37	1.96 ± 0.38
LDL-cholestérol (g/l)	0.94 ± 0.05	1.02 ± 0.06
Triglycérides (g/l)	1.42 ± 0.09	1.86 ± 0.06*
Phospholipides (g/l)	2.87 ± 0.32	2.73 ± 0.29
<b><u>Nouveau-nés :</u></b>		
Cholestérol total (g/l)	0.53 ± 0.14	0.46 ± 0.13
LDL-cholestérol (g/l)	0.21 ± 0.03	0.25 ± 0.04
Triglycérides (g/l)	0.40 ± 0.06	0.34 ± 0.07
Phospholipides (g/l)	1.36 ± 0.15	1.40 ± 0.14

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le test « t » de *Student* après analyse de variance :

- Mères obèses comparées aux mères témoins : \*P < 0.05.
- Nouveau-nés comparés aux nouveau-nés témoins ; NS : non significatif.

**Tableau A3 : Teneurs plasmatiques en Vitamines (A, C, E, et caroténoïdes) chez les mères et leurs nouveau-nés**

Paramètres	Témoins	Obèses
<b><u>Mères :</u></b>		
Vitamine C (µg/ml)	18.59 ± 7.72	9.09 ± 3.21**
Vitamine E (µg/ml)	39.62 ± 1.24	20.13 ± 3.12*
Vitamine A (µg/ml)	57.10 ± 8.24	72.89 ± 7.12*
Caroténoïdes (µg/ml)	69.98 ± 10.59	112.30 ± 12.34 ***
<b><u>Nouveau-nés :</u></b>		
Vitamine C (µg/ml)	12.09 ± 4.52	11.50 ± 4.46
Vitamine E (µg/ml)	2.72 ± 1.32	2.31 ± 1.20
Vitamine A (µg/ml)	44.62 ± 7.50	85.65 ± 7.36 ***
Caroténoïdes (µg/ml)	74.55 ± 11.64	99.88 ± 12.55**

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le test « t » de *Student* après analyse de variance :

- Mères obèses comparées aux mères témoins : \* P < 0.05 ; \*\* P < 0.01 ; \*\*\* P < 0.001.
- Nouveau-nés comparés aux nouveau-nés témoins : \*\* P < 0.01 ; \*\*\* P < 0.001.

**Tableau A4 : Pouvoir antioxydant total (ORAC) et activité antioxydante de la catalase plasmatique et érythrocytaire chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Paramètres	Témoins	Obèses
<b><u>Mères :</u></b>		
ORAC (UI)	2.30 ± 0.89	2.53 ± 0.84
Catalase plasmatique (U/min/ml)	1.10 ± 0.12	0.90 ± 0.14
Catalase érythrocytaire (U/min/ml)	67.44 ± 6.71	68.55 ± 7.97
<b><u>Nouveau-nés :</u></b>		
ORAC (UI)	2.12 ± 0.87	2.23 ± 0.60
Catalase plasmatique (U/min/ml)	0.26 ± 0.09	0.22 ± 0.01
Catalase érythrocytaire (U/min/ml)	35.41 ± 6.72	33.43 ± 10.67

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le test « t » de *Student* après analyse de variance :

- Mères obèses comparées aux mères témoins ; NS : non significatif.
- Nouveau-nés comparés aux nouveau-nés témoins ; NS : non significatif.

**Tableau A5 : Marqueurs du statut oxydant chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Paramètres	Témoins	Obèses
<b><u>Mères :</u></b>		
MDA plasmatique (µmol/l)	1.48 ± 0.22	1.66 ± 0.20
MDA érythrocytaire (µmol/l)	7.64 ± 0.89	8.33 ± 1.25
HP plasmatiques (µmol/l)	1.30 ± 0.35	2.44 ± 0.39*
HP érythrocytaires (µmol/l)	8.47 ± 1.59	19.85 ± 1.58**
PC plasmatiques (µmol/l)	1.66 ± 0.21	1.28 ± 0.19
PC érythrocytaires (µmol/l)	0.46 ± 0.08	0.37 ± 0.09
<b><u>Nouveau-nés :</u></b>		
MDA plasmatique (µmol/l)	1.03 ± 0.18	1.34 ± 0.24
MDA érythrocytaire (µmol/l)	7.60 ± 1.21	8.72 ± 0.98
HP plasmatiques (µmol/l)	1.94 ± 0.29	3.06 ± 0.33*
HP érythrocytaires (µmol/l)	8.49 ± 1.05	11.52 ± 1.26*
PC plasmatiques (µmol/l)	0.85 ± 0.18	1.06 ± 0.11
PC érythrocytaires (µmol/l)	0.45 ± 0.06	0.46 ± 0.05

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le test « t » de *Student* après analyse de variance :

- Mères obèses comparées aux mères témoins : \* P < 0.05 ; \*\* P < 0.01.
- Nouveau-nés comparés aux nouveau-nés témoins : \* P < 0.05.

