

Mast-170-02/02

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur

et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCCEN

Faculté des sciences de la nature et de la vie, de la terre et de l'univers

Département de Biologie

Laboratoire de physiologie, physiopathologie et biochimie de la nutrition

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME

DE Master EN BIOLOGIE

Option : Alimentation et Nutrition

Inscrit sous le N°:

Date le:

Thème

**Statut oxydant /antioxydant chez des patients
présentant un syndrome coronarien dans la Wilaya
de Tlemcen**

Présenté par : *SEBAA Amina née STAMBOULI*

Soutenue le : 25/09/2012

Devant le jury composé de :

Président Mr Aribi M. Maitre de conférences, Université de Tlemcen

Promotrice Mme Mokhtari N. Maitre de conférences, Université de Tlemcen

Examineur Mme Bouanane S. Maitre de conférences, Université de Tlemcen

Examineur Mme Baba Ahmed F. Maitre de conférences, Université de Tlemcen



Année Universitaire : 2011-2012

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

*J'adresse mes sincères remerciements à mon encadreur **Mme Mokhtari N.**,
maître de conférences à la faculté des sciences, université de Tlemcen
pour son aide fructueuse, de m'avoir orienter, encourager,
conseiller et soutenir pendant toute la durée de ce travail.*

*J'adresse mes plus vifs remerciements à **M. Aribi M.**, maître de conférences à la
faculté des sciences, université de Tlemcen, qui m' a fait l'honneur de présider
le jury de ma soutenance et grâce à qui j'ai suivi cette formation de
Alimentation et Nutrition, pour son aide et ses conseils
scientifiques pendant notre formation. qu'il trouve ici
l'expression de toute mon estime et ma considération.*

*Mes remerciements sincères et respectueux vont également à **Mme Bouanane S** maître
de conférences à l'Université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail.
Recevez madame mon profond respect et ma profonde considération.*

*J'exprime ma reconnaissance à **Mme Baba Ahmed F**, 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 remercie infiniment **Mme MALTI N**, **Mme BAKHTI** Maîtres assistantes, de
leur aide précieuse pour la réalisation de ce travail. Ainsi qu'a tous le personnel
du service de cardiologie, du CHU Tlemcen, qui nous ont permis la réalisation
de ce travail. Veuillez accepter les témoignages de nos grandes
administrations et de nos gratitude.*

*Enfin, je remercie tous les enseignants qui m'ont suivis le long de mes études,
et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce présent travail.*

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout Puissant, J'ai pu achever ce travail que je dédie avec toute mon affection à :

Mes très chers parents, leur amour, leur tendresse, leur sacrifice, leur compréhension et leur patience envers moi. Je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation, , jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur d'eux même, que Dieu les protège.

Mon cher mari Djafal Sebaa, qui n'a jamais cessé de m'encourager moralement et financièrement, tu as été toujours à mes côtés, avec tout mon amour, ma tendresse et mon estime, je n'arriverais jamais à le remercier.

Mes sœurs : Nassima, Imane

Mes frères : Reda, Choukri

Que j'aime beaucoup

Mes chères nièces : Meriem, Khadidja, et l'adorable Wafaa

Mon beau-frère : Merabet Zaki

Mon beau père que j'estime et j'aime beaucoup

Aussi une pensée à ma belle mère qui nous a quitté pour un monde meilleur

Toute ma belle famille : Choukri, Nassima, Nawal, Nabila, SidAhmed, Fouad, Hanaa, Radjaa, Imane, Mohamed, Hadjer, Lamia et l'adorable Anes

Toute la famille : Sebaa, Stambouli, Dib, Merabet, Seladji, Mahdad, Kelouche, Hadj Amara, Damardji, Kfielil, Saib, Mehdi

Mes Amies : Sarah, Nadjet, Fatime Zohra, cherifa, Souhila, Wafaa

Mes chères tantes, oncle, cousins et cousines et la petite Zineb

Mon encadreur Mme Mokhtari N et sa famille à qui

je souhaite tout le bonheur.

Toute ma promotion de master et tous les amis que je n'ai pas cités.

Liste des abréviations

- ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- AVC** : Accident vasculaire cérébral
- CCR** : C chemokine receptor
- Cd**: Cadmium
- CHU**: Centre Hospitalo-Universitaire
- cm** : centimètre
- CML** : cellules musculaires lisse
- Cu-ZnSOD** : Superoyde dismutase à cuivre-zinc
- DNPH** : dinitrophénylhydrazine
- DO** : Densité Optique
- EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétracétique
- ENR** : Espèces réactives d'azote
- EOR** : Espèces Oxygénées Réactives
- EORN** : Espèces réactives d'oxygène et d'azote
- GPX** : Glutathion Peroxydase
- GSH** : Glutathion
- HDL** : Lipoprotéine de Haute Densité
- HO[·]** : radicaux hydroxyles
- HOO[·]** : hydroperoxyde
- H₂O₂**: Peroxyde d'oxygène
- HNA** : hydroxynonéanal
- HTA** : Hyper Tension Artérielle
- ICAM** : intercellular adhesion molecule
- IDM** : Infarctus du myocarde
- IL** : interleukine
- IMC** : Indice de Masse Corporelle

Kg : Kilogramme

L : Litre

LDL : Lipoprotéines de faible densité

LDLc : LDLcholestérol

LDLR : récepteur des LDL

M-CSF : monocyte colony stimulating factor

MDA : Malondialdehyde

mg : milligramme

MIN : Minutes

mL : millilitre

MMPs : métalloprotéinases matricielles

MnSOD: Superoxyde dismutase à manganèse

MPC : monocyte chemiotactic protein

NADPH : Nicotine adénine nucléotide phosphate réduit

NO : Monoxyde d'azote

NBT :Nitroblue tetrazolium

OMS : organisation mondiale de la santé

ONOO[•] : peroxydinitrite

O₂: Molecule d'oxygène.

O₂^{•-} : Anion superoxyde

PL : phospholipides

RNS: Reactive Nitrogen Species

ROOH : Hydroperoxyde

ROO[•] : peroxyde

ROS: Reactive Oxygen Species

SCA : syndromes coronaires aigus

SOD: Superoyde Dismutase

TA : Tension Artérielle

TBA : Acide thiobarbiturique

TCA : Trichloroacétique

TiOSO₄ : titanium oxyde sulfate

TNB: l'acide thionitrobenzoïque

TNF : Tumor Necrosis Factor.

TRX : Thiorédoxine.

TRXR : Thiorédoxines Réductase

VCAM : vascular cell adhesion molecule

Liste des figures

Figure 1. Les différents types du SCA

Figure 2. Structure de la paroi artérielle

Figure 3. Les différents stades d'évolution de la plaque d'athérosclérose

Figure 4. Formation de la lésion athéromateuse

Figure 5. Recrutement et devenir des monocytes dans l'athérosclérose

Figure 6. Formation des stries lipidiques au cours de l'athérosclérose

Figure 7. Plaque athéroscléreuse

Figure 8. Sources des radicaux libres

Figure 9. Enzymes impliquées dans la génération et l'inactivation des espèces réactives de l'oxygène (EOR)

Figure 10. Teneurs plasmatiques en vitamine C chez les coronariens comparées aux témoins

Figure 11. L'activité de la catalase érythrocytaire en $\mu\text{ml}/\text{min}$ chez les coronariens comparées aux témoins

Figure 12 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en GSH chez les coronariens comparées aux témoins

Figure 13. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en MDA chez les coronariens comparées aux témoins

Figure 14. Teneurs plasmatiques en monoxyde d'azote chez les coronariens thromboembolie comparées aux témoins

Figure 15. Teneurs plasmatiques en anion superoxyde chez les coronariens comparées aux témoins

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques de la population étudiée

Tableau A1: valeurs moyennes des teneurs plasmatiques en vitamine C chez les patients et chez les témoins

Tableau A2: valeurs moyennes de l'activité plasmatiques de la catalase chez les patients et chez les témoins

Tableau A3: valeurs moyennes de la GSH plasmatiques et érythrocytaire chez les patients et chez les témoins

Tableau A4: valeurs moyennes du MDA plasmatiques et érythrocytaire chez les patients et chez les témoins

Tableau A5: valeurs moyennes des teneurs plasmatiques du monoxyde d'azote chez les patients et chez les témoins

Tableau A6: valeurs moyennes des teneurs plasmatiques de l'anion superoxyde chez les patients et chez les témoins

Sommaire

| | |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| Introduction..... | 01 |
| Revue de la littérature. | 03 |
| I. Athérosclérose | 04 |
| I.1. La paroi vasculaire..... | 04 |
| I.2. Anatomopathologie de la plaque d'athérosclérose..... | 05 |
| I.3. La formation de la plaque athéroscléreuse..... | 07 |
| I.4. Facteurs de risque du syndrome coronaire | 13 |
| I.4.1. Facteurs non modifiables (constitutionnels)..... | 13 |
| I.4.2. Facteurs modifiables (environnementaux)..... | 13 |
| I.4.3 Autres facteurs..... | 15 |
| II. Le stress oxydant | 16 |
| II.1. Définition | 16 |
| II.2. Les prooxydants..... | 16 |
| II.2.1. Définition des radicaux libres..... | 16 |
| II.2.2. Mode d'action des radicaux libres..... | 19 |
| II.3. Les antioxydants | 19 |
| II.3.1. Système enzymatique..... | 21 |
| II.3.2. Système non enzymatique..... | 24 |
| II.4. Les cibles biologiques et les marqueurs du stress oxydant..... | 27 |
| II.4.1. Au niveau lipidique | 28 |
| II.4.2. Au niveau des lipoprotéines | 29 |
| II.4.3. Au niveau des protéines | 29 |
| II.4.4. Au niveau de l'ADN du noyau cellulaire | 30 |
| III. Stress oxydatif et athérosclérose..... | 30 |
| Matériels Et Méthodes | 32 |
| I. Population étudiée..... | 32 |
| II. Détermination du statut oxydant / antioxydant..... | 33 |
| II.1 Dosage de la vitamine C..... | 33 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| II.2 Dosage de l'Anion superoxyde (- O ₂ .) | 33 |
| II.3 Dosage du monoxyde d'azote (NO)..... | 34 |
| II.4 Dosage du MDA malondialdéhyde..... | 34 |
| II.5 Dosage de l'activité de la catalase plasmatique et érythrocytaire..... | 34 |
| II.6 Dosage du glutathion réduit (GSH)..... | 35 |
| II.7 Analyse statistique..... | 35 |
| Résultats et interprétations..... | 36 |
| Discussion | 41 |
| Conclusion | 44 |
| Références bibliographiques..... | 45 |
| Annexe | 53 |

Introduction



Les maladies cardiovasculaires constituent la première cause de mortalité dans le monde (16.2 millions de décès en 2003, soit 29% de la mortalité) (Kraushaar et Kramer, 2009).

Les maladies cardiovasculaires sont à l'origine de 1.9 millions de décès annuels dans l'union européenne, soit près de la moitié de la mortalité totale (42%) (Petersen *et al.*, 2006).

En France environ 200 000 personnes meurent chaque année de maladies cardiovasculaires qui, avec un peu plus d'un tiers de la mortalité globale, représentent la 1ère cause de décès (Branchereau et Ambrosi, 2009).

Selon l'OMS (organisation mondiale de la santé), sur 50 millions de décès annuels dans le monde, les cardiopathies ischémiques sont la première cause dont 7.2 millions sont d'origine coronaire (Dagher, 2005). En plus de la mortalité, ces maladies ont un impact important sur la qualité de vie des patients (Zaza, 2004).

L'athérosclérose constitue la principale cause de décès dans les pays occidentaux, et est de plus en plus répandue dans les pays en voie de développement. Les principales conséquences de l'athérosclérose sont l'infarctus du myocarde, et l'infarctus cérébral.

Cette maladie cause plus de morbidité et de mortalité dans le monde occidental que tous les autres troubles. L'athérosclérose est une menace majeure pour la santé humaine dans le monde entier (Meensa *et al.*, 2012).

L'athérosclérose est une pathologie inflammatoire chronique et multifactorielle, définie par un remaniement de l'*intima* des grosses et moyennes artères conduisant à la formation de plaques athéromateuses (Migdal et Serres, 2011)

Le stress oxydatif joue un rôle important dans les atteintes tissulaires survenant au cours de l'athérosclérose (Dhalla *et al.*, 2000). Il semble raisonnable de penser que les atteintes oxydatives constituent une étape physiopathologique. En particulier, aussi bien les nombreux facteurs de risques classiques que les nouveaux facteurs de risques ont été associés au stress oxydatif et aux Médiateurs de l'inflammation (Halliwell et Gutteridge, 1999).

L'endothélium vasculaire joue un rôle primordial notamment dans la régulation du tonus vasculaire, en réponse à différents stimuli tels que la prostacycline, l'endothéline et surtout le monoxyde d'azote (NO •). Le stress oxydant, caractérisé par une augmentation relative des espèces réactives de l'oxygène (ERO), peut diminuer la biodisponibilité du NO • , ce qui conduit à un dysfonctionnement vasculaire (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2002).

L'objectif de ce travail de Master est de réaliser une étude cas-témoins en vue d'évaluer quelques marqueurs du statut oxydant/antioxydant (La vitamine C, la catalase, le glutathion réduit, MDA, l'anion superoxyde, le monoxyde d'azote) afin d'établir un lien entre le

déséquilibre de la balance oxydante / antioxydante et la survenue du risque cardiovasculaire chez des patients recrutés au service de cardiologie du centre hospitalo-universitaire (CHU) de tlemcen.

Revue de la littérature



Les maladies cardiovasculaires représentent l'une des principales causes de mortalité dans le monde. La cause sous-jacente de cette mortalité élevée est le processus athéroscléreuse qui est responsable du rétrécissement progressif de la lumière des vaisseaux (sténose) et entraîne l'ischémie des organes distaux. Les premières étapes de l'athérogenèse ont lieu très précocement, dès la vie foétale (Giuseppina Caligiuri, 2004).

L'athérosclérose coronaire est une affection chronique inflammatoire émaillée de nombreuses poussées aiguës. Celles-ci ont un substratum anatomopathologique commun caractérisé par une rupture (ou une érosion) de la plaque athéroscléreuse avec différents degrés de thrombose surajoutée, accompagnée fréquemment d'embolisation distale de matériel thrombotique ou athéroscléreuse. L'expression clinique est variée et comprend l'angor instable et l'infarctus du myocarde (incluant l'infarctus avec ou sans onde Q). De nos jours et dans un souci pragmatique, les syndromes coronaires aigus (SCA) sont classés sur la base de l'électrocardiogramme initial en syndrome coronaire aigu avec sus-décalage persistant de ST (SCA ST+) qui signifie occlusion coronaire totale, et syndrome coronaire aigu sans sus-décalage de ST (SCA NST+) qui regroupe l'angor instable et les infarctus du myocarde (Bertrand *et al.*, 2002).(figure1).

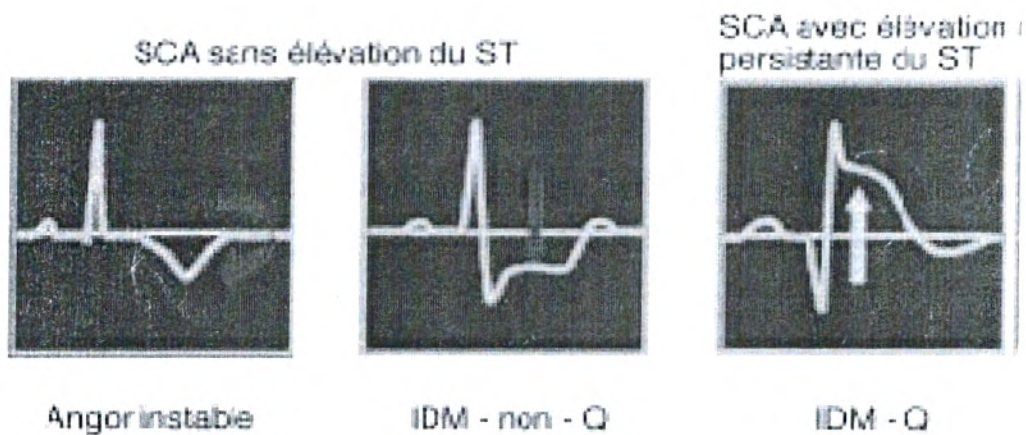


Figure 1. Les différents types du SCA (collet *et al.*, 2003)

I. Athérosclérose

L'athérosclérose est une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibre consistant en une accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôt calcaires ; le tout s'accompagnant de modifications de la media (GIRAL, 1988)(OMS, 1954). L'athérosclérose est un type d'artériosclérose.

Artériosclérose: Terme générique désignant l'épaississement de l'intima artérielle avec amincissement fibreux de la media, alors que l'athérosclérose ne touche que la media. De plus, l'artériosclérose touche aussi les artères de petit calibre et les artéioles (Léoni, 2001).

I.1. La paroi vasculaire

Les artères sont les vaisseaux sanguins transportant le sang du coeur aux autres organes. Comme tous les vaisseaux de la microcirculation, la paroi artérielle est organisée en trois tuniques concentriques avec, de l'intérieur vers l'extérieur (Bruneval, 2003) (Figure 2) :

a. L'intima

L'intima ou tunique interne, elle est en contact direct avec le sang. A l'état normal, cette tunique est fine, lisse et constituée par une mono couche continue de cellules endothéliales reposant sur leur membrane basale, (Bruneval *et al.*, 2003).

On distingue des valvules qui sont l'expansion de l'intima dans la lumière, recouverte de cellule endothéliales et renforcée par des fibres élastiques et de collagènes (Wheater *et al.*, 2001). La couche sous-endothéliale est le site préférentiel de développement des lésions d'athérosclérose et sert de zone de stockage des lipoprotéines et des monocytes macrophages provenant du sang (Bruneval *et al.*, 2003).

b. La média

La média ou tunique moyenne, responsable de l'essentiel de l'épaisseur de la paroi artérielle à l'état normal. La média est la tunique la plus épaisse à l'état normal. Elle est constituée d'un seul type cellulaire: les cellules musculaires lisses, entourée de macromolécules issues de la matrice extracellulaire comme le collagène et l'élastine (Bruneval *et al.*, 2003).

c. L'adventice

L'adventice ou tunique externe, elle est constituée de fibres de collagène, de fibroblastes et de quelque fibres nerveuses (Wheater *et al.*, 2001). (donc plus résistante que les deux autres), plus rigide et contient des vaisseaux qui vont permettre l'apport des nutriments et de l'oxygène aux grosses artères : les *vasa vasorum* (Bruneval *et al.*, 2003).

L'athérosclérose est donc responsable de la formation de plaques qui se développent à l'intérieur de l'artère et vont augmenter de volume. A un stade évolué, ces plaques peuvent boucher l'artère. Très souvent, des phénomènes inflammatoires et sanguins précipitent les évènements car la plaque d'athérome peut rapidement générer la formation de caillots de sang qui vont obturer l'artère (Belkheiri, 2010).

I.2. Anatomopathologie de la plaque d'athérosclérose

Dans les phases initiales de l'athérosclérose, on note l'apparition d'une dysfonction endothéliale et de lésions inflammatoires dans la paroi du vaisseau. L'athérosclérose débute chez l'enfant avec des dépôts de cholestérol dans les macrophages et dans les cellules musculaires lisses localisées dans l'intima des grandes artères musculaires lisses comme en témoigne la formation de stries lipidiques.

À mesure que l'individu avance en âge, la plaque fibreuse se développe et progresse provoquant ainsi des lésions athérosclérotiques plus complexes et fragiles.

La rupture de ces lésions conduit à une hémorragie, puis à la formation d'un thrombus qui, en bouchant l'artère coronaire atteinte, cause un syndrome coronarien aigu (Poirier et Després, 2003) (figure3).

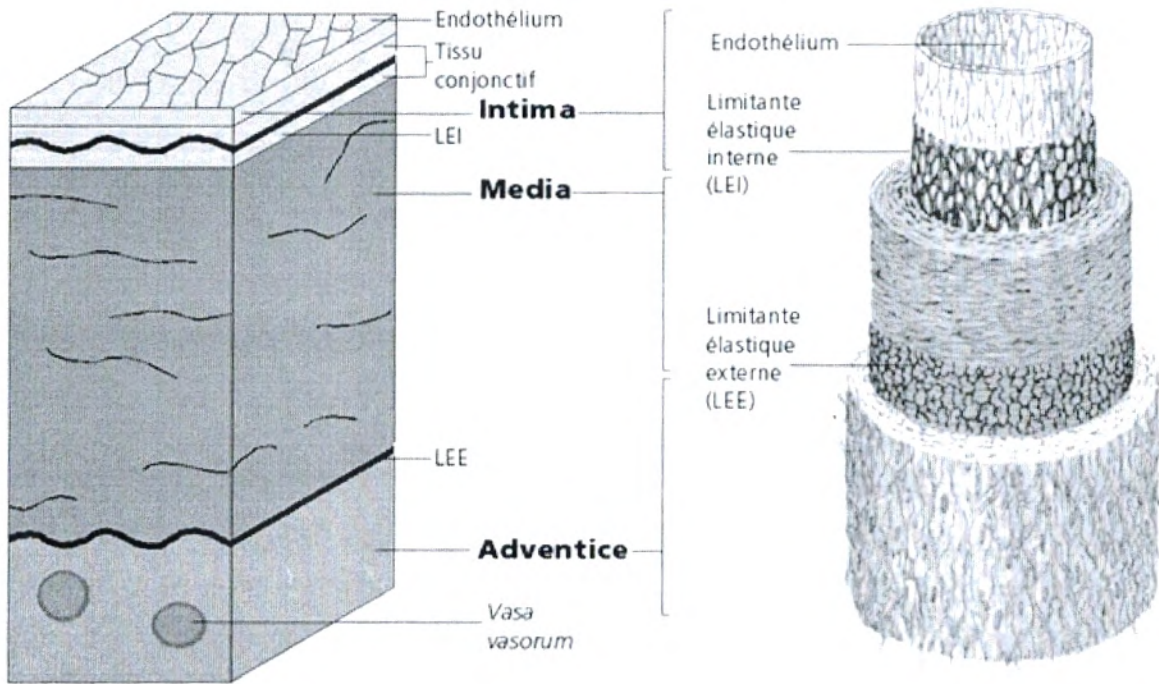


Figure 2. Structure de la paroi artérielle (Léoni, 2001).

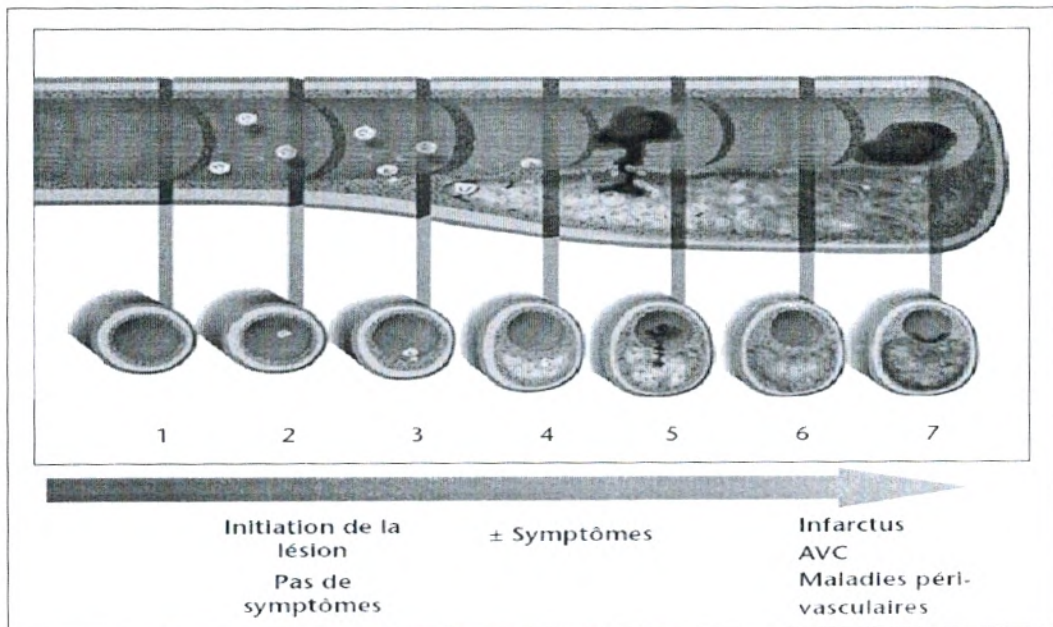


Figure 3. Les différents stades d'évolution de la plaque d'athérosclérose (Nalbone et al., 2006).

1 : cellules spumeuse ; 2 : stries lipidiques ; 3 : prés athérome ; 4 : athérome ; 5 : fibro-athérome ; 6 : thrombose, hémorragie ; 7 : plaque fibrocalcaire.

I.3. La formation de la plaque athéroscléreuse

Le mécanisme moléculaire de l'athérosclérose fait intervenir plusieurs acteurs jouant un rôle prépondérant dans la genèse de la plaque :

Les lipoprotéines essentiellement les LDL oxydées et quatre types cellulaires, les macrophages, les cellules endothéliales, les CML (cellules musculaires lisse) et les lymphocytes. Plusieurs mécanismes s'associent pour aboutir à la formation de la plaque (Bonnet et Elias, 1997).(figure4)

a. Infiltration lipidique des LDL dans l'intima artérielle

La traversée de l'endothélium vasculaire par les LDL initie le processus d'athérogénèse. (Léoni, 2001).

La rétention spécifique de ces particules à des sites de prédilection résulte d'interactions électrostatiques entre les protéoglycanes de la matrice extracellulaire et les régions basiques de l'apoprotéine B100 (Tedgui et Chapman 2003). Elles s'accumulent dans l'espace sous-endothélial, ce qui déclenche le recrutement de monocytes circulants dans l'intima et sa différenciation en macrophages. La transformation des LDL natives en LDL pro-athérogènes (principalement en LDL oxydées) est une étape essentielle (Tedgui, 2001).

b. Oxydation des LDL

Elle se produit majoritairement dans l'intima de la paroi artérielle. En effet, les quantités de LDL oxydées sont très faibles au niveau plasmatique, tandis qu'elles sont retrouvées en abondance dans les plaques d'athérome.

Les LDL peuvent être oxydées au contact des cellules endothéliales, des cellules musculaires lisses, ou des macrophages. (Tedgui et Chapman 2003). Les LDL dans leur état natif ne sont pas athérogènes et ce n'est qu'après avoir subi des modifications oxydatives dans la paroi qu'elles deviennent athérogènes. Modérément oxydées au début, les LDL deviennent fortement oxydées (Nalbone *et al.*, 2006). Quand elles sont oxydées, les LDL sont reconnues par d'autres récepteurs, les récepteurs "éboueurs" (ou *Scavenger Receptors*) des macrophages. Ces récepteurs "scavenger" entraînent les LDL dans un processus athérogène (Léoni, 2001).

Des produits d'oxydation des lipides (malondialdéhyde (MDA), 4-hydroxynonéal (4-HNA)) sont générés et forment des adduits avec les groupes lysine de l'apoB des LDL. Des coupures des liaisons peptidiques de l'apoB se produisent, ce qui modifie sensiblement la structure antigénique de la particule(Nalbone *et al.*, 2006).

Au niveau endothélial, cette oxydation peut être induite par des facteurs de risque comme l'hypertension, l'hypercholestérolémie, le diabète ou le tabac, par le biais d'une réduction de la biodisponibilité de monoxyde d'azote. Celui-ci peut en effet subir une altération par des EOR pour former le peroxy-nitrite, agent qui catalyse l'oxydation des acides gras polyinsaturés. Il est également possible que les LDL finissent par s'oxyder lorsque leur temps de séjour dans l'intima est augmenté, la pression en oxygène dans le sous-endothélium étant relativement élevée (Tedgui et Chapman 2003).

c. Recrutement des monocytes

Le dysfonctionnement de l'endothélium, notamment secondaire à la présence des LDL oxydées favorise l'adhésion des monocytes circulants au niveau de la surface de l'endothélium. Au niveau de l'intima, des protéines spécifiques vont jouer le rôle de « molécules d'adhésion » et permettre ainsi cette adhésion des monocytes. Il s'agit des protéines VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule) et ICAM-1 (intercellular adhesion molecule) (Steinberg et Lewis, 1997).

Une fois que les monocytes ont adhéré à la surface endothéliale, ils pénètrent dans l'intima à travers les jonctions inter-endothéliales sous l'effet de facteurs chimiotactiques parmi lesquels l'IL-8, le MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) dont le récepteur est le CCR-2 (*C-C chemokine receptor 2*), et l'ostéopontine, protéine sécrétée par les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les monocytes.

Dans le même temps, ces monocytes évoluent en macrophages sous l'action du M-CSF (*monocyte colony stimulating factor*), facteur hématopoïétique de différenciation et de prolifération des monocytes (Giachelli *et al.*, 1998).

Le rôle des macrophages est alors d'épurer l'intima des LDL oxydés, mais en parallèle, ils entretiennent l'activation inflammatoire de l'endothélium via la production de cytokines pro-inflammatoires dont le TNF- α (l'interféron α) et l'IL-1 (interleukine 1), de métalloprotéinases matricielles (MMPs), de ROS, l'ensemble de ces phénomènes accentuant la perméabilité et l'oxydation des LDL (Mallat et Tedgui 2003). (figure5).

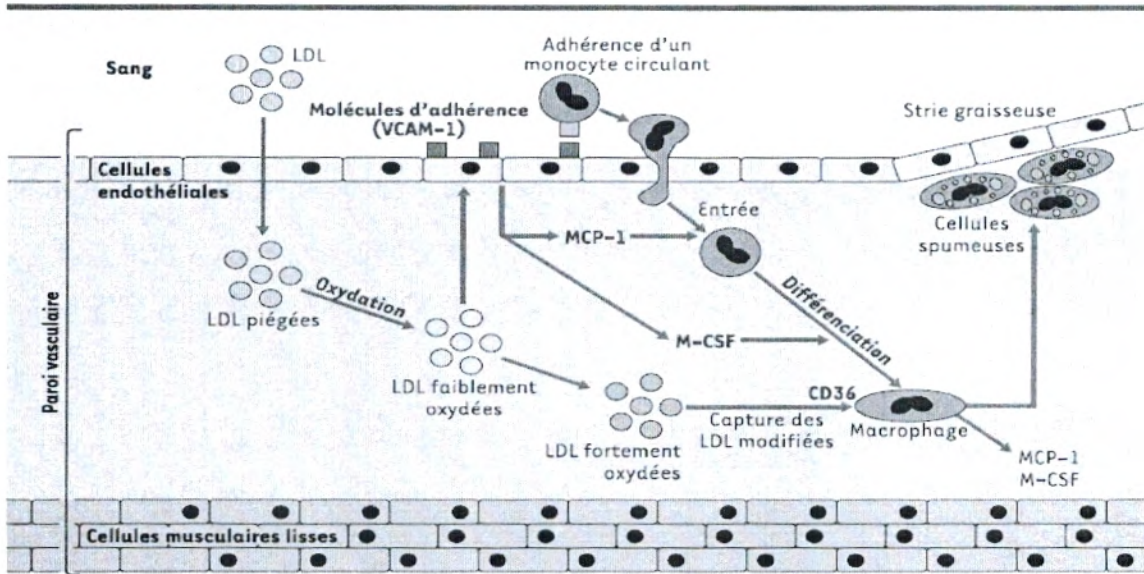


Figure 4. Formation de la lésion athéromateuse (Morozova et al., 2004).

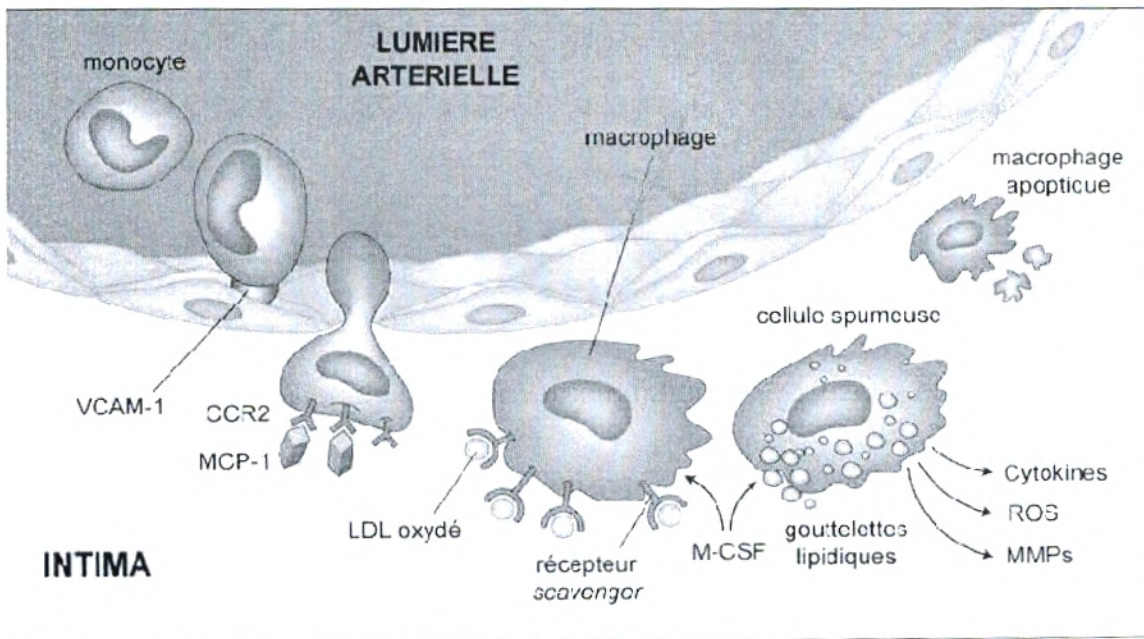


Figure 5. Recrutement et devenir des monocytes dans l'athérosclérose (Ross, 1999).

d. Formation des cellules spumeuses

Les apoprotéines B100 des LDL oxydées ne permettent plus leur reconnaissance par les LDLR. En contre partie, ces lipoprotéines sont reconnues par les récepteurs éboueurs ou *scavenger* (SR-A1, SR-A2, CD36, CD68) présents à la surface des macrophages (Mallat et Tedgui 2003). La capture des LDL modifiées aboutit à une différenciation en cellules spumeuses (Léoni, 2001).

e. Apparition des stries lipidiques

Les cellules spumeuses issues des macrophages deviennent de plus en plus nombreuses puis se regroupent en petits amas dans la couche superficielle sous-endothéliale de l'intima pour former les premières stries lipidiques, (Bruneval, 2003), Quelques cellules musculaires lisses, qui possèdent elles aussi des récepteurs *scavenger* à leur surface, internalisent également des LDL oxydées pour ensuite évoluer en cellules spumeuses, participant de ce fait elles aussi à la formation des stries lipidiques. De plus, la prolifération intimale de ces cellules musculaires lisses amène ces dernières à synthétiser de la matrice extracellulaire, propriété déterminante intervenant dans la stabilisation de la plaque. Ces stries lipidiques se présentent comme des dépôts jaunâtres, sans relief, sous forme de lignes allongées parallèlement au flux sanguin. Elles siègent majoritairement au niveau de l'aorte thoracique (Bruneval, 2003), et qui ne présentent pas encore de danger (Schweiz, 2000) (figure6).

f. Emergence du noyau lipidique

Les lipides se regroupent pour former un amas appelé coeur lipidique ou centre athéromateux qui est le véritable point de départ de la plaque. Par la suite, ce coeur lipidique va progressivement se couvrir d'une chape fibreuse ou fibromusculaire, constituée par les cellules musculaires lisses qui proviennent de la média (Steinberg et Lewis, 1997).