**Tableau A6 : Oxydation *in vitro* des lipoprotéines totales chez les mères et leurs nouveau-nés.**

Paramètres	Témoins	Obèses
<b><u>Mères :</u></b>		
DC initiaux (µmol/l)	3.36 ± 0.42	2.89 ± 0.59
DC max (µmol/l)	5.72 ± 0.81	6.38 ± 0.43
T Lag (min)	53.64 ± 6.82	38.64 ± 6.36*
T max (min)	165 ± 3.32	148.18 ± 2.28**
<b><u>Nouveau-nés :</u></b>		
DC initiaux (nmol/l)	2.81 ± 0.41	2.58 ± 0.23
DC max (nmol/l)	3.24 ± 0.35	3.23 ± 0.21
T Lag (min)	89.82 ± 5.71	60 ± 1.62 **
T max (min)	165.45 ± 9.44	135.45 ± 8.27***

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le test « t » de *Student* après analyse de variance :

- Mères obèses comparées aux mères témoins : \* P < 0.05 ; \*\* P < 0.01.
- Nouveau-nés comparés aux nouveau-nés témoins : \*\* P < 0.01 ; \*\*\* P < 0.001.

**Tableau A7 : Teneurs en protéines totales et en lipides du placenta.**

Paramètres	Témoins	Obèses
Protéines totales (mg/g)	270 ± 18	550 ± 18**
Cholestérol total (mg/g)	5.21 ± 0.56	3.59 ± 0.69**
Triglycérides (mg/g)	6.62 ± 0.49	9.95 ± 0.32*
Phospholipides (mg/g)	5.16 ± 0.34	5.38 ± 0.41

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le test « t » de *Student* après analyse de variance :

- Placenta des mères obèses comparée à celui des mères témoins : \* P < 0.05 ; \*\* P < 0.01.

**Tableau A8 : Marqueurs du statut oxydant / antioxydant du placenta.**

Paramètres	Témoins	Obèses
Vitamine C (µg/g)	74.43 ± 5.72	46.15 ± 3.16**
Vitamine E (µg/g)	219.66 ± 68.26	82.16 ± 10.10 ***
Vitamine A (µg/g)	594.66 ± 108.35	243.50 ± 53.58 ***
Caroténoïdes (µg/g)	428.61 ± 79.49	385.09 ± 78.80
MDA (µmol/g)	0.49 ± 0.02	0.62 ± 0.01*
HP (µmol/g)	1.40 ± 0.11	1.91 ± 0.15*
PC (µmol/g)	0.38 ± 0.05	0.73 ± 0.08**
Catalase (U/min/g)	3.78 ± 0.73	3.79 ± 0.53

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le test « t » de *Student* après analyse de variance :

- Placenta des mères obèses comparée à celui des mères témoins : \* P < 0.05 ; \*\* P < 0.01; \*\*\* P < 0.001.

**Tableau A9 : Corrélations des différents paramètres entre mères et nouveau-nés chez les témoins.**

Mères	Nouveau-nés
Protéines totales	Protéines totales (P = 0.55 ; NS)
Cholestérol total	Cholestérol total (P = 0.49; NS)
Triglycérides	Triglycérides (P = 0.06; NS)
Vitamine C	Vitamine C (P = 0.28; NS) MDA plasmatique (P = 0.15; NS) MDA érythrocytaire (P = - 0.24; NS) HP plasmatiques (P = - 0.37; NS) HP érythrocytaires (P = - 0.70; NS) PC plasmatiques (P = - 0.47; NS) PC érythrocytaires (P = 0.07; NS) DCi (P = 0.21; NS)
Vitamine E	Vitamine E (P = 0.36; NS) MDA plasmatique (P = 0.25; NS) MDA érythrocytaire (P = - 0.22; NS) HP plasmatiques (P = - 0.15; NS) <b>HP érythrocytaires (P = - 0.05 ; S)</b> PC plasmatiques (P = - 0.09; NS) PC érythrocytaires (P = 0.22; NS) DCi (P = - 0.49; NS)
Vitamine A	Vitamine A (P = - 0.06; NS) <b>Caroténoïdes (P = 0.001 ; S)</b> MDA plasmatiques (P = - 0.27; NS) MDA érythrocytaires (P = - 0.23; NS) HP plasmatiques (P = 0.31; NS) HP érythrocytaires (P = 0.33; NS) <b>PC plasmatiques (P = - 0.001; S)</b> <b>PC érythrocytaires (P = - 0.05; S)</b> DCi (P = - 0.27; NS)
Caroténoïdes	Caroténoïdes (P = 0.61; NS) Vitamine A (P = - 0.46; NS) MDA plasmatique (P = - 0.32; NS) MDA érythrocytaire (P = - 0.25; NS) HP plasmatiques (P = 0.18; NS) HP érythrocytaires (P = - 0.17; NS) PC plasmatiques (P = - 0.36; NS) PC érythrocytaires (P = 0.09; NS) DCi (P = 0.20; NS)
MDA plasmatique	MDA plasmatique (P = 0.75; NS) Vitamine C (P = 0.51; NS) Vitamine E (P = 0.22; NS) <b>Vitamine A (P = - 0.03 ; S)</b> Caroténoïdes (P = - 0.35; NS) ORAC (P = 0.40; NS)