L'émergence du noyau lipidique correspond aux premières lésions dites avancées. Leur fréquence d'apparition augmente avec l'âge et elles sont surtout présentes après 40 ans. Leur caractère avancé est du au fait qu'elles peuvent rapidement évoluer en lésions compliquées de thrombose et éventuellement symptomatiques (Bruneval, 2003).

g. Fibro-atherome

C'est la lésion typique de l'athérosclérose telle qu'elle est décrite dans la définition de l'OMS. Elle porte également le nom de plaque d'athérosclérose ou fibrolipidique. Son centre lipidique est entouré par une chape fibreuse composée de matrice extracellulaire abondante comprenant essentiellement des collagènes fibrillaires de type I et III, des glycoprotéines de structure, et des glycosaminoglycanes. Pour ce qui est de sa composante cellulaire, la chape

fibreuse contient en majorité des cellules musculaires lisses, mais aussi des macrophages, des lymphocytes T, et des cellules endothéliales (Megnien et Touboul, 2003) (figure 7)

a. Plaque d'athérosclérose compliquée

Ces complications surviennent généralement après 40 ans. Elles sont responsables d'une symptomatologie aiguë dont l'anticipation n'est pas évidente, ceci venant du fait que leur fréquence d'apparition est indépendante du volume de la plaque d'athérome (Devulder et Alarcon, 2004).

L'épaississement de la plaque est lié à des phénomènes qui ont lieu soit dans la plaque elle-même, soit à sa surface : ulcérations, hémorragies, thromboses et calcifications. (Léoni, 2001).

L'ulcération est défini par la rupture de la plaque associée à une perte de substance à sa surface ou ulcération. La profondeur de celle-ci est variable, parfois superficielle mais pouvant emporter une partie du centre lipidique, voire la quasi-totalité de la plaque et perforant exceptionnellement l'artère

L'hémorragie correspond à la concentration de substance sanguine à l'intérieur de la plaque, en particulier dans le centre lipidique, ce qui aboutit à une augmentation rapide du volume de la plaque. Cette hémorragie est susceptible de subir une détersion macrophagique, suivie d'organisation conjonctive avec synthèse de matrice extracellulaire, relargage de lipides membranaires, le tout aboutissant à la progression de la plaque.

La complication majeure de l'athérosclérose est le phénomène de thrombose qui survient sur une plaque ayant perdue son endothélium, fonctionnellement ou anatomiquement, dans le cadre d'une érosion ou d'une ulcération. Le thrombus formé peut être occlusif, surtout dans les artères de moyen calibre, ou mural, en d'autres termes, partiellement occlusif. Après formation, il peut être remplacé progressivement par un tissu conjonctif de la paroi artérielle vers la lumière du vaisseau. Cette organisation conjonctive ne peut cependant être complète malgré de longs mois d'évolution. Elle aboutit à la stabilisation du thrombus avec un moindre risque emboligène et à la progression de la plaque. (Bruneval, 2003), (Devulder et Alarcon, 2004).

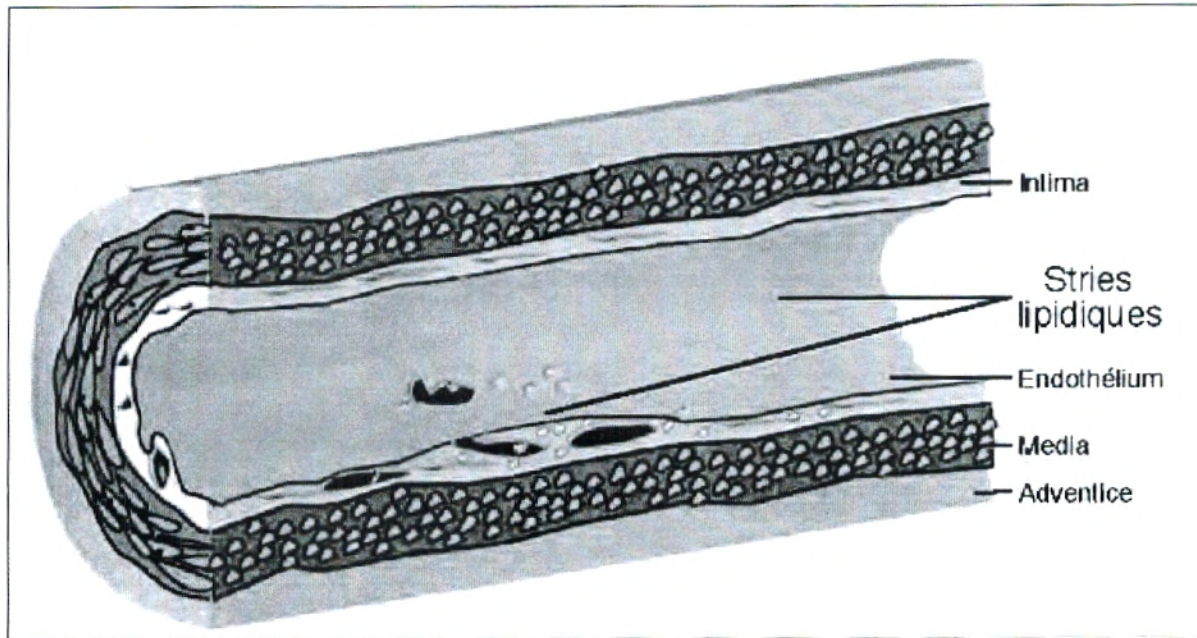


Figure 6. Formation des stries lipidiques au cours de l'athérosclérose (Léoni, 2001).

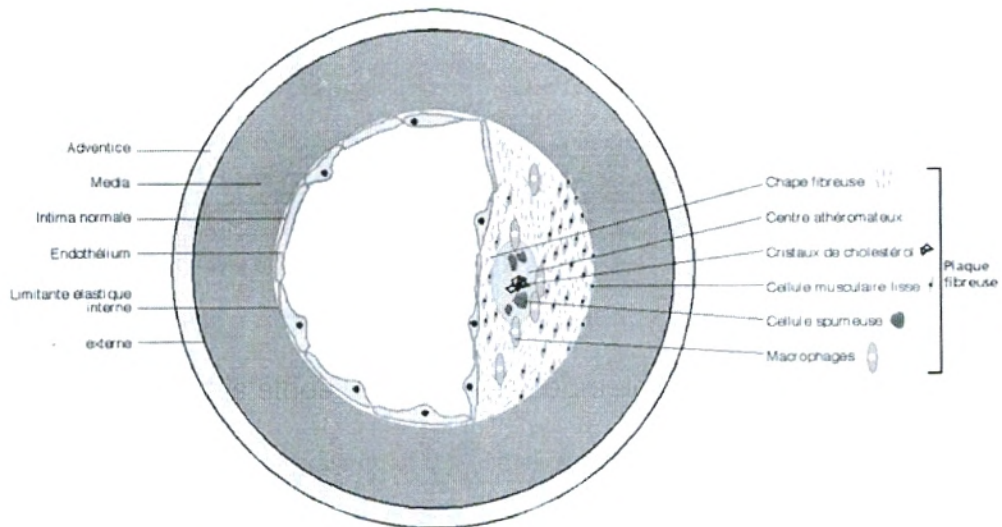


Figure 7. Plaque athéroscléreuse (Léoni, 2001).

I.4. Facteurs de risque du syndrome coronaire

Les maladies cardiovasculaires ne préviennent pas toujours, mais elles ne frappent pas non plus au hasard. Le risque de développer un syndrome coronarien étant plus rapide lorsqu'il y a plus de facteurs aggravants associés. Certains facteurs de risques sont aujourd'hui bien connus et peuvent être classés en facteurs non modifiables et facteurs modifiables, en plus d'autres facteurs qui sont en cours de validation :

I.4.1. Facteurs non modifiables (constitutionnels)

a- Sexe :

Le risque de développer un syndrome coronarien est en effet plus élevé dans le sexe masculin (Herpin et Paillard , 2003). La maladie coronarienne est rare chez la femme en préménopause, en l'absence de diabète ou d'hyperlipidémie génétique sévère telle que l'hypercholestérolémie familiale. Après la ménopause, le niveau de risque chez cette dernière rejoint très progressivement celui de l'homme (lassant, 2005) Cette différence de sexe peut être expliquée par l'effet protecteur des hormones chez la femme en période d'activité génitale (Badimon et Chesebro, 2002).

b- Age

Le risque cardiovasculaire augmente avec l'âge, même si des cas d'athérosclérose sont observés chez des sujets jeunes, la prévalence de cette pathologie reste fortement corrélée à l'âge (Herpin et Paillard , 2003).

L'impact de tous les facteurs de risque est substantiellement plus grand chez les personnes d'âge moyen ou âgées que chez les jeunes adultes

c- Antécédents familiaux et hérédité

Des antécédents familiaux de maladie coronarienne sont hautement instructifs en ce qui concerne le degré du risque. Seuls les accidents cardiovasculaires précoces sont à prendre en compte, c'est à dire avant 55 ans chez un homme et avant 65 ans chez une femme ; et ne seront considérés comme significatifs que les accidents survenus chez le père, la mère ou un parent du premier degré (Herpin et Paillard , 2003). En fait, la génétique ne serait responsable que du tiers du risque, le reste dépend du mode de vie du sujet (Badimon et Chesebro, 2002).

I.4.2. Facteurs modifiables (environnementaux)

a- Tabac

Il s'agit d'un facteur de risque majeur quelque soit le type de tabagisme, actif ou passif. Le tabac peut même être un facteur de risque plus important dans les régions avec une incidence de maladie cardiovasculaire en augmentation telles que l'Asie et l'Europe de l'Est et Centrale, par rapport à l'Europe de l'Ouest et à l'Amérique du Nord (Assmann *et al.*, 1998)

In vitro L'oxydation des LDL, première condition de l'athérosclérose, peut être provoquée chimiquement par incubation de LDL natives en présence d'extraits de fumée de cigarette (Farmer et Gotto, 1997)

Des radicaux libres, qui augmentent le stress oxydatif, sont retrouvés directement dans la fumée de cigarette (Yang *et al.*, 2007)

Ce stress oxydatif, avec l'effet direct de la fumée de cigarette, contribue à la diminution de production et disponibilité d'oxyde nitrique (NO) qui joue un rôle important dans la vasodilatation artérielle (Pipe *et al.*, 2010). Des polymorphismes du gène *eNOS* pourraient aussi prédisposer au manque de NO chez certains fumeurs, en augmentant la sévérité de la maladie vasculaire (Sticchi *et al.*, 2010)

b- Hypertension artérielle (HTA)

L'hypertension artérielle (HTA) est un facteur de risque cardiovasculaire indiscutable. Le lien entre niveau tensionnel et risque d'athérosclérose est continu, ce qui signifie qu'il n'y a pas de seuil individualisé en dessous duquel le risque peut être considéré comme nul (Pfizer, 2006).

L'hypertension artérielle systolique apparaît plus délétère que l'hypertension artérielle diastolique (Paradis et Thivierge, 2005).

c- Dyslipidémies

La relation entre les dyslipidémies et la cardiopathie ischémique est connue depuis longtemps. La morbi-mortalité coronarienne est associée à :

- une augmentation du LDL cholestérol
- une diminution du HDL cholestérol
- une augmentation des triglycérides (Pfizer, 2004).

d- Diabète

Le diabète majore fortement le risque de maladie coronarienne. Ce risque est globalement multiplié par un facteur 3 chez la femme et 2 chez l'homme (Herpin et Paillard , 2003).

Les diabètes de type I et II sont associés à une augmentation du risque d'IDM:

- Dans le diabète de type I, le risque apparaît surtout après 15 à 20 ans d'évolution, et particulièrement lorsqu'il existe une atteinte rénale avec protéinurie (Menu, 2002).
- Le diabète de type II lorsque associé avec d'autres facteurs de risque cardiovasculaire, il multiplie par 3 leur impact délétère (Badimon et Chesebro, 2002)

e- Obésité

L'obésité est évaluée par l'indice de masse corporelle (IMC) (poids/taille²). Il y a surpoids lorsque l'IMC est supérieur à 25 et obésité au delà de 30 (Menu, 2002) Au delà de la corpulence totale, la répartition de l'adiposité a un impact important sur le risque cardiovasculaire. En effet l'obésité abdominale (répartition de type centrale) majore le risque de façon plus significative (Herpin et Paillard , 2003).

f- Sédentarité

Un manque d'exercice augmente le risque de maladie coronarienne, indépendamment des autres facteurs de risque (Ruiz *et al.*, 2002) Une méta-analyse a montré, à partir de plusieurs études de cohorte, que la sédentarité multipliait par 1.9 le risque de décès d'origine coronarienne, par rapport à une population active (Herpin et Paillard , 2003). Alors que l'activité physique régulière permet de réduire le poids, de réguler les taux de cholestérol et de lipides sanguins, la tension artérielle et le diabète, et d'atténuer ainsi le risque cardiovasculaire global (Pfizer, 2004). Il a été démontré qu'à la suite d'un infarctus du myocarde ; l'absence d'activité physique chez ces patients est associée à une plus forte mortalité, par rapport à ceux qui bénéficient d'une réadaptation cardiovasculaire (Herpin et Paillard , 2003).

I.4.3 Autres facteurs

a- Facteurs nutritionnels

Le régime alimentaire est un déterminant important du risque coronarien. Une étude menée sur 16 populations issues de 7 pays, suivies pendant 15 ans, rapporte une étroite corrélation entre les taux de mortalité coronarienne et la consommation de graisses saturées (Herpin et Paillard , 2003).

b- Facteurs psychosociaux et environnementaux

Plusieurs aspects du comportement (anxiété, dépression, stress..) sont associés aux coronaropathies. Dans la plupart des pays, un statut socio-économique inférieur est associé à des taux plus élevés de mortalité totale aussi bien que coronarienne (Herpin et Paillard, 2003).

Les associations entre plusieurs facteurs psycho-sociaux et l'incidence augmentée de la maladie coronarienne ont été établies ; ainsi, une forte activité professionnelle et un sentiment de frustration multiplient le risque coronarien par 3,4; de même, le surmenage professionnel a un retentissement significatif lorsqu'il est associé à un manque de latitude dans les décisions (Herpin et Paillard , 2003). La dépression nerveuse survenant à la suite d'un IDM est associée à un risque augmenté de récurrence d'IDM et de mortalité dans plusieurs études, indépendamment de la sévérité de la maladie (Assmann *et al.*, 1998)

Enfin une relation négative a été notée entre la température journalière moyenne et le taux d'infarctus: une baisse de 10°C est associée à une augmentation de 13% du risque d'infarctus. L'effet néfaste de la pollution atmosphérique a également été dénoncé (Herpin et Paillard , 2003).

II. Le stress oxydant

II.1. Définition

Le stress oxydatif correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, induite soit par production excessive de radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante. Les effets des radicaux libres sont proportionnels à l'intensité et à la durée de leur production (Defraigne et Pincemail, 2008).

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses anti-oxydants et la production d'EOR, en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques) (Magder, 2006; Defraigne et Pincemail, 2008).

Le stress oxydatif est une déficience clé induite par des conditions diverses, y compris l'athérosclérose, l'hypertension, l'ischémie-reperfusion, l'hépatite, pancréatite, cancer et les maladies neurodégénératives (Esrefoglu, 2012). Au niveau cellulaire, les radicaux libres sont étroitement contrôlés par un programme anti-oxydant inductible, car, à de faibles montants non dangereux, ils contribuent à la signalisation physiologique et l'homéostasie (Sesti *et al.*, 2012) Les espèces réactives de l'oxygène et des espèces d'azote (ROS / RNS) sont les principaux agents responsables de maladies liées au stress oxydatif. (Tailor *et al.*, 2012).

II.2. Les prooxydants

II.2.1. Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (Halliwell et Gutteridge, 2007).

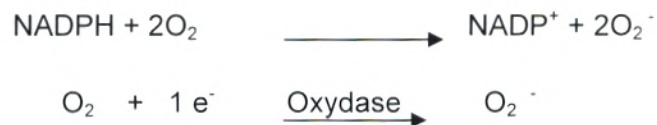
A l'état naturel, l'oxygène, qui comporte naturellement deux électrons célibataires sur la couche périphérique, est très instable avec une très forte tendance à « oxyder » les composés qu'il rencontre en leur arrachant un électron pour l'apparier à l'un de ses électrons célibataires. Ces composées deviennent à leur tour instables, initiant une véritable chaîne de peroxydation. D'autres éléments physiques ou chimiques peuvent également déstabiliser les électrons des molécules biologiques. Ainsi, la lumière (surtout certains rayonnements ultra-

violets), les radiations ionisantes (rayons X), la fumée de tabac et de nombreux composés chimiques peuvent générer des radicaux libres (Albert et Jore, 2005).

Il existe deux classes d'EOR

- La première classe concerne les radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié: l'anion superoxyde O_2^- , les radicaux hydroxyles HO^\cdot , hydroperoxyde HOO^\cdot , peroxyde ROO^\cdot , oxyde nitrique NO^\cdot .
- La deuxième classe concerne des dérivés de l'oxygène non radicalaire comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , Hydroperoxyde $ROOH$, peroxyde nitrite $ONOO^\cdot$
- L'utilisation de l'oxygène qui conduit à la production des radicaux libres se fait grâce à deux sortes de mécanismes (Rharass *et al.*, 2008) :
 - Soit par mécanisme métabolique, qui s'opère par deux enzymes : les oxydases et les oxygénases (par exemple NADPH oxydase, cytochrome oxydase, cyclooxygénase).

Les enzymes qui sont présentes dans nos métabolismes cellulaires, utilisent l'oxygène pour la production de l'énergie et sont capables de générer les radicaux libres par exemple :



- Soit par mécanisme photochimique, qui s'effectue par des réactions non enzymatiques

faisant intervenir par exemple les ultraviolets.

Ce danger est accentué par la multiplicité des sources de formation des radicaux libres.

On a des origines endogènes: mitochondries, phagocytose, métaux de transition, inflammation, choc thermique et aussi des origines exogènes : cigarette, radiations ionisantes, pollution atmosphérique (dioxyde nitreux), rayonnement UV, produits chimiques (amiante) et médicaments (figure 8).

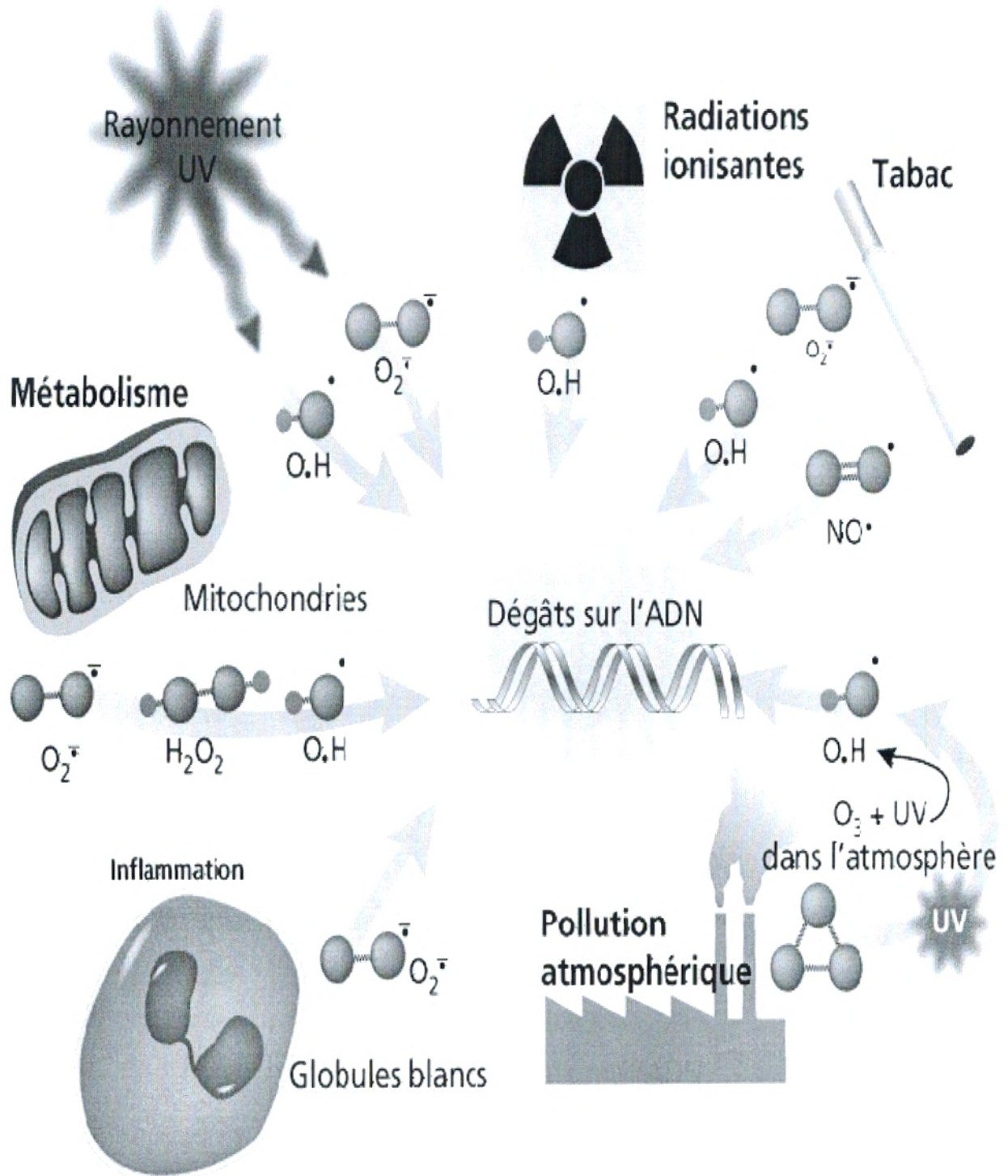


Figure 8. Sources des radicaux libres (Ohare, 2007).

II.2.2. Mode d'action des radicaux libres

Ces derniers agissent à plusieurs niveaux :

- Les radicaux libres peuvent agir sur les acides aminés aromatiques au niveau desquels ils vont entraîner une ouverture du cycle aromatique. Ce mécanisme est invoqué dans l'arthrose et la dégénérescence musculaire de la rétine.
- Ils peuvent également entraîner des mutations de l'ADN impliquées dans le mécanisme du cancer.
- Leur action sur l'oxydation des lipoprotéines est à l'origine des LDL-oxydés du paradigme moderne de l'athérosclérose (Defraigne et pincemail, 2008).
- Leur action sur l'oxydation du glucose est également reconnue dans la genèse du diabète de type II (Bordenave et al., 2008; Defraigne et pincemail, 2008).
- Enfin, ils ont une action sur la destruction de la membrane endothéliale des vaisseaux par l'oxydation lipidique (Duriez, 2000; Ellis et Triggle, 2003; Duranteau et Huet, 2008).

Il faut cependant garder à l'esprit que si les radicaux libres peuvent détruire les molécules et les cellules, ils ont également un rôle positif :

- Ils peuvent avoir un rôle d'information par exemple, la présence d'eau oxygénée sur des vaisseaux sectionnés stimule en effet la sécrétion de facteurs de croissance (Duriez, 2000; Duranteau et Huet, 2008).
- Ils régulent le phénomène d'apoptose qui est un suicide programmé des cellules (Curtain *et al.*, 2002).
- Ils activent les facteurs de transcription (Duranteau et Huet, 2008).
- Ils modulent l'expression de gènes de structure qui codent les enzymes antioxydants (Holgrem, 2003; Duranteau et Huet, 2008).

II.3. Les antioxydants

Pour s'en protéger, l'organisme dispose d'un vaste réseau d'antioxydants ou de défense (Del rio, 2002; Defraigne et Pincemail, 2008).

Si l'hypothèse de l'implication des espèces oxygénées activées dans le développement du cancer est fondée, il est dès lors logique de penser qu'une prévention de cette maladie puisse être apportée par la prise régulière d'antioxydants (Defraigne et Pincemail, 2008).

Expérimentalement, il est bien prouvé que les antioxydants présentent des activités anticancéreuses non seulement en piégeant les EOR mais aussi en augmentant la réponse

immunitaire, en stimulant les gènes récessifs du cancer, en diminuant l'expression d'oncogènes ou en inhibant l'angiogénèse des tumeurs (Shklar, 1998).

De très nombreuses études épidémiologiques suggèrent qu'une alimentation en fruits et/ou en légumes riches en antioxydants est associée à une réduction du risque de développer différents types de cancer (Defraigne & Pincemail, 2008).

En condition physiologique, le pouvoir oxydant des EOR est contrebalancé par de nombreux antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques. Cet état d'équilibre permet à l'organisme d'assurer une défense anti-infectieuse efficace (Kobayashi *et al.*, 2001) et de contribuer à la transduction de signaux intracellulaires (Davis *et al.*, 2001; De Moffarts *et al.*, 2005).

La production de EOR et EORN est normale pour tous les organismes vivant en aérobie et ne constitue pas en soit une situation de stress oxydant (Favier, 2003) parce que la cellule dispose d'un système complexe de détoxification contre les EOR comprenant des enzymes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase...) Parmi les antioxydants d'origine alimentaire, on trouve des piègeurs de radicaux libres (Evans & Halliwell, 2001) comme les polyphénols, les vitamines E et C, les caroténoïdes et les composés alliés, ou des éléments-trace constituant des défenses enzymatiques antioxydantes (Temple, 2000; Evans et Halliwell, 2001; Favier, 2003).

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'EOR et d'ENR. Le terme d'anti-oxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxygène, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Defraigne et Pincemail, 2008).

Les cellules utilisent ainsi de nombreuses stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003).

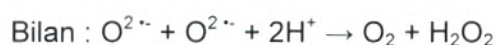
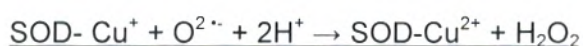
Dans le système de défense anti-oxydant de notre organisme, on distingue des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques.

II.3.1. Système enzymatique

Ces systèmes sont composés d'enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la peroxydase, capables d'éliminer les radicaux libres et d'autres espèces réactives (figure 9)

❖ Superoxyde dismutase (SOD)

Les superoxyde dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxyde en produisant une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène (Defraigne et Pincemail, 2008). La structure des superoxydes dismutases est bien conservée lors de l'évolution et présente un puit hydrophobe au centre de la protéine dans lequel se glisse l'anion superoxyde. La nature du métal situé au centre de l'enzyme permet de distinguer les superoxyde dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, de celles à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules épithéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD) (Zelko *et al.*, 2002). Les dismutases constituent un groupe ²d'enzymes capable de catalyser la réaction suivante sans consommer d'énergie ni de cofacteur :

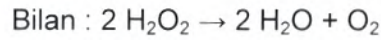
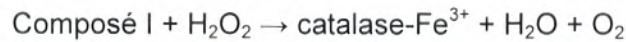
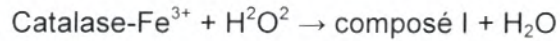


Il existe plusieurs enzymes à activité SOD variant par leur séquence protéique et leurs cofacteurs métalliques (Defraigne et Pincemail, 2008). Cet enzyme est présent dans la plupart des espèces au niveau du cytoplasme, sous forme d'un dimère dont chaque unité est d'un poids moléculaire de 16 000 daltons possède 1 atome de cuivre et 1 atome de zinc (Fridovitch et Frelut, 1996).

Il existe plusieurs iso-enzymes qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Zelko *et al.*, 2002) :

❖ Catalase

La catalase est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. La réaction catalysée par cette enzyme consiste en une dismutation du peroxyde d'hydrogène :



La catalase est composée de 4 sous-unités protéiques, chacune contenant un groupement héminique avec Fe^{3+} lié au site actif. Chaque molécule a habituellement une molécule de NADPH, H^+ qui lui est liée, la protégeant ainsi d'une éventuelle inactivation par le peroxyde d'hydrogène. La dissociation des sous-unités résulte en une perte de l'activité catalase (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003).

❖ **Glutathion peroxydase (GPX)**

Les glutathion peroxydases (GPx) ont pour principal rôle l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'attaque des radicaux libres sur les acides gras polyinsaturés. Elles ont besoin de la présence de glutathion réduit et de sélénium pour fonctionner normalement. L'activité GPx peut être dosée dans différents milieux extracellulaires et intracellulaires. Le prélèvement et le traitement des échantillons doivent prendre en compte la fragilité relative de cette enzyme (Richard *et al.*, 1997).

❖ **Thiorédoxines (TRX) et la thiorédoxine réductase (TRXR)**

Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme les protéines à groupement thiol (SH). Elles jouent un rôle important dans la régulation du système immunitaire (Hattori *et al.*, 2003).

Une fois oxydée, la thiorédoxine est réduite par thiorédoxine réductase (TRXR) qui est une enzyme possédant un groupement séléno-cysteine dans son site actif. La TRXR intervient aussi dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Pincemail, 2004).

❖ **Protéines de stress thermique**

Cette famille de protéines joue un rôle essentiel dans les processus de translocation, de stabilisation et d'assemblage des protéines. Elles interviennent aussi dans la réparation des dommages oxydatifs induits au niveau des protéines par un stress oxydant. Ces protéines permettent aux cellules de résister à un environnement hostile en prolongeant leur viabilité jusqu'à l'apparition de conditions plus favorables (Pincemail, 2004).

L'augmentation de la synthèse de ces protéines doit être considérée comme une adaptation au stress oxydant induit par différentes conditions: régulation thermique (hypothermie et hyperthermie), infection virale, exercice physique (Kregel, 2002).

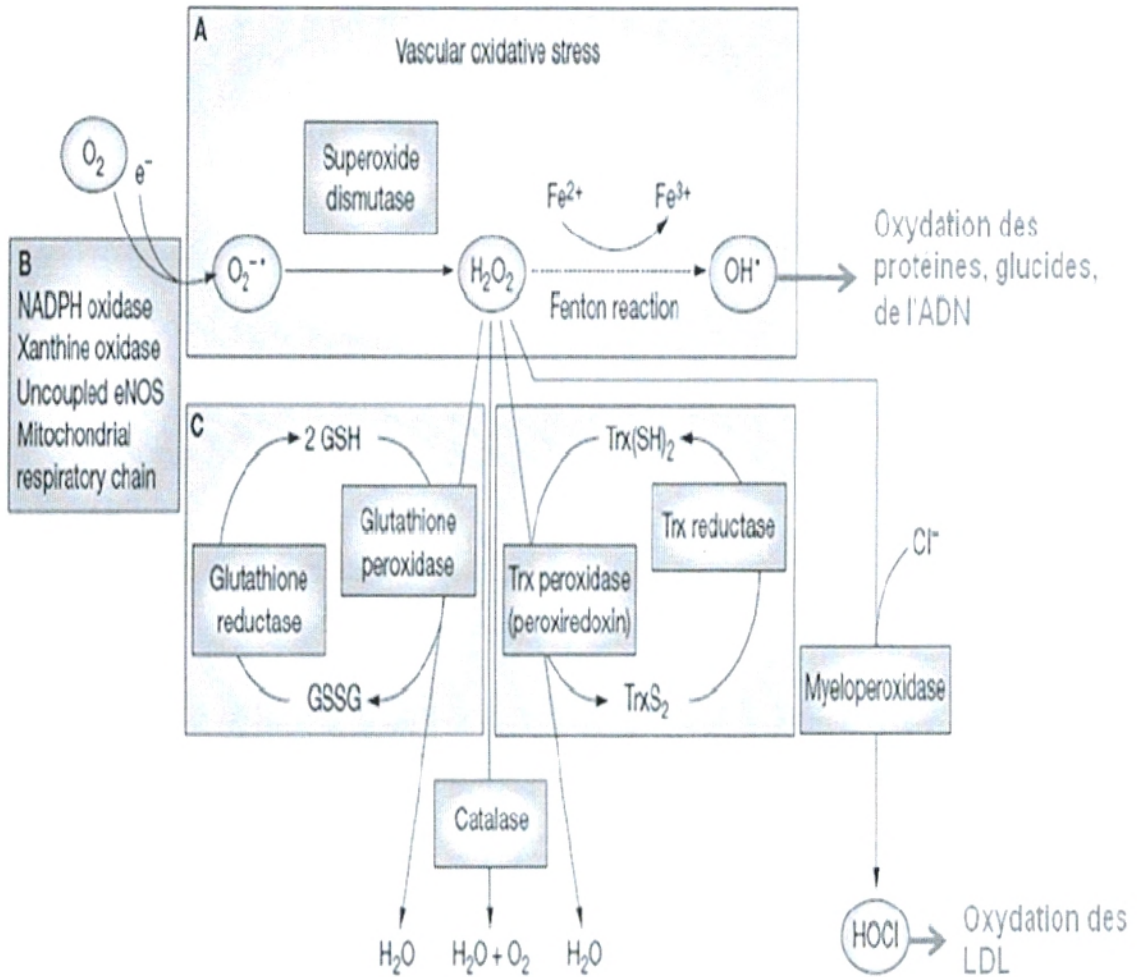


Figure 9. Enzymes impliquées dans la génération et l'inactivation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Forstermann, 2008).

O₂^{•-} : anion superoxyde; H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène; ·OH : radical hydroxyle; GSH : glutathion réduit;

GSSG : glutathion oxydé; HOCl : acide hypochloreux; Trx : thiorédoxine.

II.3.2. Système non enzymatique

Le groupe des anti-oxydants non-enzymatiques comprend de nombreux composés, dont certains sont hydrophiles (vitamine C, glutathion) et d'autres lipophiles (tocophérol, β -carotène, ubiquinol). Les concentrations de tous ces composés peuvent être déterminées aussi bien au niveau du plasma que des éléments figurés du sang et servir à l'évaluation du statut anti-oxydant de l'organisme. Une détermination des composés anti-oxydants lipophiles peut aussi être réalisée au niveau des différentes classes de lipoprotéines, mais l'interprétation rigoureuse des résultats nécessite de rapporter leur concentration à celle d'un constituant lipidique de l'échantillon à analyser tel que le cholestérol (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003).

Une nouvelle étude américaine révèle que la vitamine B6 pourrait diminuer de moitié le risque de cancer colorectal (Lee, 2009).

Il est également possible de classer ces systèmes antioxydants selon qu'ils soient hydrosolubles, assurant une protection des milieux intra et extra cellulaire, ou liposolubles agissant alors au niveau des membranes et lipoprotéines circulantes et on a aussi les oligo-éléments.

- **Antioxydants hydrosolubles**

- ❖ **Vitamine C**

La vitamine C ou acide ascorbique n'est pas synthétisé par l'organisme, sa concentration plasmatique dépend fortement de l'alimentation.

C'est un excellent piègeur des EOR qui peut protéger divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation. Aux concentrations physiologiques, La vitamine C est capable d'empêcher l'oxydation des LDL produite par divers systèmes générateurs d'EOR (neutrophiles activités, cellules endothéliales activées). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Defraigne & Pincemail, 2008).

- ❖ **Vitamine B6**

La vitamine B6 existe sous 3 formes : pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine. La pyridoxine est la forme la plus utilisée. La vitamine B6 est un puissant antioxydant, qui contribue à débarrasser l'organisme des substances toxiques que nous absorbons (Lee, 2009).

❖ Glutathion

Le glutathion (γ glutamyl-cysteinyl-glycine ou GSH) est un tri peptide qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant.

Le glutathion peut intervenir directement avec les espèces oxygénées activées mais il est principalement utilisé comme substrat de la glutathion peroxydase qui assure l'élimination des lipides peroxydés. Il joue également un rôle clé dans l'expression des gènes pour des protéines pro- et anti- inflammatoires (Pincemail, 2004; Defraigne et Pincemail, 2008).

❖ L'acide urique

Constitue le produit terminal majeur du métabolisme des purines chez les primates, possédant des propriétés antioxydantes, il peut interagir avec les espèces oxygénées activées, et tout particulièrement avec le radical hydroxyle.

Il apparaît comme étant l'antioxydant plasmatique le plus efficace en terme de réactivité avec les EOR (Alleva *et al.*, 1997).