	<p><b>CAT plasmatique (P = - 0.04 ; S)</b>  CAT érythrocytaire (P = - 0.14; NS)</p>
MDA érythrocytaire	<p>MDA érythrocytaire (P = 0.41; NS)  Vitamine C (P = - 0.21; NS)  Vitamine E (P = 0.53; NS)  Vitamine A (P = - 0.74; NS)  Caroténoïdes (P = 0.23; NS)  ORAC (P = - 0.19; NS)  CAT plasmatique (P = - 0.12; NS)  CAT érythrocytaire (P = - 0.08; NS)</p>
HP plasmatiques	<p>HP plasmatiques (P = 0.08; NS)  Vitamine C (P = 0.53; NS)  Vitamine E (P = 0.10; NS)  Vitamine A (P = 0.23; NS)  Caroténoïdes (P = -0.38; NS)  <b>ORAC (P = - 0.03 ; S)</b>  CAT plasmatique (P = - 0.12; NS)  CAT érythrocytaire (P = - 0.22; NS)</p>
HP érythrocytaires	<p>HP érythrocytaires (P = 0.20; NS)  Vitamine C (P = 0.09; NS)  Vitamine E (P = 0.21; NS)  <b>Vitamine A (P = - 0.01 ; S)</b>  Caroténoïdes (P = - 0.43; NS)  <b>ORAC (P = - 0.03 ; S)</b>  CAT plasmatique (P = 0.26; NS)  CAT érythrocytaire (P = - 0.13; NS)</p>
PC plasmatiques	<p>PC plasmatiques (P = 0.89; NS)  Vitamine C (P = - 0.07; NS)  Vitamine E (P = 0.13; NS)  <b>Vitamine A (P = - 0.03 ; S)</b>  Caroténoïdes (P = - 0.78; NS)  ORAC (P = - 0.15; NS)  CAT plasmatique (P = 0.23; NS)  CAT érythrocytaire (P = - 0.10; NS)</p>
PC érythrocytaires	<p>PC érythrocytaires (P = 0.09; NS)  Vitamine C (P = - 0.45; NS)  Vitamine E (P = - 0.43; NS)  <b>Vitamine A (P = - 0.05 ; S)</b>  Caroténoïdes (P = 0.56; NS)  <b>ORAC (P = - 0.05 ; S)</b>  CAT plasmatique (P = 0.39; NS)  CAT érythrocytaire (P = 0.16; NS)</p>
ORAC	<p>ORAC (P = 0.66; NS)  MDA plasmatique (P = 0.39; NS)  MDA érythrocytaire (P = - 0.29; NS)  HP plasmatiques (P = 0.38; NS)  HP érythrocytaires (P = - 0.39; NS)</p>

	PC plasmatiques (P = - 0.10; NS) PC érythrocytaires (P = - 0.29; NS) DC i (P = - 0.38; NS)
CAT plasmatique	CAT plasmatique (P = 0.45 ; NS) MDA plasmatique (P = - 0.23; NS) MDA érythrocytaire (P = 0.11; NS) HP plasmatiques (P = 0.08; NS) HP érythrocytaires (P = - 0.58; NS) PC plasmatiques (P = 0.11; NS) PC érythrocytaires (P = - 0.12; NS) DC i (P = 0.71; NS)
CAT érythrocytaire	CAT érythrocytaire (P = 0.08; NS) MDA plasmatique (P = - 0.35; NS) MDA érythrocytaire (P = 0.55; NS) HP plasmatiques (P = - 0.47; NS) HP érythrocytaires (P = - 0.19; NS) <b>PC plasmatiques (P = - 0.01 ; S)</b> <b>PC érythrocytaires (P = - 0.05 ; S)</b> DC i (P = 0.18; NS)
DC initiaux	DC initiaux (P = 0.37; NS) Vitamine C (P = - 0.25; NS) Vitamine E (P = 0.44; NS) Vitamine A (P = - 0.47; NS) Caroténoïdes (P = 0.19; NS) ORAC (P = - 0.40; NS) CAT plasmatique (P = 0.38 ; NS) CAT érythrocytaire (P = 0.15; NS)