• Antioxydants liposolubles

La vitamine E, β carotène, ubiquinol Q10, sont des antioxydants liposolubles, transportés par les lipoprotéines, en particulier les lipoprotéines de basse densité (LDL) qu'ils protègent des différents phénomènes de peroxydation lipidique touchant les acides gras poly-insaturés. Ces antioxydants agissent aussi au niveau membranaire (Delattre *et al.*, 2003).

❖ Vitamine E

La vitamine E ou tocophérol est une vitamine lipophile, elle a la capacité de capter et de stabiliser l'électron célibataire des radicaux libres, suivant la réaction suivante :

$\text{Tocophérol-OH} + \text{L00} \cdot \longrightarrow \text{Tocophérol-O} \cdot + \text{LOOH}$. (L00 \cdot : radical libre lipidique)
(Florian *et al.*, 2005).

La vitamine E joue principalement son rôle d'antioxydant dans les membranes biologiques car la chaîne isoprénoïde de cette vitamine lui facilite l'accès et les mouvements en milieu hydrophobe. Les mitochondries, qui sont génératrices de radicaux libres, contiennent de forts taux de vitamine E dans leur membrane lipidique constituée d'acides gras poly insaturés, donc elle joue un rôle protecteur empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par stress oxydant.

La vitamine E n'est anticarcinogène qu'à des doses pharmacologiques (au moins 50

mg par jour) (Temple, 2000; Defraigne et Pincemail, 2008).

❖ Vitamine A

La vitamine A est apportée par l'alimentation sous forme estérifiée ou sous forme de caroténoïde (Murry *et al.*, 2003).

La plus part de caroténoïde et vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet et peuvent ainsi empêcher l'oxydation de plusieurs substrats biologiques dont les acides poly insaturés.

Une théorie a été développée selon laquelle les β carotènes et vitamine A auraient une activité anti cancérogène due à ces propriétés d'antioxydant qui réduiraient les dommages de l'ADN cassé par les stress oxydatifs de la fumée de tabac (Defraigne et Pincemail, 2008).

❖ Le coenzyme Q10

L'ubiquinone du latin « ubi » c'est-à-dire « partout » est synthétisé par presque toutes les cellules (Moussard, 2002). L'ubiquinone Q10 comporte dix résidus isoprénique (n=10), il est bien connu pour son rôle vital dans la production d'énergie au niveau de la mitochondrie (Audigle et Zouszaine, 2003).

Le coenzyme Q10, principalement sous sa forme réduite ubiquinol-10 ou coenzyme Q10 H₂ possède aussi des propriétés antioxydantes intéressantes puisque tout comme la vit E il est capable d'inhiber la peroxydation lipidique (Defraigne et Pincemail, 2008).

• Oligo –éléments

Les oligoéléments sont indispensables pour l'activité des enzymes antioxydants, on distingue :

❖ Le cuivre

Cet oligoélément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il joue un rôle important dans le déclenchement des réactions conduisant à la formation d'espèces oxygénées activées. Une concentration trop élevée en cuivre pourra donc refléter la présence d'un stress oxydant (Pincemail, 2004; Defraigne et Pincemail, 2008).

Plusieurs études ont noté une augmentation du taux sérique en cuivre au cours du processus de vieillissement (Del-Corso *et al.*, 2000 ; Berger, 2006).

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

❖ Zinc

Cet oligoélément est un des cofacteurs essentiels de SOD. La prise de Zinc conduit à long terme à l'induction des protéines anti oxydantes comme les métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines, il peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (Pincemail, 2004; Defraigne et Pincemail, 2008).

Un déficit en zinc résulte généralement en une sensibilité plus accrue au stress oxydant. Une études a montré que les personnes âgées atteintes de maladies dégénératives ont un rapport cuivre/ zinc plus élevé que les personnes âgées en bonne santé (Berger, 2006).

La concentration normale plasmatique du zinc est 0,7 à 1,2 mg /l.

❖ Le sélénium

Découvert en 1817 par J. Berzelius, le sélénium est un oligo-élément, c'est-à-dire une substance présente dans le corps en quantité infime mais jouant un rôle majeur dans certains mécanismes, notamment dans l'activité de la Glutathion Peroxydase, enzyme majeure de la lutte contre les radicaux libres (Cesarini, 2004).

Dans une étude multicentrique randomisée, des chercheurs américains ont récemment constaté une réduction de 58% des cas de cancer colorectal chez des personnes prenant chaque jour une dose de 200µg de sélénium (Clark, 1998).

Le selenium est un cofacteur de divers enzymes à activité antioxydante (Defraigne et Pincemail, 2008).

Cet oligoélément n'est pas autant qu'un antioxydant mais il participe au processus de défense contre les EOR comme cofacteur de la glutathion peroxydase (Pincemail, 2004).

La concentration normale plasmatique du sélénium est 94 à 130 mg/l.

II.4. Les cibles biologiques et les marqueurs du stress oxydant

Les EOR réagissent avec toute une série de substrats biologiques comme les protéines, les lipides ou l'acide désoxyribonucléique (ADN). La mise en évidence de dérivés d'oxydation de ces différents substrats est le reflet de la présence des marqueurs d'un stress oxydants (Pincemail, 2004).

II.4.1. Au niveau lipidique

La peroxydation lipidique désigne l'attaque des lipides (principalement les acides gras polyinsaturés) par des radicaux libres, comme le radical hydroxyle (HO•), capables d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Il s'agit d'une réaction en chaîne qui se poursuit par la transformation du radical peroxyde, au contact d'un autre acide gras, en un nouveau radical diène conjugué (Duranteau et Huet, 2008). Les radicaux diènes conjugués, sous l'action de l'oxygène, se transforment en hydroperoxydes qui peuvent, soit être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase, soit continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes, acides et alcanes volatiles. Le radical peroxyde peut évoluer en un peroxyde cyclique dont la coupure peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde ou l'hydroxynonéal. Cette attaque des lipides peut concerner aussi bien les phospholipides membranaires que les lipoprotéines circulantes, avec évidemment des conséquences différentes. En effet, l'atteinte des phospholipides membranaires va entraîner une modification de la fluidité membranaire, altérer les systèmes de transfert d'ions ainsi que le fonctionnement de nombreux transporteurs, récepteurs et affecter les voies de transduction des signaux (Favier, 2003). L'attaque des lipoprotéines circulantes, notamment des LDL, va aboutir à l'oxydation de ces dernières, qui seront ensuite captées par les macrophages pour donner des cellules spumeuses à la base du dépôt lipidique de la plaque d'athérome (Beaudeau *et al.*, 2003; Favier, 2003; Peynet *et al.*, 2005). Il ressort de ce qui précède que l'identification de marqueurs fiables de la peroxydation lipidique est nécessaire pour apprécier l'importance du stress oxydant, le problème du choix des marqueurs étant beaucoup plus difficile dans les systèmes complexes ouverts (*in vivo*) que dans les systèmes simples fermés (*in vitro*). Dans tous les cas, les produits issus de la peroxydation lipidique semblent être les meilleurs marqueurs du stress oxydant, même si les EOR provoquent également des modifications oxydatives de l'ADN et des protéines (Defraigne et Pincemail, 2008).

Trois grandes classes des marqueurs sont utilisées :

- * Les diènes conjugués ;
- *Les hydroperoxydes lipidiques ;
- *Les aldéhydes : le MDA (malondialdéhyde).

II.4.2. Au niveau des lipoprotéines

L'oxydation du mauvais cholestérol aboutit à la formation des LDL oxydés qui seront à l'origine de l'athérosclérose. La mesure de cette oxydation s'effectue par le dosage d'anticorps LDL oxydés (Roussi, 2006).

II.4.3. Au niveau des protéines

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible de réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications sous l'action des EOR et des ENR, ou des métaux de transition (Duranteau et Huet, 2008). Les protéines atteintes peuvent se fragmenter ou se dénaturer avec altération de leurs structures primaires et secondaires. Les dommages oxydatifs peuvent se manifester par l'apparition de groupements hydroperoxydes, l'oxydation du squelette carboné de la chaîne polypeptidique conduisant à une fragmentation des protéines et/ou à la formation de liaisons croisées intra- ou inter-chaînes et à l'apparition de groupements carbonylés ou dicarbonylés. On peut également observer une oxydation des chaînes latérales des acides aminés, notamment de la cystéine et de la méthionine, avec formation de ponts disulfures. La nitration des protéines par le peroxy-nitrite se traduit par l'inactivation de nombreuses enzymes telles que la Mn-SOD (Grune *et al.*, 1998). Les acides aminés et protéines peuvent subir d'autres modifications d'une façon indirecte comme la glyco-oxydation et la lipo-oxydation. Certains acides aminés comme la phénylalanine et la tyrosine peuvent subir un processus d'hydroxylation qui génère la formation d'ortho- et de méta-tyrosine dans le cas de la phénylalanine (Davies *et al.*, 1999). Les protéines comportant un pont sulfhydryle sont les plus sensibles aux attaques radicalaires. C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui, après oxydation, deviennent inactives et beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (Sen, 2001). La détection des groupements carbonylés au niveau des protéines oxydées est aussi une technique très utilisée (Pantke *et al.*, 1999). En présence de 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH), ces dérivés carbonylés peuvent être dosés dans les spécimens biologiques par spectrophotométrie, ou grâce à l'utilisation d'anticorps mono- ou polyclonaux (Levine *et al.*, 1994). La détermination de ces dérivés est assez délicate à mettre en oeuvre du fait des nombreuses manipulations à effectuer. Par ailleurs, un manque de spécificité en relation avec des problèmes d'interférences dues à des aldéhydes ou à des cétones provenant des sucres a été rapporté (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003). D'autres marqueurs d'oxydation des protéines, en particulier le sulfoxyde de méthionine, la nitrotyrosine et l'ortho-tyrosine, ont été décrits comme présentant une meilleure spécificité (Davies *et al.*, 1999).

II.4.4. Au niveau de l'ADN du noyau cellulaire

Les acides ribo- et désoxyribonucléiques (ARN et ADN) constituent des cibles cellulaires importantes pour les attaques radicalaires (Halliwell et Gutteridge, 2007). Les lésions induites par les radicaux libres au niveau de ces molécules peuvent consister en des modifications de bases, des cassures simple-brin ou double-brin de la chaîne oligonucléotidique, ou des pontages avec des résidus protéiques (Favier, 1997; Duranteau et Huet, 2008). Les modifications observées après action du radical hydroxyle sont très nombreuses et peuvent consister en une conversion des bases ou oxydation du désoxyribose entraînant une coupure des brins (Halliwell et Gutteridge, 2007). Ces dénaturations peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome. La recherche des produits d'oxydation peut être réalisée dans des cellules circulantes isolées ou dans des biopsies, mais aussi dans l'urine où se retrouvent les composés oxydés (bases ou nucléosides) après excision par les enzymes de réparation (Favier, 1997). De nombreux produits de réaction des radicaux libres sur l'ADN ont été identifiés, tels que la 8-hydroxyguanosine, le thymidine glycol, la 8-hydroxyguanine, la 8-hydroxy-adénine, la 5-hydroxyméthyl-uracil, le cytosine-glycol (Demple, 1991). Parmi les composés d'oxydation de l'ADN, deux d'entre eux se sont révélés être des marqueurs intéressants. Il s'agit de la 8-hydroxy-2-désoxyguanosine (8-OH-dG) et du thymidine glycol. La présence de ces produits d'oxydation peut être recherchée dans les cellules circulantes isolées ou dans des biopsies par la technique des comètes ou "Single technique Cell Gel Electrophoresis".

III. Stress oxydatif et athérosclérose

Le stress oxydatif présent au sein de l'endothélium activé, les composants lipidiques et protéiques des LDL subissent des modifications oxydatives. D'ailleurs, les radicaux lipidiques tels que l'anion superoxyde peuvent réagir avec le NO pour former le peroxynitrite, agent qui catalyse l'oxydation des acides gras poly-insaturés, composants essentiels des phospholipides et des esters de cholestérol dans les particules LDL. L'activation endothéliale et le stress oxydant avec lequel elle est intimement associée, constituent donc des facteurs clés dans la formation intinale des LDL contenant des lipides oxydés. Les LDL oxydées possèdent une activité pro-inflammatoire intrinsèque importante due principalement à leur contenu en phospholipides (PL) oxydés. C'est ainsi que de nombreux monocytes seront recrutés au niveau intimal.

La charge négative des LDL oxydées, qui résulte de l'interaction covalente entre les produits d'oxydation (les aldéhydes) des acides gras poly-insaturés des PL et des esters de cholestérol et les résidus de lysine et d'arginine de l'apo B100, déclenche leur liaison aux récepteurs "scavengers" des monocytes- macrophages sous-intimaux. Suite à l'internalisation des LDL oxydées, les macrophages accumulent d'importantes quantités de

cholestérol sous forme de gouttelettes d'esters de cholestérol, se transformant ainsi en cellules spumeuses. Les macrophages captent les LDL oxydées par l'intermédiaire des récepteurs "scavengers" (SR-AI, SRAII, CD36, CD68) qui ne sont pas sous le contrôle négatif du contenu intracellulaire en cholestérol. Les cellules spumeuses d'origine macrophagique représentent un élément clé des lésions d'athérosclérose, aussi bien au niveau des stries lipidiques que des plaques complexes. Aune étape plus avancée de l'athérogenèse, une chape fibreuse constituée majoritairement de cellules musculaires lisses vient coiffer la masse lipidique, donnant naissance à la plaque fibrolipidique. De plus, des lymphocytes T sont également présents en quantité abondante, représentant environ 20% des cellules totales, en bordure de la plaque et dans la chape fibreuse. Il est à signaler que les cellules musculaires lisses, dont la prolifération dans l'intima est un élément central du processus de la constitution d'une plaque, assurent sa stabilité grâce à leur production de protéines de la matrice extracellulaire, et notamment du collagène, d'élastine et des protéoglycanes (Chapman et Lesnik, 2006).

Matériels et méthodes



I. Population étudiée

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de physiologie, physiopathologie et biochimie de la Nutrition (PPABIONUT), Faculté des sciences de la nature et de la vie ; de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.

Notre travail est réalisé auprès d'une population de 13 hommes atteints d'un syndrome coronarien et de 13 hommes sains, dans une étude cas-témoins, au niveau du CHU de Tlemcen (service de cardiologie).

Tableau 1. Caractéristiques de la population étudiée

| Caractéristiques | Témoins | Cas |
|--------------------------|-------------|-----------------|
| Effectifs | 13 | 13 |
| Age (ans) | 63,89±15,36 | 54,308 ± 2.382 |
| Poids (kg) | 76,35±5,62 | 78,692 ± 12,552 |
| Taille (m) | 1,72±0,098 | 1,725 ± 0,042 |
| IMC (kg/m ²) | 25,80 ±1,09 | 26,377 ± 1.030 |
| Antécédants (%) | / | 38.462 |
| Tabagisme (%) | / | 61.538 |
| HTA (%) | / | 53.846 |
| AVC (%) | / | 7.692 |
| DT2 (%) | / | 30.769 |
| Alcool (%) | / | 7.692 |

Chaque valeur représente la moyenne ± l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

IMC : indice de masse corporelle = poids (kg) / taille (m)²

HTA : hypertension artérielle

AVC : accident vasculaire cérébrale

DT2 : diabète de type 2

- **les prélèvements sanguins**

Les prélèvements sanguins se font le matin à jeun, sur la veine du pli du coude, sur tubes avec anticoagulant (EDTA). Tous ces tubes sont étiquetés et répertoriés de manière précise. Le sang prélevé est centrifugé à 3000 tours / min pendant 10 minutes. Le plasma récupéré sert pour la détermination des marqueurs du stress oxydatif plasmatiques. Le culot restant est lavé avec l'eau physiologique, les érythrocytes sont lysées par addition d'eau distillée glacée. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 4000 tours / min pendant 10 minutes. Le lysat érythrocytaire est ensuite récupéré afin de doser les paramètres érythrocytaires du statut oxydant / antioxydant. Le dosage de la vitamine C, le NO et de l'O₂ se font le jour même du prélèvement. Les prélèvements ont été réalisés avec le plein consentement des patients.

II. Détermination du statut oxydant / antioxydant

II.1 Dosage de la vitamine C (Jacota et Dani, 1982)

La vitamine C plasmatique est dosée selon la méthode de Jacota et Dani (1982) sur le plasma en utilisant le réactif de folin et une gamme d'acide ascorbique.

Après utilisation de l'acide trichloroacétique TCA à 10% pour précipiter les protéines, et après une centrifugation de 3000 tours par minute le folin est ajouté au surnageant. La vitamine C réduit le réactif en donnant une coloration jaune. L'intensité de la coloration représente la concentration en vitamine C à une longueur d'onde de 769nm présente dans l'échantillon. la concentration de la vitamine C est déduite à l'aide d'une courbe étalon d'une solution d'acide ascorbique.

II.2 Dosage de l'Anion superoxyde (- O₂⁻) (Auclair *et al.*, 1985)

Le principe est basé sur la réduction du NBT (Nitroblue tetrazolium) en monofarmazan par le O₂⁻, la couleur jaune est mesurée à 550 nm. On joute sur du plasma ou lysat 50µl NTB à 0,3 %, après le vortex une incubation de 2 heures à température ambiante, ce temps de réaction permet la réaction du NTB en monofarmazan par l'anion superoxyde. Le monofarmazan est un chromophore qui absorbe à 550nm.

$$C = DO / \varepsilon \text{ (}\mu\text{M)}, \varepsilon = 120.10^3 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1} = 0,12 \mu \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

II.3 Dosage du monoxyde d'azote (NO) (Guevara I *et al.*, 1998) **Griess reaction**

• **Principe :** Le NO donne Nitrates + Nitrites. Le Cadmium (Cd) réduit les nitrates en nitrites. les billes du Cadmium sont lavés 2 fois avec du HCl et 2 fois avec du NH₄OH pendant 2min pour chaque lavage afin de les chargés pour la reaction. Les billes sont mis en contact avec le plasma après une deprotéinisation au ZnSO₄ pendant quelque heure sous agitation ou toute un nuit sans agitation. Sur le surnageant est ajouté du sulfatinamide et du NED pour une lecture de DO à 540nm. $\epsilon = 38.10^3 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

II.4 Dosage du MDA malondialdéhyde (Nourooz-Zadeh *et al.*, 1996) :

Le malondialdéhyde (MDA) plasmatique et érythrocytaire représente le marquer le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et 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. La lecture de la DO se fait à 532nm contre un blanc d'eau distillée. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à 532nm).