**NS : non significatif**

**S : significatif à P < 0,05.**

**Tableau A10 : Corrélations des différents paramètres entre mères et nouveau-nés chez les obèses.**

Mères	Nouveau-nés
Protéines totales	Protéines totales (P = 0.81; NS)
Cholestérol total	Cholestérol total (P = - 0.17; NS)
Triglycérides	<b>Triglycérides (P = 0.04; S)</b>
Vitamine C	Vitamine C (P = 0.68; NS) MDA plasmatique (P = - 0.15; NS) MDA érythrocytaire (P = 0.28; NS) HP plasmatiques (P = - 0.20; NS) HP érythrocytaires (P = 0.43; NS) PC plasmatiques (P = - 0.10; NS) PC érythrocytaires (P = - 0.35; NS) DCi (P = - 0.27; NS)
Vitamine E	Vitamine E (P = - 0.49; NS) MDA plasmatique (P = 0.11; NS) MDA érythrocytaire (P = 0.63; NS) HP plasmatiques (P = 0.20; NS) HP érythrocytaires (P = 0.26; NS) PC plasmatiques (P = 0.21; NS) PC érythrocytaires (P = 0.47; NS) DCi (P = 0.37; NS)
Vitamine A	<b>Vitamine A (P = 0.04; S)</b> MDA plasmatique (P = 0.32; NS) MDA érythrocytaire (P = 0.54; NS) <b>HP plasmatiques (P = - 0.04 ; S)</b> HP érythrocytaires (P = 0.10; NS) PC plasmatiques (P = 0.12; NS) <b>PC érythrocytaires (P = - 0.03 ; S)</b> DCi (P = 0.29; NS)
Caroténoïdes	Caroténoïdes (P = 0.02; S) MDA plasmatique (P = 0.09; NS) MDA érythrocytaire (P = 0.21; NS) HP plasmatiques (P = - 0.09; NS) HP érythrocytaires (P = - 0.10; NS) PC plasmatiques (P = - 0.32; NS) PC érythrocytaires (P = - 0.35; NS) DCi (P = - 0.14; NS)
MDA plasmatique	<b>MDA plasmatique (P = 0.03 ; S)</b> Vitamine C (P = 0.15; NS) Vitamine E (P = 0.25; NS) Vitamine A (P = - 0.33; NS) Caroténoïdes (P = - 0.61; NS) ORAC (P = 0.06; NS) CAT plasmatique (P = - 0.08; NS) CAT érythrocytaire (P = 0.50; NS)

MDA érythrocytaire	MDA érythrocytaire (P = 0.50; NS) Vitamine C (P = 0.55; NS) Vitamine E (P = 0.24; NS) Vitamine A (P = - 0.20; NS) Caroténoïdes (P = - 0.50; NS) ORAC (P = 0.26; NS) CAT plasmatique (P = - 0.13; NS) CAT érythrocytaire (P = 0.17; NS)
HP plasmatiques	<b>HP plasmatiques (P = 0.02; S)</b> Vitamine C (P = 0.33; NS) Vitamine E (P = 0.06; NS) Vitamine A (P = - 0.15; NS) Caroténoïdes (P = 0.23; NS) ORAC (P = 0.17; NS) CAT plasmatique (P = 0.06; NS) CAT érythrocytaire (P = - 0.35; NS)
HP érythrocytaires	<b>HP érythrocytaires (P = 0.04 ; S)</b> Vitamine C (P = - 0.55; NS) Vitamine E (P = 0.10; NS) Vitamine A (P = - 0.18; NS) Caroténoïdes (P = 0.17; NS) ORAC (P = - 0.19; NS) CAT plasmatique (P = - 0.14; NS) CAT érythrocytaire (P = - 0.06; NS)
PC plasmatiques	PC plasmatiques (P = 0.65; NS) Vitamine C (P = - 0.58; NS) Vitamine E (P = 0.42; NS) Vitamine A (P = - 0.62; NS) Caroténoïdes (P = - 0.20; NS) <b>ORAC (P = - 0.04 ; S)</b> CAT plasmatique (P = 0.07; NS) CAT érythrocytaire (P = - 0.22; NS)
PC érythrocytaires	PC érythrocytaires (P = 0.37; NS) Vitamine C (P = 0.57; NS) Vitamine E (P = - 0.51; NS) Vitamine A (P = 0.76; NS) <b>Caroténoïdes (P = - 0.03 ; S)</b> ORAC (P = 0.10; NS) CAT plasmatique (P = - 0.58; NS) CAT érythrocytaire (P = 0.21; NS)
ORAC	ORAC (P = 0.40; NS) <b>MDA plasmatique (P = - 0.05 ; S)</b> MDA érythrocytaire (P = - 0.50; NS) HP plasmatiques (P = - 0.61; NS) HP érythrocytaires (P = - 0.60; NS) PC plasmatiques (P = - 0.47; NS) PC érythrocytaires (P = - 0.35; NS)

	DCi (P = - 0.77; NS)
CAT plasmatique	CAT plasmatique (P = - 0.22; NS) MDA plasmatique (P = 0.16; NS) MDA érythrocytaire (P = - 0.31; NS) HP plasmatiques (P = 0.56; NS) HP érythrocytaires (P = 0.37; NS) PC plasmatiques (P = - 0.37; NS) PC érythrocytaires (P = 0.51; NS) DCi (P = 0.11; NS)
CAT érythrocytaire	CAT érythrocytaire (P = 0.40; NS) <b>MDA plasmatique (P = - 0.04 ; S)</b> MDA érythrocytaire (P = - 0.16; NS) <b>HP plasmatiques (P = - 0.02 ; S)</b> HP érythrocytaires (P = - 0.07; NS) <b>PC plasmatiques (P = - 0.04 ; S)</b> PC érythrocytaires (P = - 0.06; NS) DCi (P = - 0.20; NS)
DC initiaux	DC initiaux (P = - 0.17; NS) Vitamine C (P = 0.34; NS) <b>Vitamine E (P = 0.04 ; S)</b> Vitamine A (P = 0.09; NS) Caroténoïdes (P = - 0.27; NS) ORAC (P = - 0.33; NS) CAT plasmatique (P = 0.21; NS) CAT érythrocytaire (P = 0.66; NS)

**NS : non significatif**

**S : significatif à P < 0,05.**

**Tableau A11 : Corrélations des différents paramètres entre placenta et nouveau-nés chez les témoins.**

<b>Placenta</b>	<b>Nouveau-nés</b>
Protéines totales	<b>Protéines totales (P = 0.04 ; S)</b>
Cholestérol total	Cholestérol total (P = 0.44; NS)
Triglycérides	Triglycérides (P = 0.37; NS)
Vitamine E	Vitamine E (P = 0.34; NS) MDA plasmatique (P = 0.45; NS) HP plasmatiques (P = 0.07; NS) PC plasmatiques (P = 0.36; NS)
Vitamine A	Vitamine A (P = - 0.38; NS) MDA plasmatique (P = - 0.38; NS) HP plasmatiques (P = - 0.14; NS) PC plasmatiques (P = 0.49; NS)
Caroténoïdes	Caroténoïdes (P = 0.39; NS) MDA plasmatique (P = 0.24; NS) HP plasmatiques (P = - 0.21; NS) PC plasmatiques (P = - 0.52; NS)
MDA	MDA plasmatique (P = - 0.35; NS) Vitamine E (P = 0.24; NS) Vitamine A (P = - 0.27; NS) <b>Caroténoïdes (P = - 0.02 ; S)</b> CAT plasmatique (P = - 0.06; NS)
HP	HP plasmatiques (P = 0.40; NS) Vitamine E (P = 0.08; NS) Vitamine A (P = - 0.09; NS) Caroténoïdes (P = - 0.84; NS) <b>CAT plasmatique (P = - 0.04; S)</b>
PC	PC plasmatiques (P = 0.20; NS) Vitamine E (P = 0.27; NS) Vitamine A (P = - 0.66; NS) Caroténoïdes (P = - 0.30; NS) CAT plasmatique (P = - 0.20; NS)
CAT	CAT plasmatique (P = - 0.17; NS) MDA plasmatique (P = - 0.31; NS) HP plasmatiques (P = - 0.46; NS) PC plasmatiques (P = 0.22; NS)

**NS : non significatif**

**S : significatif à P < 0,05.**

**Tableau A12 : Corrélations des différents paramètres entre placenta et nouveau-nés chez les obèses.**

Placenta	Nouveau-nés
Protéines totales	Protéines totales (P = - 0.41; NS)
Cholestérol total	Cholestérol total (P = 0.20; NS)
Triglycérides	<b>Triglycérides (P = 0.04; S)</b>
Vitamine E	Vitamine E (P = 0.27; NS) MDA plasmatique (P = - 0.18; NS) HP plasmatiques (P = - 0.69; NS) <b>PC plasmatiques (P = - 0.02 ; S)</b>
Vitamine A	Vitamine A (P = - 0.67; NS) <b>MDA plasmatique (P = - 0.05 ; S)</b> HP plasmatiques (P = - 0.55; NS) PC plasmatiques (P = 0.28; NS)
Caroténoïdes	Caroténoïdes (P = - 0.78; NS) MDA plasmatique (P = 0.37; NS) HP plasmatiques (P = - 0.19; NS) <b>PC plasmatiques (P = - 0.05 ; S)</b>
MDA	MDA plasmatique (P = - 0.65; NS) Vitamine E (P = - 0.21; NS) Vitamine A (P = -0.15; NS) Caroténoïdes (P = 0.20; NS) CAT plasmatique (P = - 0.15; NS)
HP	<b>HP plasmatiques (P = 0.03 ; S)</b> Vitamine E (P = 0.36; NS) Vitamine A (P = - 0.18; NS) Caroténoïdes (P = - 0.07; NS) CAT plasmatique (P = 0.10; NS)
PC	PC plasmatiques (P = 0.82; NS) Vitamine E (P = 0.07; NS) Vitamine A (P = - 0.25; NS) Caroténoïdes (P = - 0.16; NS) CAT plasmatique (P = - 0.25; NS)
CAT	CAT plasmatique (P = 0.21; NS) MDA plasmatique (P = 0.25; NS) HP plasmatiques (P = 0.22; NS) PC plasmatiques (P = - 0.40; NS)

**NS : non significatif**

**S : significatif à P < 0,05.**

**Tableau A13 : Corrélations des différents paramètres entre placenta et mères chez les témoins.**

<b>Placenta</b>	<b>Mères</b>
Protéines totales	Protéines totales (P = - 0.41; NS)
Cholestérol total	Cholestérol total (P = 0.53; NS)
Triglycérides	<b>Triglycérides (P = 0.01 ; S)</b>
Vitamine E	Vitamine E (P = 0.47; NS) MDA plasmatique (P = 0.22; NS) HP plasmatiques (P = 0.09; NS) PC plasmatiques (P = 0.23; NS)
Vitamine A	Vitamine A (P = - 0.25; NS) MDA plasmatique (P = - 0.25; NS) HP plasmatiques (P = - 0.20; NS) PC plasmatiques (P = 0.36; NS)
Caroténoïdes	Caroténoïdes (P = 0.18; NS) MDA plasmatique (P = 0.23; NS) <b>HP plasmatiques (P = - 0.03 ; S)</b> PC plasmatiques (P = - 0.39)
MDA	MDA plasmatique (P = - 0.07; NS) Vitamine E (P = 0.13; NS) Vitamine A (P = 0.20; NS) Caroténoïdes (P = - 0.17; NS) <b>CAT plasmatique (P = - 0.01 ; S)</b>
HP	HP plasmatiques (P = 0.40; NS) Vitamine E (P = - 0.17; NS) Vitamine A (P = - 0.28; NS) Caroténoïdes (P = - 0.44; NS) CAT plasmatique (P = - 0.09; NS)
PC	PC plasmatiques (P = 0.36; NS) <b>Vitamine E (P = - 0.03; S)</b> <b>Vitamine A (P = - 0.01; S)</b> <b>Caroténoïdes (P = - 0.02; S)</b> CAT plasmatique (P = - 0.08; NS)
CAT	CAT plasmatique (P = 0.35; NS) MDA plasmatique (P = - 0.56; NS) HP plasmatiques (P = - 0.16; NS) <b>PC plasmatiques (P = - 0.03 ; S)</b>

NS : non significatif

S : significatif à P < 0,05.

**Tableau A14 : Corrélations des différents paramètres entre placenta et mères chez les obèses.**

<b>Placenta</b>	<b>Mères</b>
Protéines totales	Protéines totales (P = - 0.30; NS)
Cholestérol total	Cholestérol total (P = - 0.19; NS)
Triglycérides	Triglycérides (P = 0.01; S)
Vitamine E	<b>Vitamine E (P = 0.03 ; S)</b> MDA plasmatique (P = 0.65; NS) HP plasmatiques (P = - 0.40; NS) PC plasmatiques (P = 0.17; NS)
Vitamine A	Vitamine A (P = - 0.43; NS) MDA plasmatique (P = 0.14; NS) HP plasmatiques (P = 0.13; NS) PC plasmatiques (P = 0.42; NS)
Caroténoïdes	Caroténoïdes (P = - 0.50; NS) MDA plasmatique (P = 0.27; NS) HP plasmatiques (P = - 0.23; NS) PC plasmatiques (P = - 0.08; NS)
MDA	MDA plasmatique (P = - 0.24; NS) <b>Vitamine E (P = - 0.03 ; S)</b> Vitamine A (P = - 0.15; NS) Caroténoïdes (P = 0.27; NS) CAT plasmatique (P = - 0.53; NS)
HP	HP plasmatiques (P = - 0.25; NS) Vitamine E (P = 0.11; NS) Vitamine A (P = 0.37; NS) Caroténoïdes (P = 0.07; NS) CAT plasmatique (P = - 0.15; NS)
PC	PC plasmatiques (P = 0.75; NS) Vitamine E (P = 0.49; NS) Vitamine A (P = 0.34; NS) Caroténoïdes (P = - 0.30; NS) CAT plasmatique (P = - 0.36; NS)
CAT	CAT plasmatique (P = 0.60; NS) <b>MDA plasmatique (P = - 0.02 ; S)</b> HP plasmatiques (P = - 0.25) PC plasmatiques (P = 0.06)

**NS : non significatif**

**S : significatif à P < 0,05.**

## Résumé

Les objectifs de notre travail sont de mettre en évidence les altérations métaboliques glucidiques et lipidiques chez les femmes obèses durant leur grossesse et d'évaluer le statut oxydant/antioxydant chez ces patientes, chez leurs nouveau-nés et au niveau du placenta.

Nos résultats montrent que l'obésité entraîne chez la mère obèse une hyperglycémie, une hypertriglycéridémie, ainsi qu'une hyperprotéïnémie, une hypertriglycéridémie et une hypocholestérolémie placentaire comparée à la mère témoin. D'autre part, notre travail révèle, au niveau de l'unité mère-placenta-fœtus, une rupture de l'équilibre de la balance oxydante/antioxydante. En effet, les mères obèses présentent une augmentation de l'oxydation des lipoprotéines, des taux élevés en vitamines A, en caroténoïdes, et en hydroperoxydes et des taux diminués en vitamine C et E comparés aux mères témoins. Les nouveau-nés de ces mères obèses présentent une augmentation de l'oxydation des lipoprotéines, de fortes teneurs en vitamine A, en caroténoïdes, et en hydroperoxydes comparés aux nouveau-nés témoins. Au niveau du placenta, l'obésité est associée à des taux élevés en malondialdéhyde, en hydroperoxydes et en protéines carbonylées et à des taux diminués en vitamine A, C et E.

En conclusion, le stress oxydatif est un facteur de risque très important chez la femme enceinte obèse, qui peut aggraver les anomalies métaboliques. Ainsi, la détermination du statut oxydant/antioxydant durant la grossesse représente un point important pour dépister tout risque maternel ou fœtal et d'envisager un traitement précoce diététique ou médicamenteux dans le but de prévenir ses effets néfastes.

**Mots clés:** Stress oxydatif, métabolisme, grossesse, obésité, mère, fœtus, placenta.

## Abstract

The aim of our study was to determine glucose and lipid alterations in obese women during pregnancy, and to investigate oxidant/antioxidant status in these patients, their newborns and placenta.

Our results showed that obesity induced maternal hyperglycemia and hypertriglyceridemia, and placental hyperproteinemia, hypertiglyceridemia and hypocholesterolemia. Indeed, our study revealed an oxidant/antioxidant unbalance among mother-placenta-foetus unit. In fact, obese mothers showed increased lipoproteins oxidation, high levels of vitamin A, carotenoids and hydroperoxydes and low levels of vitamins C and E compared with those of nonobese mothers. Newborns of these obese mothers presented increased lipoproteins oxidation, vitamin A, carotenoids and hydroperoxydes levels compared with those of other newborns. Obesity was associated to placental high levels of malondialdehyde, hydroperoxydes and carbonyl proteins and low levels of vitamins A, C and E.

In conclusion, oxidative stress was an important risk factor for aggravating metabolic abnormalities in obese women. Oxidant/antioxidant status determination during pregnancy is important for screening maternal and foetal risks. Nutritional management should be organized to prevent oxidative damages.

**Key words:** Oxidative stress, metabolism, pregnancy, obesity, mother, newborn, placenta.

## المخلص

يهدف هذا العمل إلى إظهار التحولات الأيضية السكرية و الدهنية عند النساء المصابات بالسمنة في فترة الحمل و كذا تقييم النظامين المؤكسد و المضاد للتأكسد عندهن ، عند مولدهن و على مستوى المشيمة.

كشفت النتائج أن السمنة عند الأم تتسبب في ارتفاع نسبة السكر، ثلاثي الدسم ، البروتينات و الكلسترول على مستوى المشيمة مقارنة مع الأم الشاهد. من جهة أخرى ، هنالك احتلال في توازن النظامين المؤكسد و المضاد للتأكسد على مستوى الوحدة أم- مشيمة-جنين حيث أن هناك ارتفاع في مستوى أكسدة البروتينات الدهنية و في نسبة الفيتامين A ، الكاروتينويد ، الأدروبيروكسيد و انخفاض في نسبة الفيتامين C و E عند الأمهات المصابات بالسمنة مقارنة مع الشواهد. يظهر عند مولدي الأمهات المصابات بالسمنة ارتفاع في مستوى أكسدة البروتينات الدهنية و في نسبة الفيتامين A ، الكاروتينويد ، الأدروبيروكسيد مقارنة مع الشواهد. هناك أيضا على مستوى المشيمة ، ارتفاع في بسبة (MDA) ، الأدروبيروكسيد و البروتينات الكربونية و انخفاض في نسبة الفيتامين A ، C و E . خلاصة، النظام المؤكسد هو عامل جد هام عند المرأة الحامل المصابة بالسمنة لأنه قد يزيد من خطورة التغيرات الأيضية. تحديد النظام المؤكسد أثناء الحمل يمثل نقطة هامة فيما يخص تفادي أي خطر على الأم و الجنين و اقتراح علاج قبل الأوان عن طريق الحماية و الأدوية.

**الكلمات المفتاحية:** النظام المؤكسد، الايض، الحمل، السمنة، الأم، الجنين، المشيمة.

## Résumé

Les objectifs de notre travail sont de mettre en évidence les altérations métaboliques glucidiques et lipidiques chez les femmes obèses durant leur grossesse et d'évaluer le statut oxydant/antioxydant chez ces patientes, chez leurs nouveau-nés et au niveau du placenta.

Nos résultats montrent que l'obésité entraîne chez la mère obèse une hyperglycémie, une hypertriglycéridémie, ainsi qu'une hyperprotéïnémie, une hypertriglycéridémie et une hypocholestérolémie placentaire comparée à la mère témoin. D'autre part, notre travail révèle, au niveau de l'unité mère-placenta-fœtus, une rupture de l'équilibre de la balance oxydante/antioxydante. En effet, les mères obèses présentent une augmentation de l'oxydation des lipoprotéines, des taux élevés en vitamines A, en caroténoïdes, et en hydroperoxydes et des taux diminués en vitamine C et E comparés aux mères témoins. Les nouveau-nés de ces mères obèses présentent une augmentation de l'oxydation des lipoprotéines, de fortes teneurs en vitamine A, en caroténoïdes, et en hydroperoxydes comparés aux nouveau-nés témoins. Au niveau du placenta, l'obésité est associée à des taux élevés en malondialdéhyde, en hydroperoxydes et en protéines carbonylées et à des taux diminués en vitamines A, C et E.

En conclusion, le stress oxydatif est un facteur de risque très important chez la femme enceinte obèse, qui peut aggraver les anomalies métaboliques. Ainsi, la détermination du statut oxydant/antioxydant durant la grossesse représente un point important pour dépister tout risque maternel ou fœtal et d'envisager un traitement précoce diététique ou médicamenteux dans le but de prévenir ses effets néfastes.

**Mots clés:** Stress oxydatif, métabolisme, grossesse, obésité, mère, fœtus, placenta.

## Abstract

The aim of our study was to determine glucose and lipid alterations in obese women during pregnancy, and to investigate oxidant/antioxidant status in these patients, their newborns and placenta.

Our results showed that obesity induced maternal hyperglycemia and hypertriglyceridemia, and placental hyperproteinemia, hypertiglyceridemia and hypocholesterolemia. Indeed, our study revealed an oxidant/antioxidant unbalance among mother-placenta-foetus unit. In fact, obese mothers showed increased lipoproteins oxidation, high levels of vitamin A, carotenoids and hydroperoxydes and low levels of vitamins C and E compared with those of nonobese mothers. Newborns of these obese mothers presented increased lipoproteins oxidation, vitamin A, carotenoids and hydroperoxydes levels compared with those of other newborns. Obesity was associated to placental high levels of malondialdehyde, hydroperoxydes and carbonyl proteins and low levels of vitamins A, C and E.

In conclusion, oxidative stress was an important risk factor for aggravating metabolic abnormalities in obese women. Oxidant/antioxidant status determination during pregnancy is important for screening maternal and foetal risks. Nutritional management should be organized to prevent oxidative damages.

**Key words:** Oxidative stress, metabolism, pregnancy, obesity, mother, newborn, placenta.

## المخلص

هدف هذا العمل إلى إظهار التحولات الأيضية السكرية و الدهنية عند النساء المصابات بالسمنة في فترة الحمل و كذا تقييم النظامين لمؤكسد و المضاد للتأكسد عندهن ، عند مولدهن و على مستوى المشيمة.

كشفت النتائج أن السمنة عند الأم تتسبب في ارتفاع نسبة السكر ، ثلاثي الدسم ، البروتينات و الكوليسترول على مستوى المشيمة مقارنة مع الأم الشاهد. من جهة أخرى ، هنالك احتلال في توازن النظامين المؤكسد و المضاد للتأكسد على مستوى الوحدة أم- مشيمة-جنين بحيث أن هناك ارتفاع في مستوى أكسدة البروتينات الدهنية و في نسبة الفيتامين A ، الكاروتينويد ، الألدوبيروكسيد و انخفاض في نسبة الفيتامين C و E عند الأمهات المصابات بالسمنة مقارنة مع الشواهد. يظهر عند مولدي الأمهات المصابات بالسمنة ارتفاع في مستوى أكسدة البروتينات الدهنية و في نسبة الفيتامين A ، الكاروتينويد ، الألدوبيروكسيد مقارنة مع الشواهد. هناك أيضا على مستوى المشيمة ، ارتفاع في نسبة (MDA) ، الألدوبيروكسيد و البروتينات الكربونية و انخفاض في نسبة الفيتامين A ، C و E. نلاحظ، النظام المؤكسد هو عامل جد هام عند المرأة الحامل المصابة بالسمنة لأنه قد يزيد من خطورة التغيرات الأيضية. تحديد نظام المؤكسد أثناء الحمل يمثل نقطة هامة فيما يخص تفادي أي خطر على الأم و الجنين و اقتراح علاج قبل الأوان عن طريق لحماية و الأدوية.

**كلمات المفتاحية:** النظام المؤكسد، الأيض، الحمل، السمنة، الأم، الجنين، المشيمة.