II.5 Dosage de l'activité de la catalase plasmatique et érythrocytaire (Aebi, 1974).

Cette activité enzymatique est mesurée par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (Aebi, 1974).

Le milieu réactionnel contient le plasma ou le lysat (source d'enzyme catalase), la solution de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le réactif de coloration titanium oxyde sulfate (TiOSO₄). En présence de catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorbance de la solution H₂O₂ en fonction du temps. La lecture se fait à 420nm. Les concentrations du H₂O₂ restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H₂O₂.

Le calcul de l'activité enzymatique est le suivant :

$A = (\text{Log de la concentration de départ} - \text{Log de la concentration d'H}_2\text{O}_2 \text{ restante})$. Donc :

L'activité de la catalase plasmatique exprimée en U / ml / min = $A \times V_i / V_e / T$. L'activité de la catalase érythrocytaire exprimée en U / ml / min = $A \times V_i \times D / V_e / T$. ou : V_i : volume de l'incubation ; V_e : volume de l'échantillon ; T : temps d'incubation ; D : dilution de lysat.

II.6 Dosage du glutathion réduit (GSH) (Ellman, 1959) :

Principe : la formation de GSH est détectée par l'agent de TNB, la réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5 dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) selon la réaction suivante :



Le TNB absorbe à 412 nm avec un coefficient d'extinction égal à $13,6 \text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

II.7 Analyse statistique

L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel STATISCA (version 4.1, Stasoft, Paris, France). Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre témoins et patients présentant la thromboembolie est réalisée deux à deux par le test « t » de Student pour les différents paramètres. Les différences sont considérées très significative à $** P \leq 0,05$ et hautement significative à $*** P \leq 0,01$.

Résultats et interprétations



Les caractéristiques de la population étudiée sont données dans le tableau1. Les résultats obtenus, montrent qu'il n'existe aucune différence significative concernant l'âge et la taille l'indice de masse corporelle (IMC) et le poids. (Tableau 1)

1. Teneurs en vitamine C (figure 10)

Concernant les teneurs en la vitamine C les résultats montrent une diminution très significative chez les patients présentant un syndrome coronarien comparé aux témoins.

2. L'activité enzymatique de la catalase (figure 11)

On note une augmentation très significative de L'activité de la catalase chez les patients présentant un syndrome coronarien contrairement à la même activité enzymatique retrouvée chez les témoins.

3. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires du GSH (figure 12)

Nos résultats montrent que les teneurs en GSH plasmatique sont significativement augmentées chez les coronariens comparées aux témoins. Par contre les teneurs de GSH érythrocytaire présentent une augmentation très significative chez les patients présentant un syndrome coronarien comparées aux témoins.

4. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en MDA (figure 13)

Les teneurs en MDA plasmatique montrent une augmentation très significative chez les coronariens comparées aux témoins ; par contre les teneurs en MDA érythrocytaire montrent une augmentation significative chez les cas malades par rapport à celles trouvées chez les témoins.

5. Teneurs en monoxyde d'azote (figure 14)

Chez les patients présentant un syndrome coronariens les teneurs en NO présentent une augmentation hautement significative comparées à celles trouvées chez les témoins.

6. Teneurs en anion superoxyde (figure 15)

Les teneurs en anion superoxyde sont augmentées de manière hautement significative chez les coronariens par rapport à celles obtenues chez les témoins.

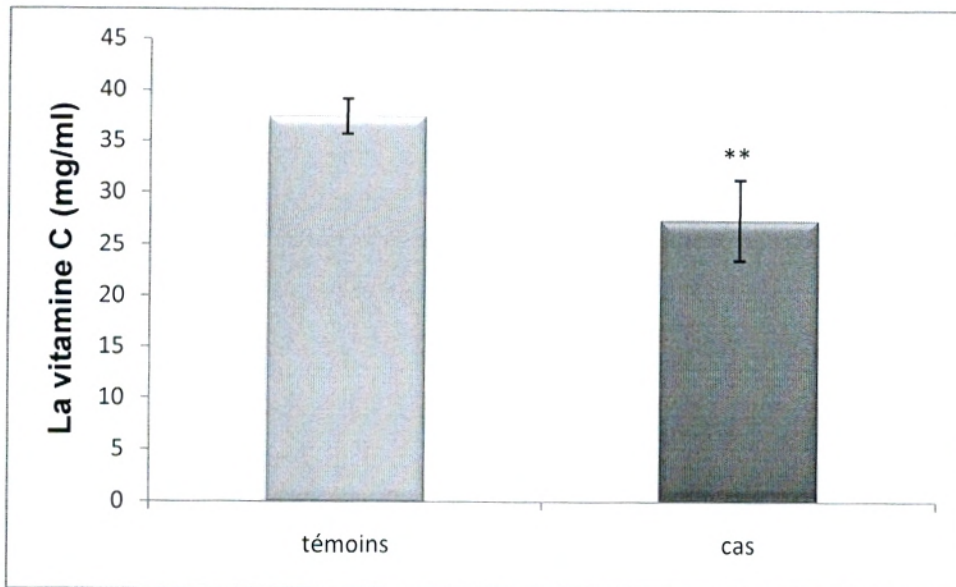


Figure 10. Teneurs plasmatiques en vitamine C chez les coronariens comparées aux témoins.

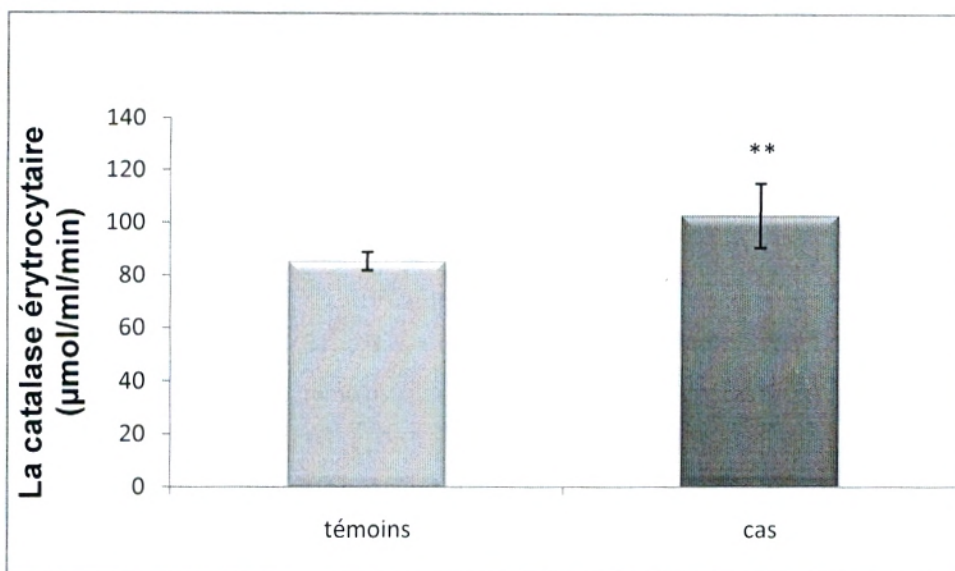


Figure 11. L'activité de la catalase érythrocytaire en $\mu\text{mol/ml/min}$ chez les coronariens comparées aux témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

* $p < 0.1$ différence significative

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

*** $P < 0,001$ différence hautement significative

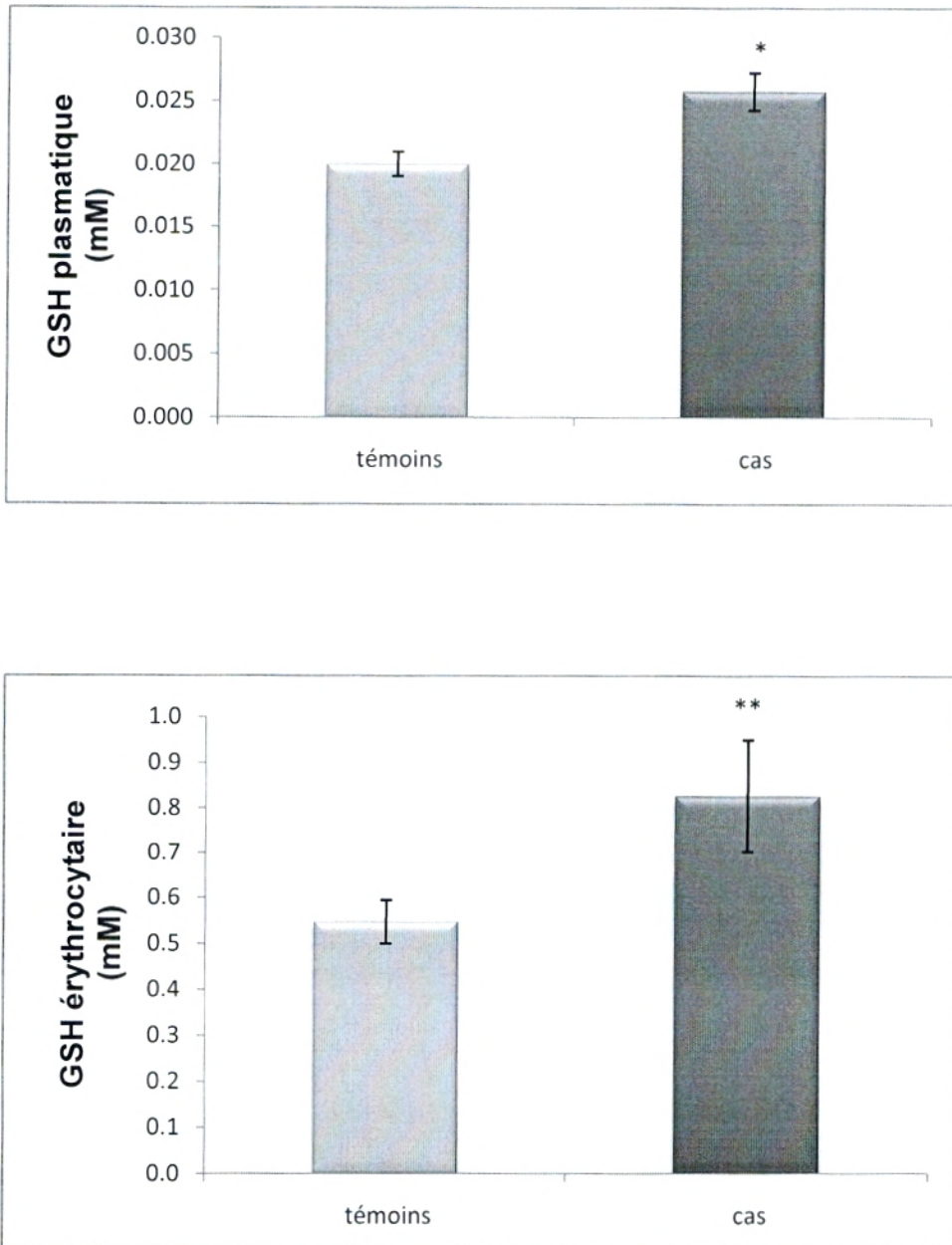


Figure 12 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en GSH chez les coronariens comparées aux témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

* $p < 0,1$ différence significative

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

*** $P < 0,001$ différence hautement significative

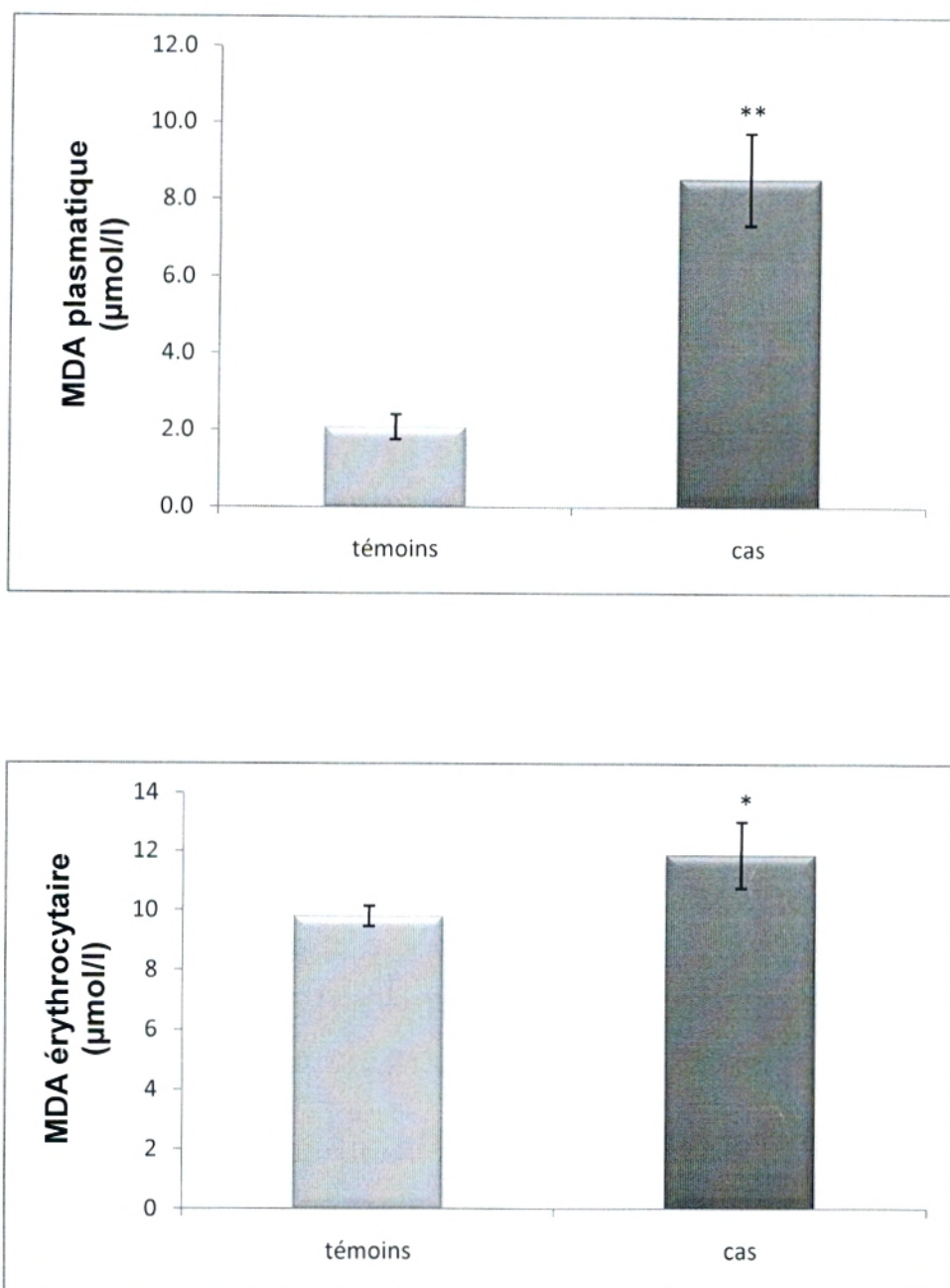


Figure 13. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en MDA chez les coronariens comparées aux témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

* $P < 0.1$ différence significative

** $P < 0,01$ différence très significative

*** $P < 0,001$ différence hautement significative

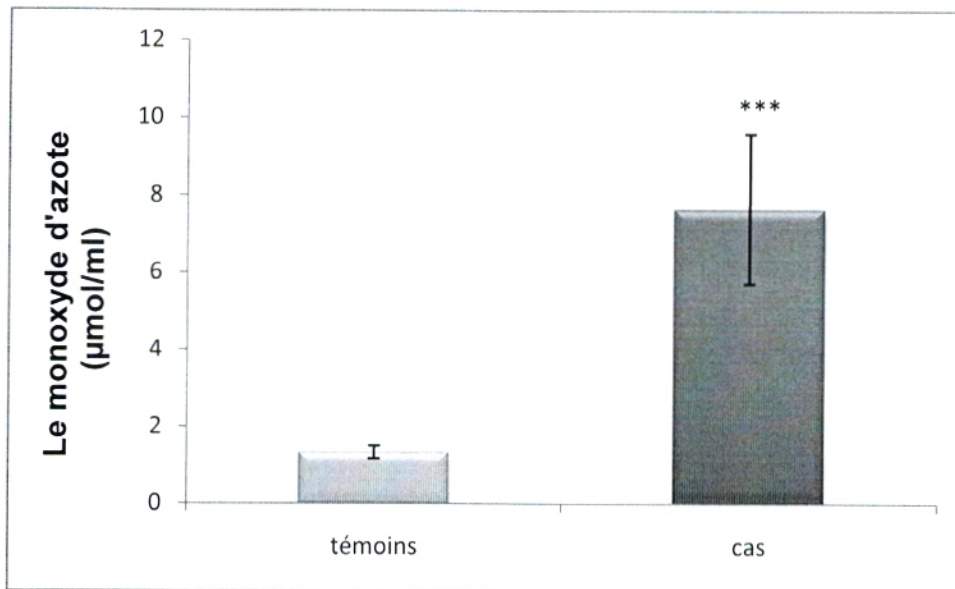


Figure 14. Teneurs plasmatiques en monoxyde d'azote chez les coronariens thromboembolie comparées aux témoins.

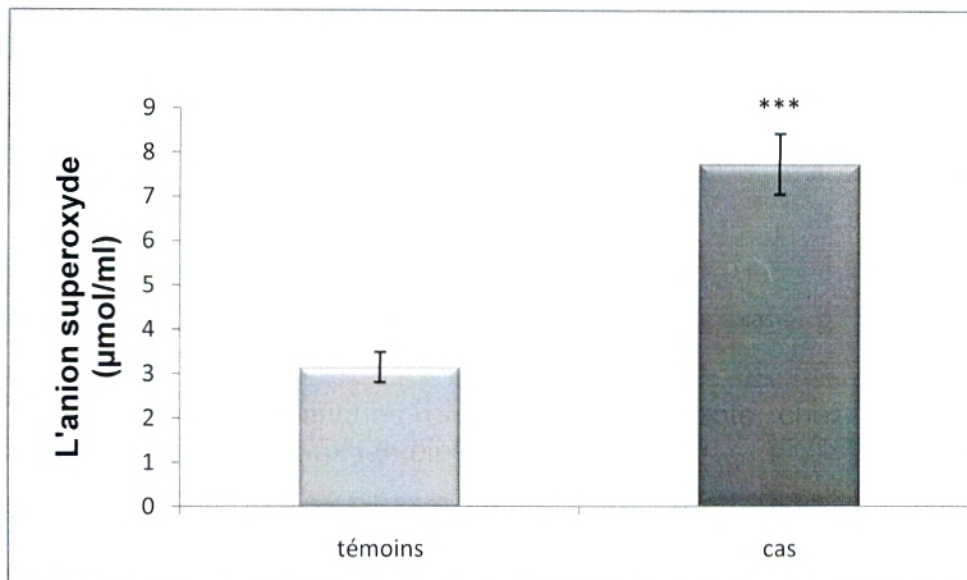


Figure 15. Teneurs plasmatiques en anion superoxyde chez les coronariens comparées aux témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

* P < 0,1 différence significative

** P < 0,01 différence très significative

*** P < 0,001 différence hautement significative

Discussion



Le stress oxydant représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des EOR, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (Koechlin -Ramonatxo, 2006).

Les cellules de la paroi vasculaire présentent un état redox physiologique qui peut être rompu dans de nombreuses circonstances physiopathologiques, à l'origine d'un stress oxydant délétère pour les cellules concernées et leurs fonctions vasculaires. Les causes de ce déséquilibre sont multiples, et recourent au moins partiellement les facteurs de risque cardiovasculaire classiques : hypertension artérielle, hypercholestérolémie, diabète... Ces facteurs de risque sont à l'origine de stimuli responsables d'une production anormale d'EOR. Le déséquilibre pro-oxydant entraîne la formation de LDL oxydées et de multiples dysfonctionnements cellulaires : libération de facteurs pro-inflammatoires et de facteurs favorisant la prolifération cellulaire, processus d'apoptose et/ou de nécrose. L'ensemble des dysfonctionnements finalement concourt à la progression des lésions athéroscléreuses et à leur évolution ultime qu'est la rupture de plaque (Beaudeau *et al.*, 2006).

L'acide ascorbique ou vitamine C, est l'antioxydant plasmatique hydrosoluble c'est un excellent piègeur des EOR, Il peut facilement céder un électron à quasiment tous les radicaux libres (anion superoxyde, hydroxyle, tocophéroxyle, peroxyde). De plus, l'ascorbate participe à la régénération de la vitamine E afin de prévenir l'oxydation des lipides présents dans les membranes biologiques (Defraigne et Pincemail, 2008).

Dans notre étude on enregistre une baisse très significative de la vitamine C chez les coronariens par rapport aux témoins. Ces résultats sont conformes avec ceux trouvés par Kumar *et al.*, (2012) qui montrent une diminution de la vitamine C chez une population indienne présentant des maladies cardiovasculaires ischémiques. Ceci est en faveur d'une réduction des défenses antioxydantes chez les malades, et peut être le résultat d'un apport faible en cette vitamine due à une consommation très faible en fruits et légumes.

La catalase est une enzyme hémunique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes et les érythrocytes. Cette enzyme a une vitesse de turnover élevée par rapport à toutes les autres enzymes, une molécule de catalase peut convertir chaque minute environ 6 millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Valko *et al.*, 2006)

Le glutathion (γ glutamyl-cysteinyl-glycine ou GSH) est un tri peptide qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant. Le glutathion peut intervenir directement avec les espèces oxygénées activées mais il est principalement utilisé comme substrat de la glutathion peroxydase qui assure l'élimination des lipides peroxydés (Defraigne et Pincemail,

2008).

Dans notre étude on note également une augmentation des teneurs en catalase et en glutathion réduit chez les malades comparées aux témoins, cette augmentation de l'activité de la catalase et du GSH peut s'expliquer par une stimulation et une activation de la défense antioxydante face à la formation excessive de radicaux libres.

Il est bien connu que face au stress oxydant, la défense antioxydante se comportera de deux façons différentes. Dans un premier temps, l'organisme réagira lors d'un stress oxydant modéré en surexprimant les enzymes antioxydantes. Si le stress perdure et produit de façon massive des radicaux libres et espèces oxygénées toxiques, les enzymes antioxydantes seront détruites et leurs concentrations chuteront (Delattre et al., 2005)

le MDA est l'aldehyde le mieux étudié pour évaluer le statut oxydatif, il est formé lors de la coupure des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons (Medart, 2005). Son augmentation au niveau du plasma témoigne d'une élévation de l'oxydation des lipides. Nos résultats montrent une augmentation des teneurs en MDA plasmatique et érythrocytaire chez les patients indiquant un stress intra et extracellulaire ; ces résultat concorde avec les études de Nakbi *et al.*, (2011), qui on démontré une augmentation significative des LDL oxydé et du MDA dans une population tunisienne présentant un syndrome coronarien aigu.

L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ est l'EOR qui possède la plus faible réactivité vis-à-vis des substrats bio-organiques en raison notamment, d'une constante de vitesse faible.

On lui connaît quelques cibles privilégiées comme le cytochrome c (Fe^{3+}), la vitamine C, et bien entendu la SOD. Cependant, l' $O_2^{\bullet-}$ est capable de produire d'autres radicaux beaucoup plus réactifs. Il s'agit de toxicité indirecte, *via* la réaction d'Haber-Weiss, catalysée par le Fe^{3+} , qui traduit la formation de radicaux hydroxyles $\bullet OH$ lors de la réduction de H_2O_2 ; et *via* l'intervention de la forme protonée de l' $O_2^{\bullet-}$, le radical perhydroxyle ($HO_2\bullet$), qui semblerait être la forme dite active. En effet, $HO_2\bullet$ possède des constantes de vitesse plus importantes, vis-à-vis notamment des acides gras polyinsaturés avec lesquels $O_2^{\bullet-}$ ne réagit pas. $HO_2\bullet$ participe notamment à la dismutation non catalysée de $O_2^{\bullet-}$, c'est-à-dire en l'absence de SOD (Migdal et Serres, 2011).

Au delà de ses propriétés vasodilatatrices, le NO peut avoir, selon l'environnement redox, une activité antioxydante ou à l'inverse, prooxydante. En effet, un stress oxydant lié à l'activation chronique de la NADPH oxydase membranaire endothéliale, est à l'origine d'un dysfonctionnement endothélial vasculaire. L'anion superoxyde, formé par l'activation de la NADPH oxydase, peut se condenser avec le NO pour former du peroxyde nitrite (Cottart *et al.*,

2009) Qui possède de nombreux effets pro-athérogènes comme l'oxydation des LDL-C qui est l'un des événements initiateur majeur de l'athérosclérose (Braam et Verhaar, 2007).

Les résultats de notre étude montrent une augmentation hautement significative des concentrations en anion superoxyde pour les coronariens qui concorde avec l'étude de Chandra *et al.*, en (1994) qui ont montré une augmentation de l'anion superoxyde chez une population présentant l'angor instable et l'infarctus du myocarde ; et une augmentation hautement significative du monoxyde d'azote chez les malades comparées à celles des témoins, indiquant l'existence d'un stress élevé chez les patients présentant un syndrome coronarien.

Conclusion



Le syndrome coronarien apparait comme une pathologie grave posant un vrai problème de santé publique, en raison des complications cardiovasculaires qu'il génère.

L'athérosclérose constitue un véritable fléau en Algérie, engendrant une morbidité couteuse pour la société.

Le stress oxydant est un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies cardiovasculaires. Dans la genèse de la plaque d'athérome, l'oxydation des LDL est un des phénomènes clefs transformant les monocytes en cellules spumeuses. Le stress oxydant joue également un rôle dans l'apparition des autres facteurs athérogènes comme l'activation des cellules endothéliales libérant des médiateurs prooxydants (prostacycline, cytokine, facteur de fibrinolyse, l'anion superoxyde, monoxyde d'azote).

Ce travail dont l'objectif était de déterminer le statut oxydatif dans chez des patients atteints d'un syndrome coronarien dans la wilaya de Tlemcen, placent le stress oxydant comme un acteur majeur des complications métaboliques associées à l'athérosclérose. Ainsi, les résultats obtenus ont clairement souligné que le stress oxydatif, largement accepté comme étant un composant critique de la plupart des voies pathologiques, est augmenté chez les coronariens avec une augmentation du MDA, NO et l'anion superoxyde et une diminution des défenses antioxydantes (vitamine C). , par contre une teneur importante de l'activité de la catalase et de la glutathion est constatée qui peut s'expliquer par la présence d'un grand nombre de substrats à neutraliser.

Les causes essentielles de ce stress oxydant sont soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques prooxydants), soit d'origine génétique. Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène. L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydants visera donc essentiellement à prévenir ces maladies.

Références bibliographiques



1. ALBERT M, JORE D. **Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène.** Paris : Lavoisier. 2005; 1-23.
2. ALLEVA R, TOMASTTI M, BOMPADRE S, ITTARU P. **Oxidation of LDL and their subfractions. Kinetic aspects and CO.Q10 content.** *Mol aspects Med.* 1997; 18: s 105-112.
3. ASSMANN G., CARMENA R., VALENCIA P. C., MÜNSTER J.-C. FRUCHART, LEWIS B., MANCINI M., OLSSON A., LINKÖPING R. PAOLETTI, MILAN M. T., HELSINKI. **Maladie coronarienne : réduire le risque.** *Nouvelle Société Française d'Athérosclérose* (1998).
4. AUDIGLE CL, ZOUSZAIN F. **Biochimie métabolique.** Ed doin. 2003; 85.
5. BADIMON L., CHESEBRO L.H. **Statistiques et documentation - Le taux des maladies cardiovasculaire.** *Fondation des maladies du coeur* (2002).
6. BELKHEIRI NADJI. **Derives phenoliques a activites antiatherogenes.** *l'Université Toulouse III - Paul Sabatier* (2010).
7. BEAUDEUX JL, DELATTRE J & PEYNET J. **Lipoprotéines et athérosclérose : mécanismes moléculaires et cellulaires.** *Flammarion Médecine-Sciences*, Paris, 2003; 91-107.
8. BEAUDEUX J-L, DELATTRE J, THEROND P, BONNEFONT-ROUSSELOT D, LEGRAND A, PEYNET J, **Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose oxidative stress in the atherosclerotic process.** *Immuno-analyse et Biologie Spécialisée.* 2003; 21 (3): 144-150.
9. BERGER MM. **Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances.** *Nutrition Clinique et Métabolisme.* 2006; 20 (1): 48-53.
10. BERTRAND ME, SIMOONS ML, FOX KA, WALLENTIN LC, HAMM CW, MCFADDEN E, DE FEYTER PJ, SPECCHIA G, RUZYLO W. EUR HEART J. **Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation.** 2002;23:1809-1840.
11. BONNEFONT-ROUSSELOT D , PEYNET J, BEAUDEUX J L, THEROND P, LEGRAND A, DELATTRE J. **Nutrition clinique et métabolisme.** 2002 ; (4) 16 p 260-267.
12. BONNEFONT-ROUSSELOT D, THEROND P & DELATTRE J. **Radicaux libres et anti-oxydants. Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires.** *Médecine-sciences Flammarion Paris.* 2003; 59-81.
13. BONNET J., ELIAS A. **Athérosclérose et plaque d'athérome.** *Encycl Méd Chir.* (Elsevier, Paris), *Cardiologie- Angéiologie* , , 1997 ; 11-605-A-10, 19 p.

14. BORDENAVE S, METZ L & FLAVIER S. **Training-induced improvement in lipid oxidation in type 2 diabetes mellitus is related to alterations in muscle mitochondrial activity. Effect of endurance training in type 2 diabetes.** *Diabetes Metab*, 2008, 34, 162-168.
15. BRAAM B ET VERHAAR MC,. **Understanding eNOS for pharmacological of endothelial function. a translational view.** 2007; (13); 1727-1740.
16. BRANCHEREAU A, AMBROSI P. **Epidémiologie et Physiopathologie. Le Malade Poly-Athéromateux.** *Doin éditeur.* 2009 ; (128).
17. BRUNEVAL P. **Anatomopathologie de l'athérosclérose humaine. L'Athérosclérose.** *Masson* 2003; (19): 333-344
18. BRUNEVAL, P., TOUSSAINT J.F, JACOB M.P, LAGROST L, CHAPMAN J , **Structure de la paroi artérielle normale : notions pratiques. L'athérosclérose : Physiopathologie Diagnostics, Thérapeutiques.** *Eds. Masson ; 2003 ; (1), 5-11..*
19. CESARINI JP. *Ed. John Libbey Eurotext, 2004, actualités, p5 à 15.*
20. CHANDRA M, CHANDRA N, AGRAWAL R, KUMAR A, GHATAK A, PANDEY VC. **The free radical system in ischemic heart disease.** *Int J Cardiol.* 1994; 43(2):121-5.
21. CHAPMAN J, LESNIK P. **Impact des lipoprotéines athérogènes sur les composants cellulaires de la paroi artérielle** *Unité de Recherches sur les Dyslipoprotéïnémies et l'Athérosclérose, INSERM U. 2006 (214).*
22. CLARK LC. *Br J Urol* 1998; 81: 730-4.
23. COLLET JP, CHOUSSAT R ET MONTALESCOT G. **Syndromes coronaires aigus.** *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier) Cardiologie,* 2003, (11)030-D-10, 7 p.
24. CHARLES-HENRY COTTART A,B, CHRISTELLE LAGUILLIER A, VALERIE NIVET-ANTOINE A,B, CHRISTOPHE KLIMCZAK C, CLAUDE SEBBAN C, JEAN-LOUIS BEAUDEUX A,B. **Biologie du vieillissement artériel et artériosclérose.** *C. R. Biologies.* 2009; 433–447
25. CURTAIN JF, DONOVAN M, COTTER TG. **Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis.** *J.Immunol methods.*2002; 256:49-72.
26. DAGHER. **L'angor et l'infarctus du myocarde. Soins Infirmiers aux personnes atteintes d'affections**
27. **cardio-vasculaires . 2005.**
28. DAVIES MJ, FU S, WANG H, DEAN RT. **Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease.** *Free Radic Biol Med.* 1999; 27 (11-12): 1151-1163.

29. DAVIS WJR, RONAI Z & TEW KD. **Cellular thiols and reactive oxygen species in drug-induced apoptosis.** *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 2001; 296, 1-6.
30. DEFRAIGNE JO & PINCEMAIL J . **Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités.** *Rev Med Liège* 2008; 63: 10-19.
31. DEL-CORSO L, PASTINE F, PROTT M.A, ROMAIVELLI A.M, MORRUZO D, RUOCCO L, OENTIMONE F. **Blood zinc, cooper and magnesium in aging. A study in healthy home living elerly.** *Panminrva Med.*2000; 42:273-277.
32. DEL RIO D. **Selected methodologies to assess oxidative/antioxidant status in vivo: a critical review.** *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2002; 12: 343-51.
33. DELATTRE J, DURAND G, JARDILLIER JC. **Biochimie Pathologie, aspect moléculaire et cellulaire.** *Médecine Science. Ed FLAMMARION.*2003; P: 318.
34. DELLATTRE J, THEROND P, BONNEFONT-ROUSSELOT D. **Especes reactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. Radicaux libres et stress oxydant.** *Aspects biologiques et pathologiques.* 2005; 281-309.
35. DEMPLE B. **Regulation of bacterial oxidative stress genes.** *Annu Rev Genet.* 1991; 25: 315-337.
36. DE MOFFARTS B, KIRSCHVINK N, PINCEMAIL J & LEKEUX P. **Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval formation continue-article de synthese** *Ann. Méd. Vét.* 2005; 149, 1-9.
37. DEVULDER B, ALARCON B. **Histoire naturelle de la plaque d'athérosclérose, localisations préférentielles.** *Médecine vasculaire. Elsevier Masson,* 2004; 11-19.
38. DURANTEAU J, HUET O (2008). **Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres.** *Réanimation.*2008 ; (17)4 : 387-392.
39. DURIEZ P. **Aspects physiopathologiques du mien entre antioxydant et athérosclérose.** *Courieur de l'Arc.* 2000; 24 :160-5.
40. ELLIS A & TRIGGLE CR. **Endothelium-derived reactive oxygen species: their relationship to endothelium-dependent hyperpolarization and vascular tone.** *Can J Physiol Pharmacol.* 2003; 81, 1013-1028.
41. ESREFOGLU M. **Oxidative Stress and Benefits of Antioxidant Agents in Acute and Chronic Hepatitis.** *pubmed.* 2012; 12(3):160-167.
42. EVANS P & HALLIWELL B. **Micronutrients: oxidant/antioxidant status.** *Br. J. Nutr.,* 2001, 85, Suppl2: S67-74.

43. FARMER J.A., GOTTO A.M. **Dyslipidemia and other risk factors for coronary artery disease in Braunwald E. Heart Disease. Philadelphia. WB Sanders Company. 1997; 14: 112-60**
44. FAVIER A. **Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique. 2003; 108-115.**
45. FAVIER A. **Le stress oxydant. L'Actualité chimique. 2003; 108-115.**
46. FLORIAN H, LINDERMETER G, GRILLHOSL C, ISABELL M, SILK B. **Biochimie humaine. Ed Flammarion. 2005; 454-483.**
47. FORSTERMANN,U. **Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies. Nat.Clin Pract.Cardiovasc Med. 2005; 5, 338-349.**
48. FRIDOVITCH D & FRELUTM. **Activité physique et obésité. Méd et nutr. 1996; 32 : 249-252.**
49. GIACHELLI CM, LOMBARDI D, JOHNSON RJ, MURRY CE, ALMEIDA M. **Evidence for a role of osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo. Am J. Pathol, 1998; 152(2): 353-358**
50. GIRAL P. **Athérome : anatomie pathologique, physiopathologie, épidémiologie et facteurs de risque, prévention. Rev Prat 1998 ; 48 : 99-106.**
51. GIUSEPPINA CALIGIURI. **Rôle de l'immunité dans l'athérosclérose et dans les syndromes coronariens aigus. Medecine/sciences. 2004; 20 (2): 175-81.**
52. GRUNE T, BLASIG IE, SITTE N, ROLOFF E, HASELOFF R & DAVIES KJA. **Peroxynitrite increases the degradation of aconitase and other cellular proteins by proteasome. J Biol Chem. 1998; 273: 10857–10862.**
53. HALLIWELL B., GUTTERIDGE JMC. **Free radicals in biology and medicine.3rd. Oxford: Oxford University Press.1999.**
54. HALLIWELL B & GUTTERIDGE J. **Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition, Oxford press. 2007.**
55. HATTORI I, NAKAMURA H, MASUTAI. **Tioredoxine-dependent redox regulation in aging and neurological diseases. Critical review of oxidative stress and aging. VOL II RG culter H Rodriguez. Eds. Word Scientific. 2003; 87-101.**
56. HERPIN D., PAILLARD F. **facteurs de risque cardio-vasculaire et prévention. 2003; 129.**
57. HOLGREM A (2003). **Redox regulation of genes and cell function. In Critical review**

- of oxidative stress and aging. RG culte rand H Rodriguez Eds. *World Scientific*. 2003; 2: 102-111.
58. IASSANT. **Les principales pathologies : l'athérosclérose.** *Newsletter*. 2005.
59. JACOTA SK & DANI HM. **A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using folin phenol reagent.** *Analytical Biochemistry*. 1982; 127: 178-182.
60. KOBAYASHI T, TSUNAWAKI S & SEGUCHI H. **Evaluation of the process for superoxide production by NADPH oxidase in human neutrophils: evidence for cytoplasmic origin of superoxide.** *Redox Rep.*, 2001, 6, 27-36.
61. KOECHLIN-RAMONATXO C. **Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases.** *Nutrition Clinique et métabolisme*. 2006; P 165 - 177.
62. KRAUSHAAR LE, KRAMER A. **Are we losing the battle against cardiometabolic disease? The case for a paradigm shift in primary prevention.** *BMC Public Health* 2009; 9:64.2.
63. KREGEL KC. **Heat shock proteins modifying factors in physiological stress reponses and acquired thermotolerance.** *J Appl physiol*. 2002; 92: 2177-2186.
64. KUMAR E.P, MUKHERJEE R, SENTHIL R, PARASURAMAN S, SURESH B. **Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidant Status in Patients with Cardiovascular Disease in Rural Populations of the Nilgiris, South India.** *ISRN Pharmacol*. 2012: 941068.
65. LEE JE. **Prospective study of plasma vitamin B6 and risk of colorectal cancer in men.** *Cancer Epidemiology biomarkers & prevention*. 2009; 18(4):1197-202.
66. LEONI, J., **Physiopathologie de l'athérosclérose. Mécanisme et prévention de l'athérombose.** *Université de Franche-Comté. Besançon.*, 2001.
67. LEVINE RL, WILLIAM JA, STADTMAN ER & SHACTER E. **Carbonyls assays for determination of oxidatively modified proteins.** *Methods Enzymol*. 1994; 233: 346-347.
68. MAGDER S. **Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life?** *Crit Care*. 2006, 10, 208-216.
69. MALLAT Z, TEDGUI A. **Athérosclérose et inflammation.** *L'Athérosclérose*. *Masson*, 2003; 15: 291-298.
70. MEDART J. **Manuel pratique de nutrition. L'alimentation préventive et curative.** *Ed DEe Boeck & Larcier s.a*. 2005; 278 p.

71. MEENSA,B, ANNA PFENNIGERA,B, BRENDA R KWAKA,B. **Risky communication in atherosclerosis and thrombus formation.** *Swiss Med Wkly.* 2012;142:w13553.
72. MEGNIEN JL, TOUBOUL PJ. **Incidence pronostique.** *L'Athérosclérose.* Masson, 2003; 26: 485-496
73. MENU P. **physiopathologie cardiaque.** *Faculté de pharmacie.* Université paris sud XI (2002).
74. MIGDAL CAMILLE, SERRES MIREILLE **Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant.** *médecine/sciences.* 2011; 27 : 405-12
75. MOROZOVA SVETLANA, SUC-ROYER ISABELLE, AUWERX JOHAN. **Modulateurs du métabolisme du cholestérol et avenir du traitement de l'athérosclérose.** *MEDECINE/SCIENCES.* 2004 ; 20 : 685-90
76. MOUSSARD C. **Biochimie structurale et métabolique.** *Ed Masson.* 2002; P: 85.
77. MURREY, GRANNE, MAYES, RODWELL. *Biochimie de HAPPER.* Ed de beock. 2003; P: 462.
78. NAKBI AMEL, KOUBAA NADIA, BEN HAMDA KHALDOUN, HAMMAMI SONIA, ATTIA NABIL, BOUMIZA RADHIA, MILED ABDELHEDI, BEN FARHAT MOHAMED, HAMMAMI MOHAMED **Association entre les paramètres du stress oxydatif et les marqueurs de l'inflammation selon la gravité du syndrome coronaire aigu.** *La tunisie Medicale.* 2011 ; Vol 89 (7) : 621 – 626.
79. NALBONE GILLES, FRANCK PEIRETTI, MATTHIAS CANAULT, MARIE-CHRISTINE ALESSI. **Lipides peroxydés et réaction immuno-inflammatoire dans l'athérosclérose.** *OCL.* 2006 ;13 (5) 337-338
80. NOUROOZ-ZEDEH J, LING KLE & WOLFF SP. **Low-density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in plasma.** *Biochem J.* 1996; 313: 781-786.
81. OHARE CA. **La famille des radicaux libres.** *Journal de la nutrition.* 2007; PP: 1-2.
82. PANTKE U, VOLK T & SCHMUTZLER M. **Oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery.** *Free Radic Biol Med* 27. 1999; (9-10): 1080-1086.
83. PARADIS G., THIVIERGE C. **Les maladies cardiovasculaires et les facteurs de risque.** *Institut de Cardiologie de Montréal* (2005).
84. PETERSAN S, LEAL J, LUENGO-FERNANDEZ R, GRAY A, RAYNER M. **Economic burden of cardiovascular diseases in the enlarged European Union.** *Eur Heart J.* 2006; 27, 1610-1619.
85. PEYNET J, BEAUDEUX JL & LEGRAND A (2005). **Stress oxydant et athérosclérose : aspects biologiques et pathologiques.** *Lavoisier édition.* 2005; 312-351.

86. PAUL POIRIER, JEAN-PIERRE DESPRES. **Obésité et maladies cardiovasculaires.** *Medecine/sciences.* 2003 ; 19 (10) : 943-9.
87. PFIZER I. **facteurs de risque majeurs et facteurs predisposants.** *NSFA* (2006).
88. PFIZER U.E. **Santé cardiovasculaire : L'athérosclérose.** *Fondation des maladies du cœur* (2004).
89. PINCEMAIL J. **Comment évaluer votre état de stress oxydant.** *J santé.* 2004; P: 2.
90. PIPE, ANDREW L., SOPHIA PAPADAKIS ET ROBERT D.REID. **The Role of Smoking Cessation in the Prevention of Coronary Artery Disease.** *Current Atherosclerosis Reports*, 2010 ; vol.12, n°2, p.145-150.
91. RHARASS T, VIGO J, SALMON JM & RIBOU AC. **New method for the detection of reactive oxygen species in anti-tumoral activity of adriamycin: a comparison between hypoxic and normoxic cells.** *Free Radical Research.* 2008, 42(2) 124-134.
92. RICHARD MJ, BELLEVILLE FJ, CHALAS I, CEBALLOS-PICOT D & VITOUX MJ. **Glutathion peroxydase : son intérêt en biologie clinique.** *Ann Biol Clin.* 1997; **55** (3) : 195-208.
93. SEN CK (). **Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: Introduction.** *Med Sci Sports Exer.* 2001; 33 (3): 368-370.
94. ROSS R. **Atherosclerosis - an inflammatory disease.** *N. Engl J. Med* 1999; 340(2): 115-126.
95. ROUSSI S. **Etude de la signalisation cellulaire de l'apoptose induite par le 7B hydroxystéroïde et le 7B hydroxycholestérol dans les cellules cancéreuses coliques humaines.** 2006; 152 p.
96. RUIZ J., KELLER U., BULLIARD C. **Les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires.** *Agence de santé publique du Canada.* (ASPC) (2002).
97. SANZ J, MORENO PR, FUSTER V. **The year in atherothrombosis.** *J Am Coll Cardiol.* 2007 ; 49: 1740-1749.
98. SCHWEIZ B. **Infarctus du myocarde Brochure d'information à l'intention du patient.** *Fondation Suisse de Cardiologie* (2000).
99. Sesti F, Tsitsilonis OE, Kotsinas A, Trougakos IP. **Oxidative Stress-mediated Biomolecular Damage and Inflammation in Tumorigenesis.** *Pubmed.* 2012; 26(3):395-402.
100. SHKLAR G. *Oral Oncol* 1998; 34:24-9.

101. STEINBERG D., LEWIS A. **Conner memorial lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis.** *Circulation* 1997 ; **95** (4): 1062-71.
102. STICCHI, ELENA, *et al.* **eNOS and ACE genes influence peripheral arterial disease predisposition in smokers.** *Journal of Vascular Surgery*, 2010; vol.52 (1), p.97-102
103. TAILOR N, SHARMA M. **Antioxidant Hybrid Compounds: A Promising Therapeutic Intervention in Oxidative Stress Induced Diseases.** *Pubmed*. 2012; 22: 512-588.
104. TEDGUI A, CHAPMAN J. **Pathogenèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes.** *L'Athérosclérose. Masson*, 2003; 12: 245-253
105. TEDGUI A. **Pathogenèse de l'athérosclérose., Neurologie endocrinologie-Nutrition.** *Encycl Méd Chir.* (Elsevier, Paris). 2001; 10-368-I-10, 7p.
106. TEMPLE NJ. **Antioxidants and disease: more questions than answers,** *Nut Res.* 2000. Vol 20, 3, 449-459.
107. VALKO M, RHODES C.J, MONCOL J, IZAKOVIC M, MAZUR M. **Free radicals, metals and antioxidant in oxidative stress-induced cancer.** *Chemico-Biological Interactions.* 2006; 160(1): 1-4.
108. WHEATER PR, YOUNG B, WHEATER J . **Histologie fonctionnelles.** *De Boeck and Lancer.* 2001.
109. YANG, ZHEN, *et al.* **The role of tobacco smoke induced mitochondrial damage in vascular dysfunction and atherosclerosis.** *Mutation Research*, 2007; vol.621, (1-2), p.61-74.
110. ZAZA S., RAPP F., ULRICH S. **Maladie coronarienne : avantage et désavantage des différents tests fonctionnels.** *Schweiz Med Forum* . 2004 ; 4 :1237 -1243
111. ZELKO IN, MARIAN TJ, FOLZ RJ). **Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression.** *Free Rad Biol Med.* 2002; 33 (3): 337-349.

Annexes



Tableau A1: valeurs moyennes des teneurs plasmatiques en vitamine C chez les patients et chez les témoins.

| | Témoins | cas |
|--------------------|----------------|------------|
| Vitamine C (mg/ml) | 37,45 | 27,409** |

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

*p < 0,1 différence significative

**p < 0,01 différence très significative

*** P < 0,001 différence hautement significative

Tableau A2: valeurs moyennes de l'activité plasmatiques de la catalase chez les patients et chez les témoins.

| | Témoins | cas |
|------------------------------------------|----------------|------------|
| Activité de la catalase (μ /ml/min) | 85,360 | 102,846** |

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

*p < 0,1 différence significative

**p < 0,01 différence très significative

*** P < 0,001 différence hautement significative

Tableau A3: valeurs moyennes de la GSH plasmatiques et érythrocytaire chez les patients et chez les témoins.

| | Témoins | cas |
|-------------------------|----------------|------------|
| GSH plasmatique (mM) | 0,020 | 0,026* |
| GSH érythrocytaire (mM) | 0,547 | 0,826** |

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

*p < 0.1 différence significative

**p < 0,01 différence très significative

*** P < 0,001 différence hautement significative

Tableau A4: valeurs moyennes du MDA plasmatiques et érythrocytaire chez les patients et chez les témoins.

| | Témoins | cas |
|----------------------------------|----------------|------------|
| MDA plasmatique (μ mol/l) | 2,080 | 8,540** |
| MDA érythrocytaire(μ mol/l) | 9,800 | 11,893* |

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

*p < 0.1 différence significative

**p < 0,01 différence très significative

*** P < 0,001 différence hautement significative

Tableau A5: valeurs moyennes des teneurs plasmatiques du monoxyde d'azote chez les patients et chez les témoins.

| | Témoins | cas |
|---------------------------|----------------|----------------------|
| NO ($\mu\text{mol/ml}$) | 1,33 | 7,654 ^{***} |

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

*p < 0.1 différence significative

**p < 0,01 différence très significative

*** P < 0,001 différence hautement significative

Tableau A6: valeurs moyennes des teneurs plasmatiques de l'anion superoxyde chez les patients et chez les témoins.

| | Témoins | cas |
|-----------------------------------------------------|----------------|----------------------|
| O ₂ ^{°-} ($\mu\text{mol/ml}$) | 3,15 | 7,755 ^{***} |

Chaque valeur représente la moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de Student.

*p < 0.1 différence significative

**p < 0,01 différence très significative

*** P < 0,001 différence hautement significative

Résumé

L'altération des fonctions cellulaires dues à une insuffisance des mécanismes antioxydants, est responsable de pathologies multiples dont l'athérosclérose.

Notre travail vise à mettre en évidence l'impact du déséquilibre de la balance oxydante / antioxydante sur l'installation et l'évolution de l'athérosclérose et par conséquent sur le développement des maladies cardiovasculaires au niveau de la wilaya de Tlemcen.

Notre Objectif est de doser quelques marqueurs du stress oxydatif (vitamine c, l'activité de la catalase, GSH, MDA, l'anion superoxyde et le monoxyde d'azote) afin de déterminer les perturbations métaboliques liées à l'évolution de cette pathologie.

Pour cela nous avons étudié deux populations, une population témoin en bonne santé, ne présentant aucune pathologie et une population atteinte d'un syndrome coronarien aux services de cardiologie.

Nos résultats montrent une augmentation de la peroxydation lipidique marquée par des taux élevés en MDA plasmatique et érythrocytaire et une augmentation de la teneur en monoxyde d'azote et de l'anion superoxyde pour les coronariens accompagnée d'une augmentation du GSH et de la catalase, en revanche une diminution du statut antioxydant (vitamine c).

En conclusion, le stress oxydatif est l'un des facteurs très importants dans le développement du syndrome coronaire conséquence de l'athérosclérose.

Mots clés : athérosclérose, syndrome coronarien, stress oxydatif, antioxydants.

Abstract

The alteration of cellular functions be to a lack of antioxidant mechanisms is responsible for many diseases including atherosclerosis.

Our work aims to highlight the rupture of the oxidant / antioxidant balance on the installation and progression of atherosclerosis and therefore the development of cardiovascular disease in the wilaya of Tlemcen.

Our objective is to dose some markers of oxidative stress (vitamin c, the activity of catalase, GSH, MDA, superoxide anion and nitric oxide) to determine the metabolic disturbances linked to the evolution of this disease.

For this, we studied two populations, a healthy control population, presenting no pathology and population with coronary syndrome of cardiology services.

Our results show an increase in lipid peroxidation marked by high levels of plasma and erythrocyte MDA and increased the content of nitric oxide and superoxide anion for coronary accompanied by an increase in GSH and catalase In contrast a decrease in antioxidant status (vitamin c).

In conclusion, oxidative stress is one of the very important factors in the development of coronary syndromes result of atherosclerosis.

Keywords: atherosclerosis, coronary syndrome, oxidative stress, antioxidants.

ملخص

تغيرات الوظائف الخلوية بسبب عدم وجود آليات مضادة للأكسدة هي المسؤولة عن العديد من الأمراض بما في ذلك تصلب الشرايين. عملنا يهدف إلى تسليط الضوء على الآثار المترتبة على تمزق التوازن الأكسدة / المضادة للأكسدة على تركيب وتطور تصلب الشرايين، وبالتالي تطوير أمراض القلب والشرايين في ولاية تلمسان.

هدفنا هو فحص بعض علامات الأكسدة (فيتامين ج، ونشاط الكاتالاز، GSH، MDA، أنيون الفائق وأكسيد النيتريك) لتحديد الاضطرابات الأيضية المرتبطة بتطور هذا المرض.

لهذا، قمنا بدراسة مجموعتين من السكان المجموعة الأولى أشخاص سليمة لا تظهر أي مرض و المجموعة الثانية أشخاص يعانون من متلازمة الشريان التاجي من مصلحة طب القلب والأوعية الدموية.

نتائجنا تظهر زيادة في بيروكسيد الدهون التي تميزت بمستويات عالية من MDA لكرات الدم الحمراء والبلازما وزيادة محتوى أكسيد النيتريك وأنيون الفائق للمصابين يرافقه زيادة في GSH والكاتالاز وعلى النقيض من انخفاض في حالة المضادة للأكسدة (فيتامين ج).

في الختام، الأكسدة هي واحدة من العوامل الهامة جدا في تطوير المتلازمات التاجية نتيجة لتصلب الشرايين. كلمات البحث: تصلب الشرايين، ومتلازمة الشريان التاجي، والإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة.