

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science 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

SPECIALITE : BIOLOGIE

OPTION : Physiologie cellulaire et physiopathologie

PRESENTE PAR

Mme ABOURA Née BENMANSOUR Wafaa

[ETUDE DE QUELQUES PARAMETRES DU STRESS OXYDATIF CHEZ UNE POPULATION ATTEINTE DE SYNDROME CORONARIEN DU C.H.U DE TLEMCEEN]

SOUTENU LE DEVANT LE JURY COMPOSE DE :

Mme LOUKIDI.B	Maitre de conférences B, université de Tlemcen	Président
Mme MOKHETARI.N	Professeur, université de Tlemcen	Promotrice
Mme GUERMOUCHE	Maitre de conférences B, université de Tlemcen	Examinatrice

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science 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

SPECIALITE : BIOLOGIE

OPTION : Physiologie cellulaire et physiopathologie

PRESENTE PAR

Mme ABOURA Née BENMANSOUR Wafaa

[ETUDE DE QUELQUES PARAMETRES DU STRESS OXYDATIF CHEZ UNE POPULATION ATTEINTE DE SYNDROME CORONARIEN DU C.H.U DE TLEMCCEN]

SOUTENU LE DEVANT LE JURY COMPOSE DE :

Mme LOUKIDI.B	Maitre de conférences B, université de Tlemcen	Président
Mme MOKHETARI.N	Professeur, université de Tlemcen	Promotrice
Mme GUERMOUCHE	Maitre de conférences B, université de Tlemcen	Examinatrice

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé sous la direction de Madame le Professeur MOKHTARI. N.

Que Madame MOKHTARI. N professeur à l'université de Tlemcen, veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde gratitude, pour m'avoir confié le sujet et en avoir dirigé la réalisation, tout en me faisant bénéficier de son expérience, de sa compétence et de sa rigueur scientifique.

A Madame LOUKIDI. B, maitre de conférences B à l'université de Tlemcen, qui a bien voulu me faire l'honneur de présider le jury de soutenance, j'exprime mes respectueux remerciements.

A Madame GUERMOUCHE, maitre de conférences B à l'université de Tlemcen, qui a bien voulu accepter de juger ce travail, j'exprime mes respectueux remerciements.

J'adresse mes vifs remerciements à la doctorante Melle GUEDDOUCHI Sabah, pour son aide qui m'a été bien bénéfique et son soutien dans la réalisation de ce travail.

Ce travail ne serait pas sans l'environnement dont j'ai bénéficié et j'associe à mes remerciements tous ceux qui m'ont aidé et soutenu de prêt ou de loin.

**JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL
A TOUTE MA FAMILLE
A TOUS MES AMIS
A TOI MA PETITE MERIEM**

SOMMAIRE

Introduction.....	01
-------------------	----

Chapitre 1 : Etat actuel du sujet

1-Maladies cardiovasculaires.....	05
1-1 définition SCA.....	05
2-L'athérosclérose.....	07
3- La paroi vasculaire.....	07
4- Physiopathologie de l'athérosclérose.....	10
4-1- La formation de la plaque d'athérome.....	10
4-2- L'infiltration des LDL dans l'intimat des artères.....	10
4-3- Oxydation des LDL.....	12
4-4- Le recrutement des monocytes.....	12
5- Facteurs de risque du syndrome coronarien.....	15
5-2- Facteurs non modifiables.....	15
5-3- Facteurs de risque modifiables.....	16
6- Autres facteurs.....	18
7- Le stress oxydatif ou oxydant.....	18
7-1- Les radicaux libres.....	19
7-2- Espèces réactives de l'oxygène.....	22
7-3- Les espèces réactives à l'azote.....	24
7-3-1- Peroxynitrite.....	24
7-3-2- Monoxyde d'azote et pathologies cardiovasculaires.....	24
7-4- Dommage de l'ADN induit par les radicaux libres.....	25

7-5- Dommage des lipides induit par les radicaux libres.....	25
7-6- Dommage des protéines induit par les radicaux libres.....	28
7-7- Antioxydants enzymatiques.....	28
7-7-1- Les superoxydes dismutases (SOD's).....	28
7-7-2- Les glutathion peroxydases (GPx).....	28
7-7-3- Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR)....	29
7-7-4- Enzyme catalase.....	29
7-8- Les antioxydants non-enzymatiques.....	29
7-8-1- Les caroténoïdes.....	29
7-8-2- La vitamine C.....	30
7-8-3- La vitamine E.....	30
7-8-4- Le glutathion.....	30
7-8-5- L'acide urique.....	31
7-8-6- Le CoEnzyme Q10.....	31
7-8-7- Les oligo-éléments.....	31
7-9- Facteurs contribuant à augmenter le stress oxydant.....	33
8- Marqueurs du stress oxydant et pathologie cardiovasculaire.....	34

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

1-Population étudié.....	36
2- Les prélèvements sanguins.....	37
3- Détermination du statut oxydant / antioxydant.....	37
3-1- Dosage de la vitamine C.....	37
3-2- Détermination de l'activité de la catalase.....	38
3-3- Dosage du Malondialdéhyde.....	38.

3-4- Dosage du Peroxynitrite.....	39
4- ANALYSE STATISTIQUE.....	39

Chapitre 3 : résultats et interprétations

1-Les caractéristiques de la population.....	41
2- Statut oxydant/ antioxydant.....	41
2-1- Teneurs en vitamine C.....	41
2- L'activité enzymatique de la catalase.....	41
2-3- Teneur plasmatique et érythrocytaire en MDA.....	41
2-4-Teneur en péroxynitrite.....	41

Chapitre 4 : discussion

Discussion.....	49
Conclusion.....	51
Références bibliographiques	

Introduction

D'ici 2030, près de 23,3 millions de personnes mourront d'une maladie cardio-vasculaire (cardiopathie ou AVC principalement). D'après les projections, ces maladies devraient rester les premières causes de décès **(OMS, 2006)**

Les Algériens comme près de 18 millions de personnes dans le monde souffrent principalement de maladies cardiovasculaires. Pire ces mêmes maladies sont souvent mortelles. La première cause de mortalité en Algérie est liée principalement aux maladies cardiovasculaires qui apparaissent à un âge de plus en plus avancé, en raison d'une mauvaise hygiène de vie ; 44,5 % des décès en Algérie sont dus aux maladies cardiaques et ils dépassent les décès causés par les accidents de la route **(OMS, 2007)**

Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité dans le monde: il meurt chaque année plus de personnes en raison de maladies cardio-vasculaires que de toute autre cause. On estime à 17,3 millions le nombre de décès imputables aux maladies cardio-vasculaires, soit 30% de la mortalité mondiale totale. Parmi ces décès, on estime que 7,3 millions sont dus à une cardiopathie. Plus de 80% des décès interviennent dans des pays à revenu moyen ou faible et touchent presque également hommes et femmes. **(OMS, 2007)**

Les principaux facteurs de risque cardio-vasculaire héréditaires sont l'hypercholestérolémie, l'hypertension, les diabètes, l'excès de poids et le tabagisme, qu'il soit actif ou passif. Les maladies cardio-vasculaires résultent d'une accumulation de ces facteurs de risque qui entraînent des altérations du code génétique et du métabolisme des graisses dans l'organisme, le stress oxydant intervient dans toutes les phases du développement de l'athérosclérose, il est une conséquence majeure de l'ischémie myocardique, en particulier par activation de la xanthine-oxydase endothéliale ; les ERO formés sont directement incriminés dans les arythmies post-infarctus et de l'apparition du syndrome coronarien. **(LIBBY., 2001).**

Depuis ces dix dernières années les scientifiques s'intéressent aux dosages de différents marqueurs du stress oxydant qu'il s'agisse des produits d'oxydation lipidique, protéiques et nucléotidique et des enzymes pro-oxydant et des vitamines ; des études ont montré l'intérêt de certains marqueurs dans le diagnostic et le pronostic des syndromes coronaires aigus, de façon dépendante des autres facteurs de risque cardiovasculaire **(BONNEFONT-ROUSSELOT et al., 2003)**.

Dans cette optique nous avons évalué quelques paramètres du stress oxydant au cours du syndrome coronarien aigu ; notre étude de type cas-témoin, porte sur des hommes atteints du syndrome coronarien aigu et des hommes sains. Les marqueurs du statut oxydant / antioxydant (malondialdéhyde, vitamine C, catalase , peroxy-nitrite) sont analysés chez les témoins et les cas. Notre but est donc de caractériser le déséquilibre de la balance oxydant / antioxydant associée au syndrome coronarien aigu chez des hommes atteints de maladie cardiovasculaire du C.H.U de Tlemcen.

Chapitre 1 : état actuel du sujet

1. Maladie coronarienne :

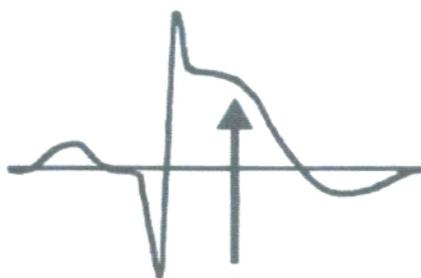
La maladie coronarienne est due à un manque d'approvisionnement du sang au muscle cardiaque causée par une athérosclérose des artères coronaires compliquée de thrombose. La formation des plaques d'athérosclérose est la cause la plus fréquente du rétrécissement des vaisseaux coronaires qui est à l'origine de 97 à 98% des cas de maladie coronarienne. (**BADIMON ET CHESEBRO., 2002**).

1.1.Définition du Syndrome Coronarien Aigue :

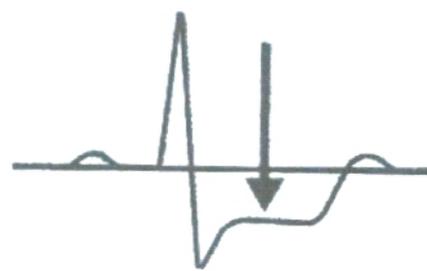
Le SCA est une atteinte du myocarde consécutive d'une ischémie cardiaque aigue associée à une plaque d'athérosclérose. Le SCA se manifeste par l'angor instable, douleurs angineuses ischémiques aigues sans infarctus, ou par l'IDM avec ou sans élévation du segment ST (respectivement SCA ST+ et SCA ST-); (**BENSOUDA ET AL., 2004**). La rupture ou l'érosion de la plaque athéromateuse située au niveau de l'artère coronaire, engendre la formation d'un thrombus à l'origine d'une ischémie. Le thrombus peut se fragmenter et provoquer une occlusion des artérioles et des capillaires situés en aval de la plaque. (**BOUNHOURE ET AL., 2007**).

En cas d'une occlusion coronaire totale, l'ischémie myocardique évolue vers un IDM (**EVERY ET AL., 1996**). Ce dernier est révélé par un sus-décalage du segment ST et par l'apparition de l'onde Q pathologique au niveau de l'ECG. Aussi, au niveau plasmatique, il s'accompagne d'une augmentation du taux des marqueurs de la nécrose (troponines cardiaques et CK-MB). L'ECG ne révèle pas des modifications du segment ST et de l'onde Q lors d'un (SC ST-). (**BENSOUDA ET AL., 2004**) Quand l'ECG ne montre que des anomalies de l'onde T parallèlement à l'absence de variation du profil des marqueurs de la nécrose, le diagnostic est orienté vers l'AI (**BRAUNWALD, 1989;WU ET AL., 1999; HAMM ET BRAUNWALD, 2000**). (**Figure1**)

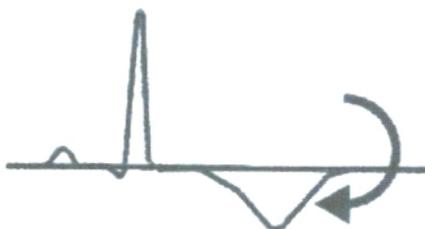
Aspects ECG des syndromes coronaires aigus



1. SCA avec sus-décalage de ST



2. SCA sans sus-décalage de ST (sous-décalage de ST)



3. SCA sans sus-décalage de ST (ST iso-électrique, mais onde T négative)



4. SCA sans sus-décalage de ST (aspect normal de l'ECG)

Figure 1 : Différents aspect du syndrome coronarien aigu. (BENSOUDA ET AL., 2004)

2.L'athérosclérose

L'athérosclérose se définit par un dépôt de lipides « les athéromes ». Les athéromes progressent vers les artères coronaires, c'est ce qu'on appelle l'athérosclérose coronaire ceci cause une dégénérescence fibreuse du tissu artériel. L'évolution de l'athérome peut entraîner également la formation d'un thrombus, obstruant progressivement la circulation du sang. En cas de rupture, il se produit un accident vasculaire cérébral (AVC), un infarctus du myocarde et beaucoup d'autres maladies cardiovasculaires. (JONASSON ET AL ., 1986) (Figure 2).

3. La paroi vasculaire

La paroi vasculaire est organisée en trois tuniques concentriques superposées dénommées de la lumière vers la périphérie de l'artère : l'intima, le média et l'adventice (DESIMONE, 2006). (Figure 3-1).

•L'intima :

C'est la couche la plus interne, elle est constituée d'un tissu très actif sur le plan métabolique qui favorise les interactions permanentes avec le sang (BRAMI, 2007).

•Le média :

C'est la couche centrale, la plus épaisse de la paroi artérielle, elle constitue une véritable charpente élastique du vaisseau, elle emmagasine de l'énergie pendant la systole qu'elle restitue en diastole. Son épaisseur décroît vers la distalité. (VEJUX, 2006).

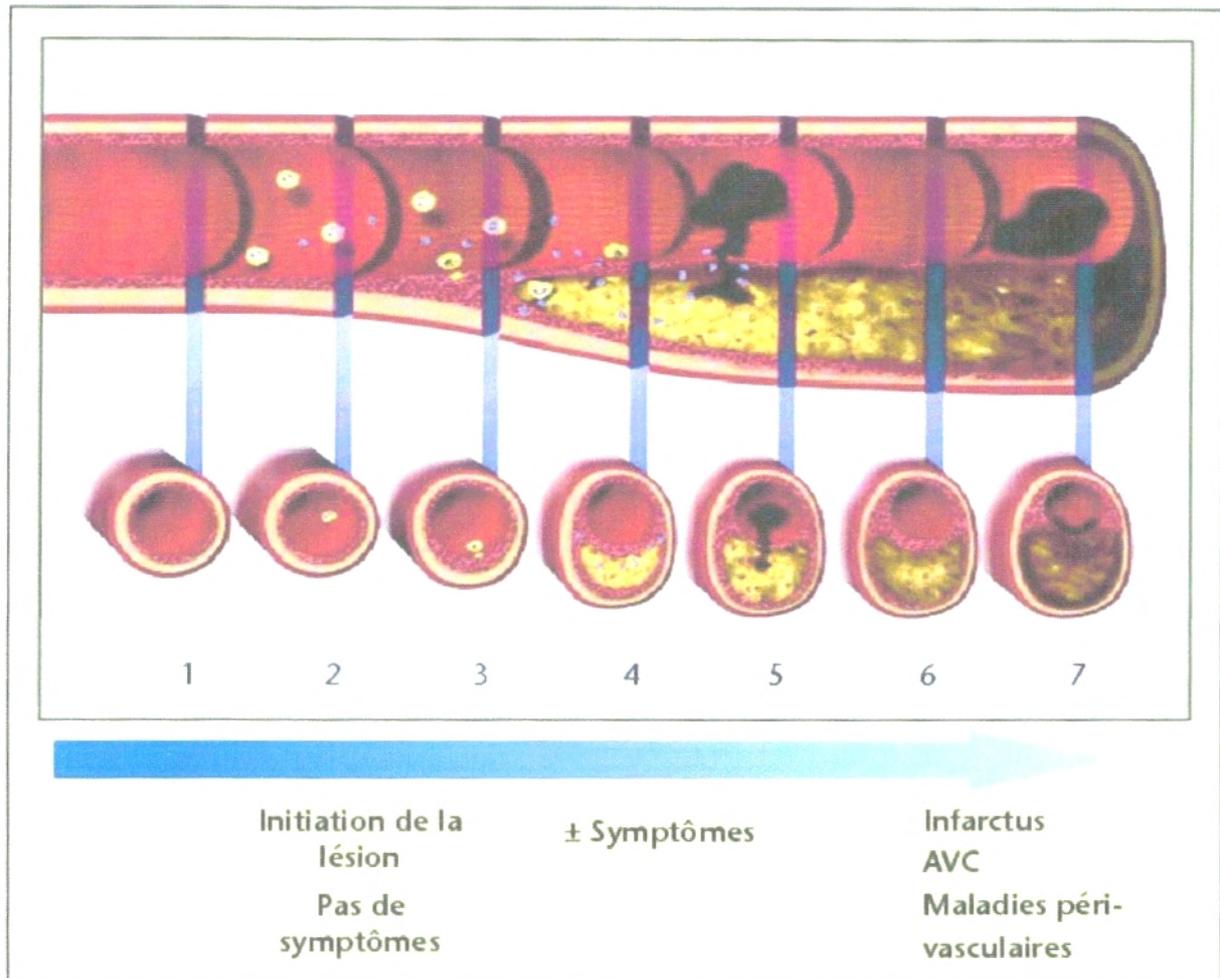


Figure 2 : Les différents stades d'évolution de la plaque d'athérosclérose. De la strie lipidique à la rupture de plaque (LIBBY ET AL. 2001).

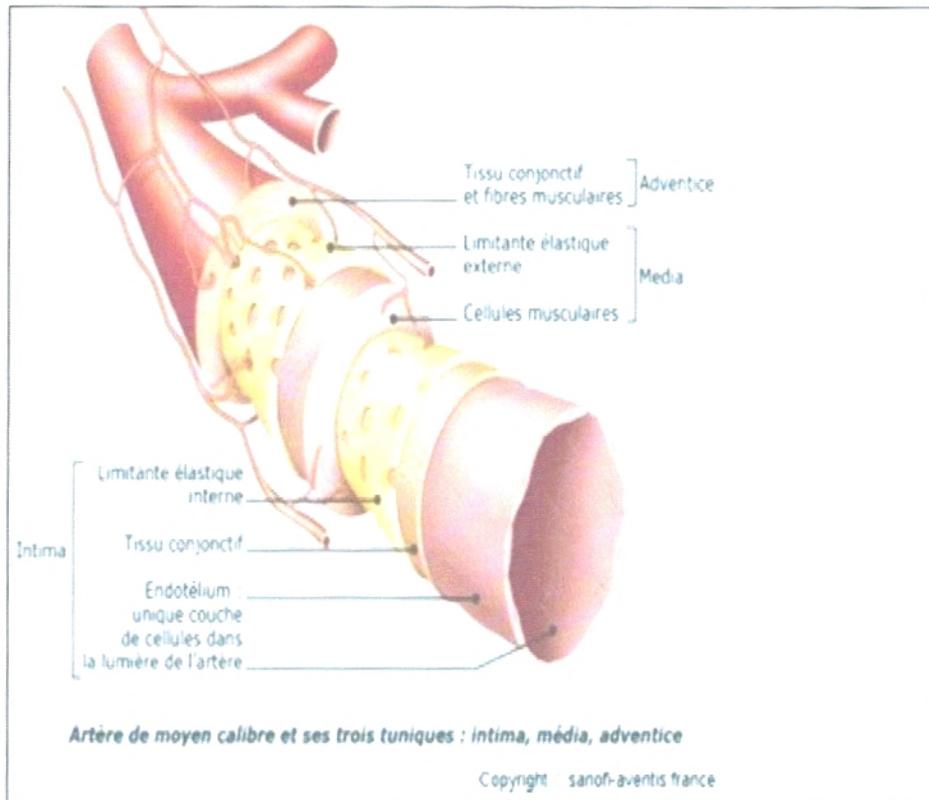


Figure 3-1 : structure de la paroi artérielle normale (BRAMI, 2007)

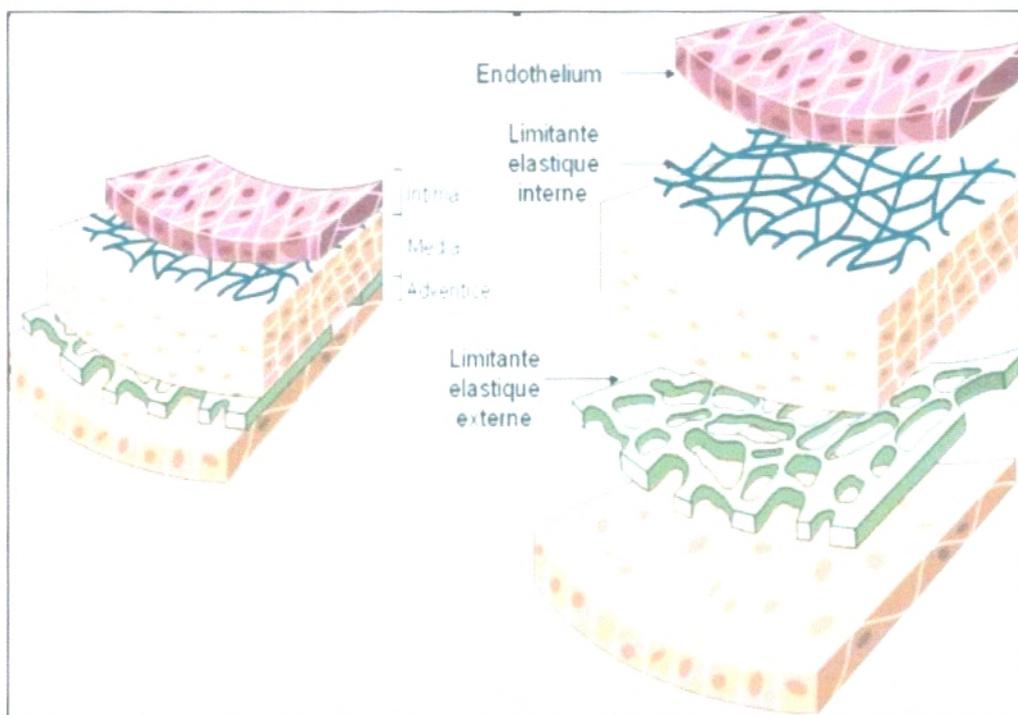


Figure 3-2 : Répartition des différentes tuniques de la paroi vasculaire (MULVANY ET AALKJAER, 1990).

•L'adventice :

C'est la couche périphérique, constituée de tissu conjonctif c'est une enveloppe fibreuse très résistante qui supporte l'innervation et la vascularisation du vaisseau (**BRAMI, 2007**).

Entre ces trois tuniques, se trouvent les lames élastiques, l'interne qui sépare le média et l'intima, l'externe qui sépare le média de l'adventice. (**Figure 3-2**).

4. Physiopathologie de l'athérosclérose

4.1. La formation de la plaque d'athérome

L'atteinte endothéliale représente un événement critique important dans la pathogenèse de l'athérosclérose, Le dommage chronique de l'endothélium artériel entraîne une accumulation des lipides c'est la caractéristique initial de l'atteinte vasculaire en suite survient une adhésion de monocyte. (**KEHRER, 1993**)

Dans l'intima intervient plusieurs acteurs qui jouent un rôle primordiale dans la formation de la plaque athérosclérose. On retrouve les lipoprotéines (LDL oxydées), les macrophages, les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses (CML), et lymphocytes. (**BONNET ET ELIAS, 1997**). (**Figure 4**)

4.2. L'infiltration des LDL dans l'intimat des artères :

Les LDLs interviennent dès les toutes premières étapes du processus athéroscléreux. Elles s'accumulent dans l'espace sous-endothélial, ce qui déclenche le recrutement et l'infiltration dans l'intima des monocytes circulants (**STEINBERG ET GOTTO, 1999**).

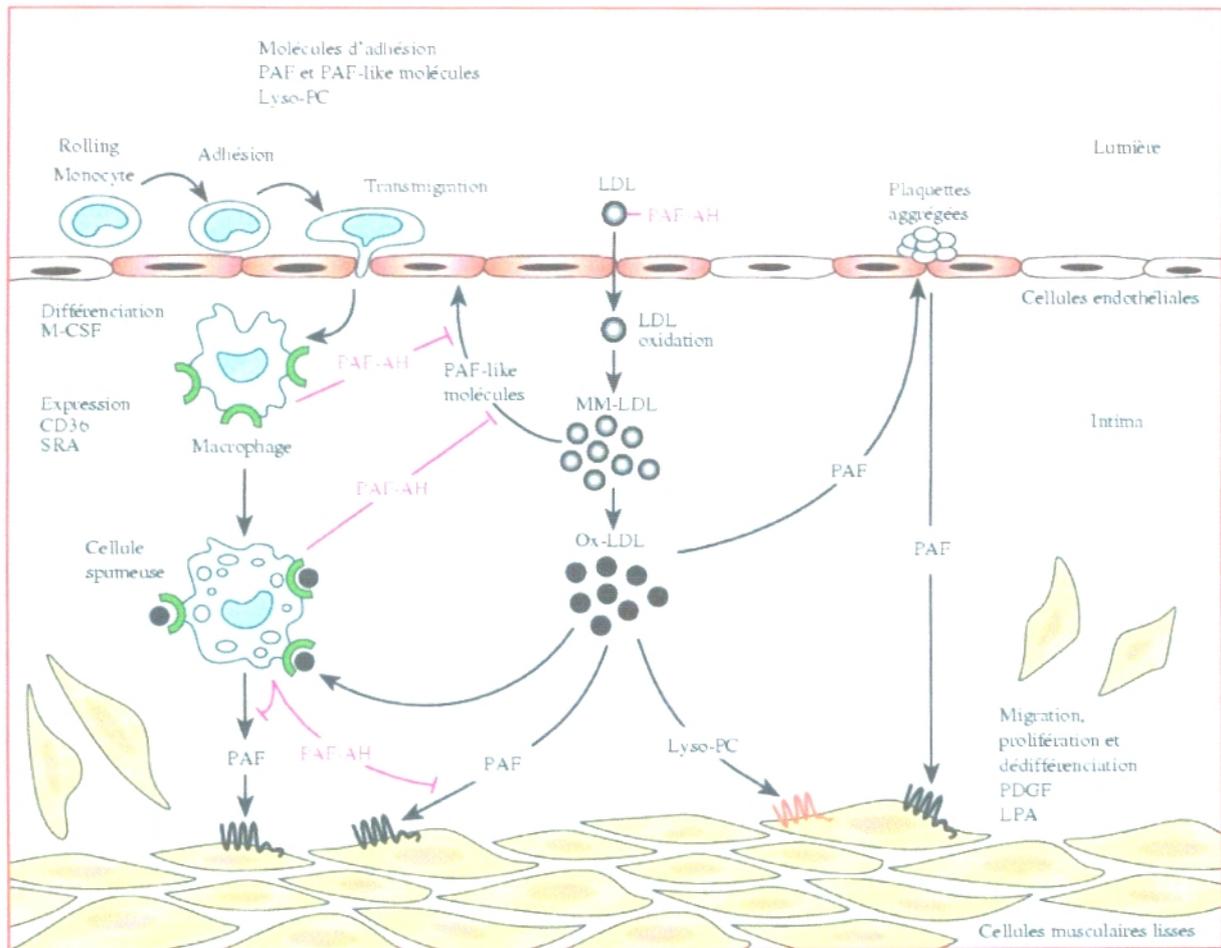


Figure 4 : formation de la lésion athéromateuse (MOROZOVA ET AL., 2004)

4.3. Oxydation des LDL :

Il a été démontré que des concentrations élevées de LDLOx étaient prédictives d'événements coronariens chez des hommes apparemment en bonne santé. Le LDLOx pourrait alors être considéré comme un marqueur de risque pour les complications cliniques associées aux maladies coronariennes (**ANDERSON, 1997**)

Les LDL oxydées représentent une population hétérogène de particules LDL modifiées qui diffèrent dans leur composition chimique et dans leurs propriétés fonctionnelles des particules LDL normales. (**YASUNOBU, 2001**) Des produits d'oxydation lipidiques (MDA), (4-HNA) forment des adduits avec les groupes lysine de l'apoB des LDL. Des coupures des liaisons peptidiques de l'apoB se produisent, ce qui rend sensible la structure antigénique de la particule. (**NALBONE ET AL., 2006**).

Une fois oxydées, les LDL sont reconnues par d'autres récepteurs, les récepteurs « scavenger » (éboueurs) des macrophages. Ces récepteurs entraînent les LDL dans un processus athérogène (**LEONI, 2001**). En effet, ces particules LDL oxydées ont des propriétés antigéniques qui mènent à la formation d'anticorps et à une réaction inflammatoire, entraînant la formation de lésions athérosclérotiques. (**TEDGUI ET CHAPMAN, 2003**).

4.4. Le recrutement des monocytes

Une fois les LDL séquestrées dans l'intima, les monocytes circulants s'immobilisent à la surface de l'endothélium, le traversent, puis s'activent en macrophages au contact des protéines de la matrice extracellulaire. L'adhérence des monocytes à l'endothélium implique la liaison de molécules de structure exprimées à la surface endothéliale (les molécules d'adhérence VCAM-1 et

ICAM-1), à des ligands de la famille des intégrines, présents sur la membrane des leucocytes. Les molécules d'adhérence sont peu ou pas exprimées à la surface d'un endothélium normal, mais leur expression peut être induite par les LDL oxydées. Ou par les cytokines pro-inflammatoires (TNFalpha, IL1) **(PALINSKI, WITZTUM, 2000)**. Les LDL oxydées sont très probablement l'agent de stimulation primaire de l'activation des cellules endothéliales. Les cytokines inflammatoires secondairement exprimées par les cellules de la plaque interviennent comme facteur d'amplification et de pérennisation de l'activation endothéliale. La sensibilité de l'endothélium aux LDL oxydées semble être déterminée génétiquement. **(SHI ET AL., 2000)**.

Les macrophages se transforment en cellules spumeuses, elles captent et internalisent de grandes quantités de LDL oxydées par l'intermédiaire de récepteurs scavenger. **(SUZUKI ET AL., 1997)**. Les monocytes/macrophages sont au centre de la réaction inflammatoire qui conduit à la formation de la plaque d'athérosclérose. Sans eux, il n'y aurait pas d'athérosclérose **(SMITH ET AL., 1995)**. **(figure5)**

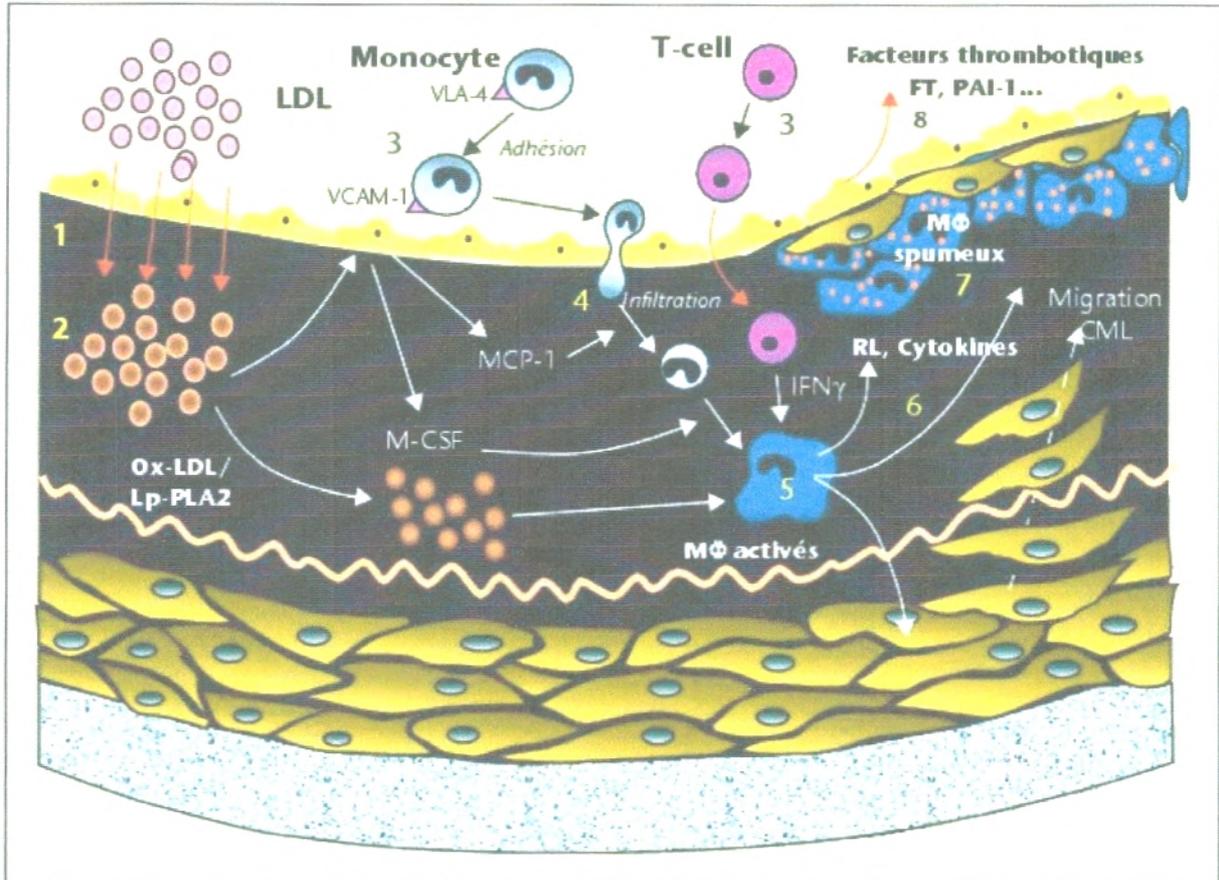


Figure 5 : Les événements cellulaires et biochimiques dans le développement de la plaque (ROSS, 1999)

5. Facteurs de risque du syndrome coronarien

Un facteur de risque est un élément clinique ou biologique dont la présence ou l'augmentation majorent statistiquement la morbi-mortalité cardiovasculaire (apparition de symptôme ou de complication). C'est une des causes de la pathologie cardiovasculaire.

Un marqueur de risque n'a pas de responsabilité causale démontrée dans la survenue de complications cardiovasculaires. Son taux augmente en même temps que s'aggrave la maladie.

Il y a deux types de facteurs non modifiables et modifiables et d'autres facteurs en cours de validation. **(BADIMON ET CHESEBRO, 2002)**

5.2. Facteurs non modifiables

- **Âge** : c'est un facteur de risque continu qui accroît progressivement l'incidence des complications de l'athérome aortique, coronaire puis carotidien et l'insuffisance cardiaque. Ce risque devient significatif à partir de 50 ans chez l'homme et 60 ans chez la femme. **(HERPIN ET PAILLARD, 2003).**

- **Sexe** : le sexe masculin avant 70 ans, deux tiers des infarctus surviennent chez l'homme. Cette différence diminue chez la femme après la ménopause et disparaît après 75ans. L'influence des estrogènes naturels explique la plus faible incidence des complications de l'athérome chez la femme que chez l'homme. **(HERPIN ET PAILLARD, 2003).**

- **Hérédité** : les antécédents familiaux cardiovasculaires, coronaires, d'Accident Vasculaire Cérébral < 55 ans pour le père ou < 65 ans pour la mère. **(HERPIN ET PILLARD 2003).**

5.3. Facteurs de risque modifiables

•**Tabagisme** : Il s'agit d'un facteur de risque majeur quel que soit le type de tabagisme, actif ou passif. La consommation touche actuellement des populations jusque-là moins exposées (femmes, sujets jeunes). Les effets délétères du tabac sont liés à la quantité quotidienne de tabac consommée par jour, à l'âge de début et à la durée de l'exposition. **(ANDERSON ET AL., 2007)**

•**Hypertension artérielle** : L'hypertension artérielle est un facteur de risque cardiovasculaire indiscutable. Le lien entre niveau tensionnel et risque d'athérosclérose est continue, ce qui signifie qu'il n'y a pas de seuil individualisé en dessous duquel le risque peut être considéré comme nul. **(PINCEMAIL, 2004)**. L'hypertension artérielle systolique apparait plus délétère que l'hypertension artérielle diastolique. **(PARADIS ET THIVIERGE, 2005)**.

•**Dyslipidémies** : Parmi les anomalies des lipides circulants, le principal facteur de risque des maladies cardiovasculaires est l'élévation du LDL-cholestérol, cholestérol lié aux lipoprotéines de faible densité $> 1,60$ g/L (4,1 mmol/L). Le LDL-cholestérol est corrélé positivement au risque de maladie cardiovasculaire, alors que le HDL-cholestérol a une corrélation négative, s'il est $> 0,40$ g/L (1 mmol/L). L'élévation seule des triglycérides ($> 2,0$ g/L) n'est pas un facteur de risque (indépendant), mais peut le devenir lors d'association avec d'autres éléments. Le LDL-cholestérol a un rôle direct sur l'accroissement des plaques d'athérome et sur leur rupture par instabilité. L'hypercholestérolémie a un risque relatif de 3 pour les maladies coronaires, plus important que pour l'artériopathie et les AVC. L'efficacité du traitement des hypercholestérolémies a été le principal facteur de baisse de la mortalité cardiovasculaire ($- 30$ % en 20 ans). **(BERGER, 2006)**.

• **Diabète** : Le diabète de type I ou II est associés à une augmentation du risque cardiovasculaire. Les complications cardiovasculaires sont plus précoces à partir de 30 ans, pour le diabète I, (MENU, 2002) mais l'incidence du diabète II en fait un facteur de risque très préoccupant (BADIMON ET CHESEBRO, 2002).

• **Obésité** : Elle est évaluée par l'indice de masse corporelle (poids/taille²) (IMC). Les normales sont de 20 à 25 chez l'homme et de 19 à 24 chez la femme. On parle de surpoids lorsque l'IMC est supérieur à 27 et d'obésité au-delà de 30. L'obésité est dite morbide pour des IMC supérieur à 40. (MENU, 2002)

Par ailleurs, cette obésité peut être de type gynoïde ou androïde. C'est la répartition androïde des graisses, avec l'augmentation de la masse grasse intra-abdominale, qui augmente le plus le risque cardiovasculaire. Elle est estimée par la mesure de la circonférence abdominale au niveau de l'ombilic (< 102 cm chez l'homme et < 88 cm chez la femme). (HERPIN ET PAILLARD, 2003).

• **Sédentarité** : Le manque d'activité physique régulière est associé à une augmentation du risque de mortalité cardiovasculaire. (RUIZ ET AL., 2002) dans la plupart des études épidémiologiques. L'activité physique modifie certains facteurs de risque (maintien d'un poids normal, diminution de la consommation de tabac et modification du régime alimentaire). Par ailleurs, l'activité physique diminue le LDL-cholestérol, augmente le HDL-cholestérol, diminue la pression artérielle. (HERPIN ET PAILLARD, 2003).

6. Autres facteurs

6.1. Le régime alimentaire : C'est, après le tabac, le facteur de risque comportemental le plus important, surtout dans le déterminisme du risque coronaire. L'effet athérogène du régime alimentaire repose sur la modification de plusieurs facteurs de risque tels que les lipides, la glycémie, l'HTA et est très intriqué avec des facteurs de risque comme l'obésité. C'est la consommation d'acides gras saturés qui est athérogène en augmentant le LDL-cholestérol. Le régime méditerranéen (pauvre en acides gras saturés et riche en acides gras insaturés) est associé au risque cardiovasculaire le plus bas et à l'espérance de vie la plus longue. **(HERPIN ET PAILLARD, 2003)**

6.2. Facteurs psychosociaux : L'influence des facteurs psychologiques est indéniable. Elle est difficile à quantifier. Les études épidémiologiques ont permis de cerner la notion « d'environnement stressant ». Il semble que l'environnement professionnel le plus stressant soit celui qui impose des contraintes de productivité et de temps sur lesquels l'employé a peu de latitude de décision **(HERPIN ET PAILLARD, 2003)**. Ainsi, en France, le risque coronaire d'un employé non spécialisé est 4 fois supérieur à celui d'un chef d'entreprise. Les facteurs psychosociaux sont très intriqués avec d'autres facteurs comportementaux (tabac, régime alimentaire ...). Certains profils psychologiques sont aussi associés à un risque cardiovasculaire accru. **(ASSMANN ET AL., 1998)**.

7. Le stress oxydatif ou oxydant :

Dans « stress oxydatif », le mot « stress » n'a pas la même signification que le stress psychique ou psychosocial, il s'agit d'une agression chimique oxydative,

de notre organisme. Il se définit comme un déséquilibre du rapport oxydant / antioxydant quand les oxydant augmente ce phénomène entraine des dommages cellulaires importante (**ATAMER ET AL., 2008**).

Le stress oxydant se prolifère lorsque les radicaux libres produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par les systèmes de défense antioxydants. Ce déséquilibre peut subvenir de diverse origine comme la surproduction endogène d'agents pro-oxydants 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, pollution atmosphérique, métaux toxiques) (**VALKO ET AL., 2006**). (**figure6**).

Les radicaux libres subvenue par le billé du stress oxydatif entraine des dommages des divers macromolécules cellulaires comme l'ADN les protéine et les lipides ; les dommages sont à l'origine de plusieurs maladies y compris la néphrotoxicité, le diabète sucré, l'athérosclérose, l'infarctus du myocarde, l'arthrite, l'anémie, l'asthme, l'inflammation, les maladies neurodégénératives et la carcinogenèse. Cependant les cellules humaines ont un réseau de mécanismes de protection visant à prévenir la production des radicaux libres et les dommages oxydatifs. Ces mécanismes comprennent à la fois des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (**SHARMA ET GOYAL, 2012**).

7.1. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont de petites molécules diffusibles ; Ils ont un électron non apparié. Ils ont la particularité d'être réactif et s'intègrent dans des réactions en chaine dans lesquelles l'événement d'initiation radicalaire peut être propagé et peut endommager plusieurs molécules. (**JONES, 2008**).

Les radicaux libres peuvent être divisés en espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des espèces réactives de l'azote(RNS) tels que le monoxyde d'azote (NO) et le peroxydinitrite (ONOO^-) (**MILLER ET AL., 2008**).(**figure7**)

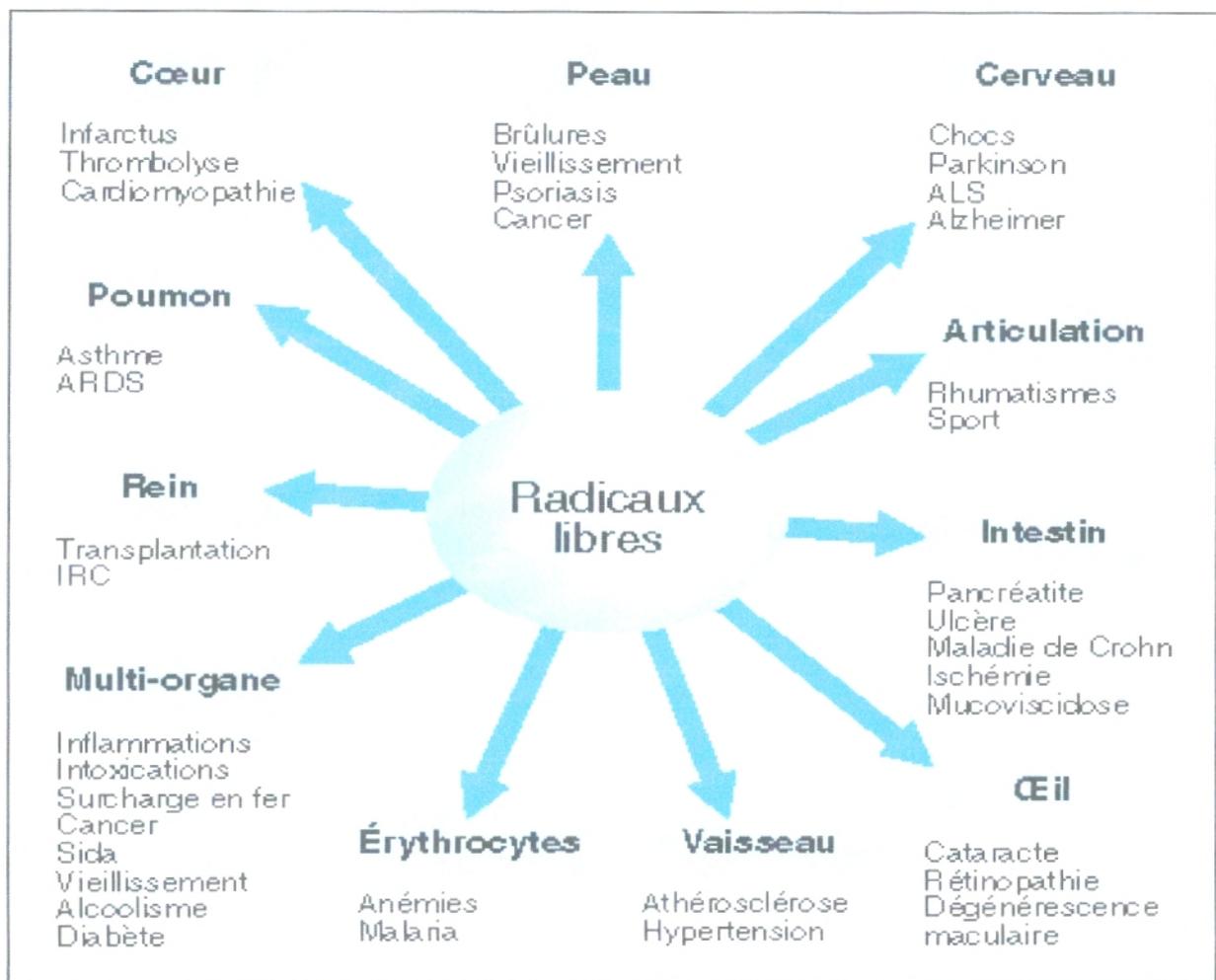


Figure6 : Principales circonstances pathologiques s'accompagnant d'un stress oxydant primitif ou secondaire (ATAMER ET AL., 2008)

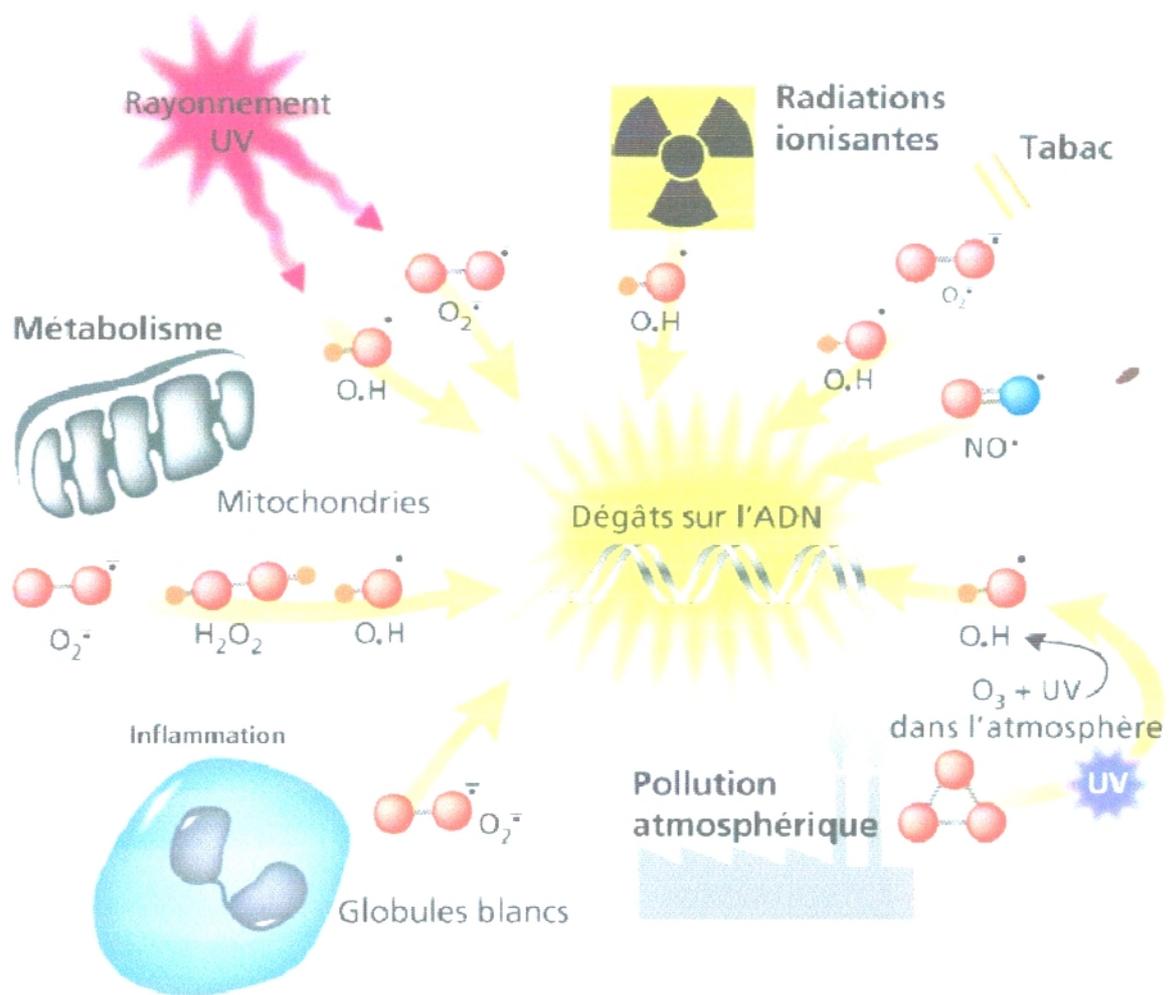


Figure7 : Sources des radicaux libres (OHARE, 2007)

7.2. Espèces réactives de l'oxygène :

Les ROS sont une famille de molécules actives contenant des radicaux libres et impliqué dans la modulation des fonctions cellulaires biologiques **(SHIEH ET AL., 2010)**. Toutes les cellules qui dépendent de l'oxygène produisent des radicaux hydroxyles, des radicaux superoxydes et aussi le H_2O_2 . La chaîne mitochondriale de transport d'électrons est le principal site de la production cellulaire des ROS. Ils sont aussi le résultat du métabolisme de nombreuses drogues **(KIM ET AL., 2010)**.

Les ROS ont des effets bénéfiques en étant des molécules de signalisation et en jouant un rôle dans la défense de l'hôte. D'autres part, ces molécules peuvent induire des dommages cellulaires importants dus à l'excès de la production de ces derniers. L'exposition excessive au ROS endommage les macromolécules et contribue de manière significative à de nombreuses pathologies dont les maladies cardiovasculaires, **(KIM ET AL., 2009)**.

L'un des plus forts radicaux libres générés par la chaîne respiratoire cellulaire est le radical superoxyde (O_2^-) qui résulte d'autres radicaux libres comme le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle). La particularité du radical superoxyde (O_2^-) est sa courte demi-vie et sa réaction avec le NO pour produire le peroxyde nitrite (ONOO^-). **(AL-MAMUN ET AL., 2007)**.

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) a pour rôle de détruire la membrane cellulaire, réduit la viabilité des cellules, la cause des dommages oxydatifs au niveau de l'ADN génomique et l'ADN mitochondrial **(GUHA ET AL., 2009)**; par sa caractéristique oxydante il a le pouvoir d'oxyder quelques enzymes en oxydant leurs groupements thiols **(MOHAN ET AL., 2012)**. Le radical hydroxyle (OH^\bullet) est le plus réactif car il provoque des dommages cellulaires irréversibles.

Les radicaux dérivés de l'oxygène comme le radical peroxyde (ROO^\bullet) peuvent être formés dans les systèmes vivants et peuvent endommager l'ADN / ARN. Ils sont impliqués dans le clivage de l'ADN et la modification du squelette protéique. **(BHATTACHARYA ET AL., 2007)**

L'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) est produit dans la peau sous l'effet du rayonnement UV, il induit l'hyperoxydation, la cytotoxicité d'oxygène, et diminue l'activité antioxydante. **(HAZRA ET AL., 2011)**. **(Figure8)**

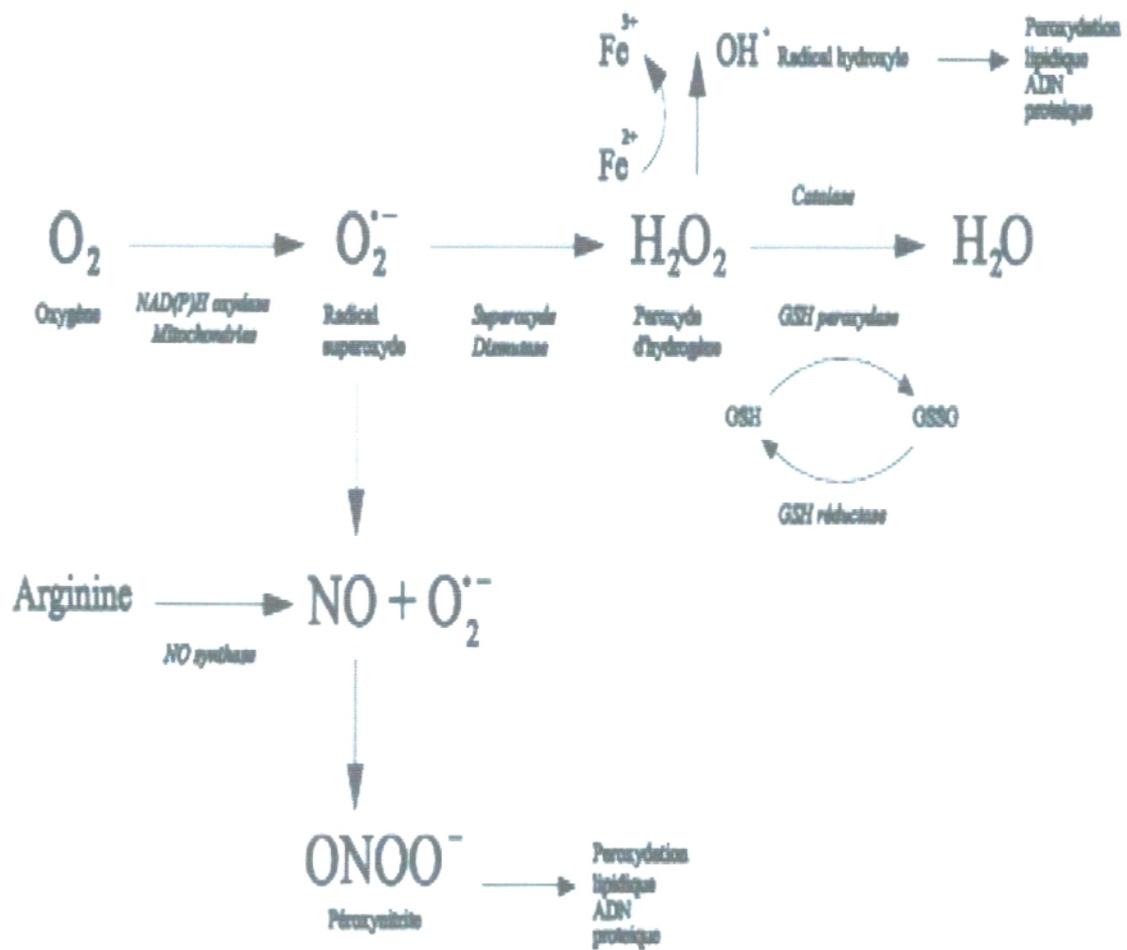


Figure 8: Formation des radicaux libres oxygénés (TURRENS, 1997; HUET, DURANTEAU, 2008)

7.3. Les espèces réactives à l'azote :

Les espèces réactifs à l'azotes (RNS) Parmi ces molécules, il y a le monoxyde d'azote (NO[•]) et le peroxy-nitrite (ONOO⁻) (**TREMELLEN, 2008**). Le monoxyde d'azote (NO[•]) est un gaz instable qui a de très nombreuses fonctions biologiques. Il joue un rôle central dans le maintien de certaines réactions physiologiques, dans la pathogenèse des maladies cardiovasculaires et aussi dans le traitement cardiovasculaire. (**ADLER ET AL., 2003**).

Les NO-synthétases sont responsables de la synthèse de la molécule de (NO[•]) Leurs trois isoformes ont une expression et une activité tissulaire spécifique dépendant en partie du calcium. La production de NO se fait par oxydation de l'acide aminé L-arginine. (**ALVAREZ, 2003**)

La disponibilité biologique du NO actif, reflète assez bien l'état de santé du système vasculaire artériel. C'est ainsi que la libération pharmacologiquement ou physiologiquement stimulée de NO est un bon facteur de prédiction de la mortalité de patients ayant des facteurs de risque cardiovasculaires ou une cardiopathie ischémique manifeste. (**BAKER ET AL., 2002**)

7.3.1. Peroxynitrite :

Peroxynitrite (ONOO⁻) est un oxydant fort qui résulte de la réaction du monoxyde d'azote avec l'anion superoxyde (O₂⁻). Il en résulte une nitrosilation et une lésion fonctionnelle des protéines. Le peroxy-nitrite peut réagir directement avec des groupes riches en électron, comme les sulfhydryls (**RADI, ET AL., 1991**)

Des centres de soufre de fer, le zinc-thiolates entraînant ainsi des lésions des membranes cellulaires, des peroxydations lipidiques et des lésions de l'ADN qui accélère l'apoptose et la mort cellulaire. (**SONG ET AL., 2007**).

7.3.2. Monoxyde d'azote et pathologies cardiovasculaires

Une biodisponibilité restreinte du NO a été démontrée en présence de tous les facteurs de risque cardiovasculaire connus, dont l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie, le diabète, l'obésité, la post ménopause, le tabagisme,

le vieillissement, l'insuffisance rénale chronique, mais aussi lors d'un manque d'activité physique et de dépressions. **(TREMELLEN, 2008).**

Le monoxyde d'azote peut être utilisée de façon fiable comme un facteur prédictif d'accidents cardiovasculaires.

7.4. Dommage de l'ADN induit par les radicaux libres :

Les ROS attaquent l'ADN par phénomène d'oxydation ils contribuent à modifier la structure de l'ADN par des mutation de paires de bases des délétion des insertions et des ruptures des brins ces dommage induit a l'apparition de la carcinogénèse au vieillissement et aux maladies neurodégénératives. **(MAYNARD ET AL., 2009). (figure9)**

7.5. Dommage des lipides induit par les radicaux libres :

La réaction de la détérioration par oxydation des lipides est désigné par la peroxydation lipidique **(SIVALOKANATHAN ET AL., 2006)** ce phénomène induit plusieurs trouble chronique La peroxydation implique la réaction directe de l'oxygène et des lipides pour former des radicaux intermédiaires et pour produire des peroxydes semi stables, qui endommagent les enzymes, les acides nucléiques, les membranes et les protéines. **(BEEVI ET AL., 2010)**

Le malondialdéhyde (MDA), qui est un produit final majeur et est un indice de la peroxydation lipidique, interconnecte les protéines et les nucléotides sur le même brin et sur le brin opposé. **(SIVALOKANATHAN ET AL., 2006). (Figure 10)**

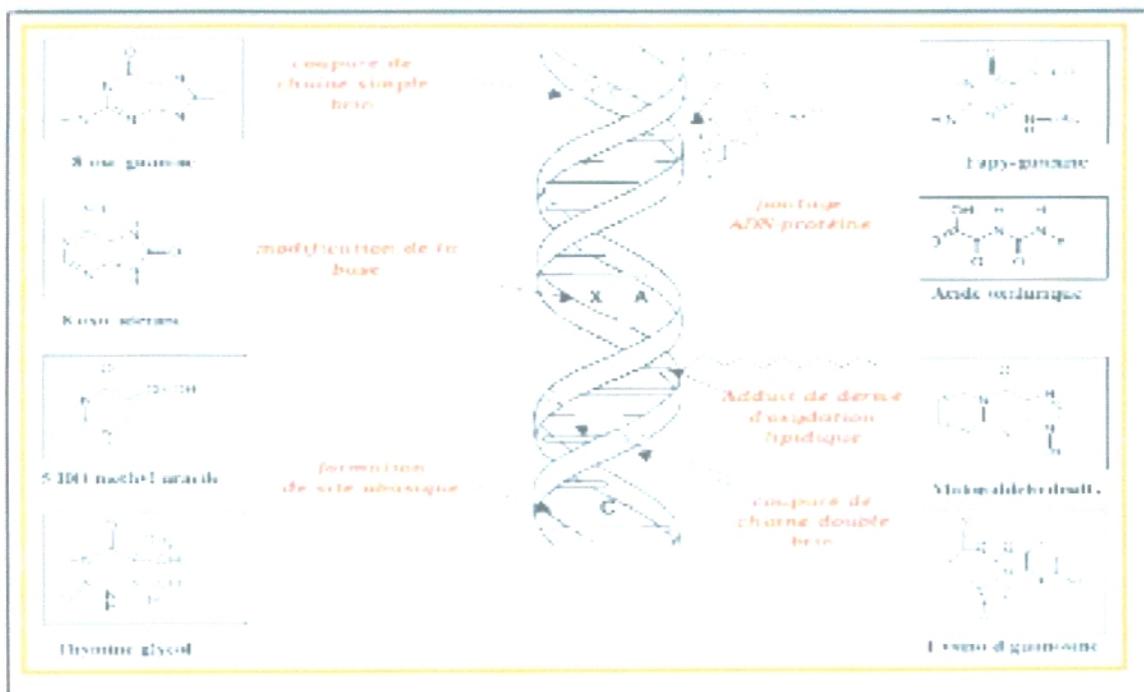


Figure 9 : Les principaux dommages oxydatifs médiés à l'ADN par les ROS. (Favier, 2003)

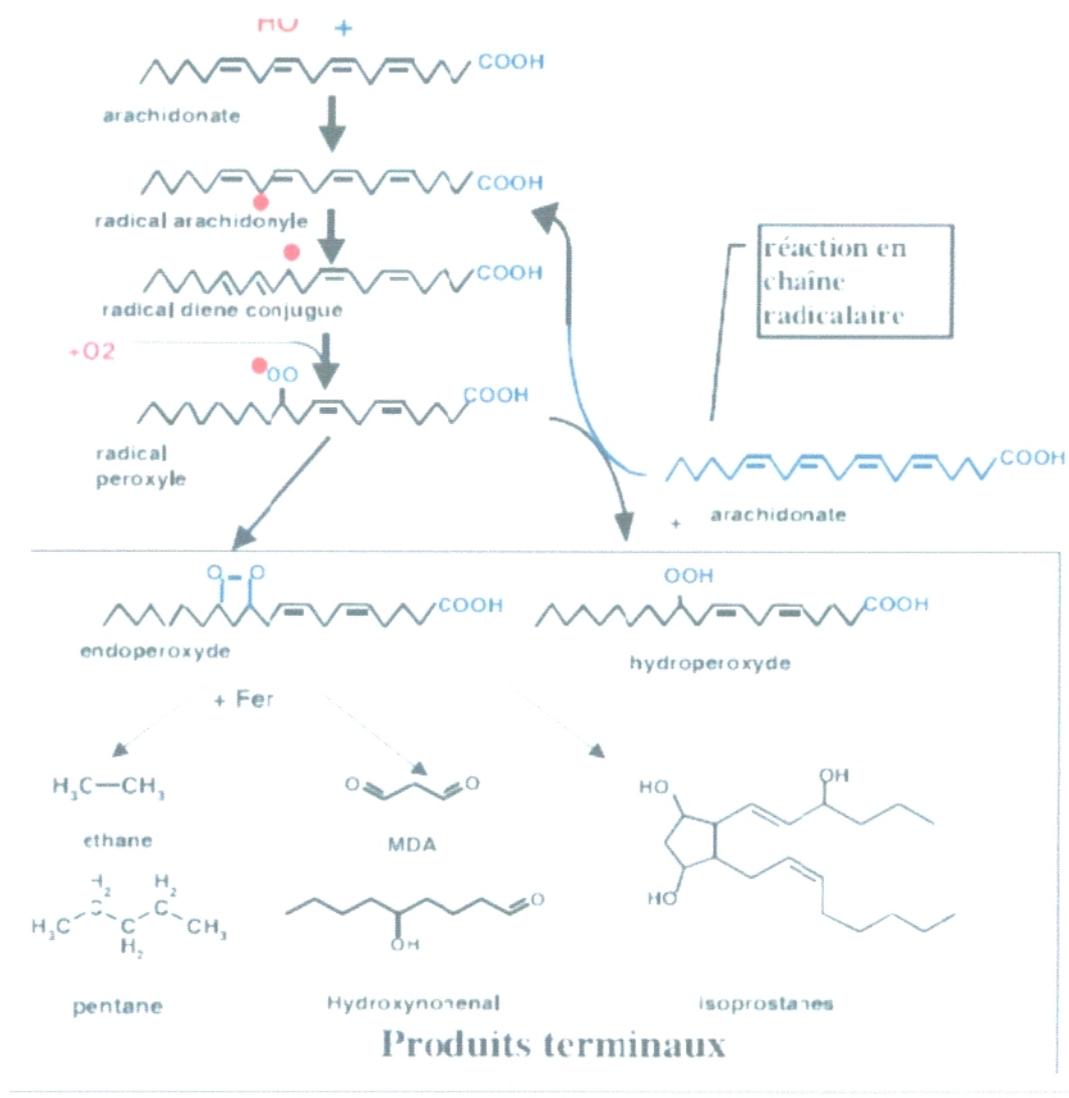


Figure10: Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des protéines terminaux formés (FAVIER, 2003)

7.6. Dommages des protéines induit par les radicaux libres

En présence des ROS, les protéines peuvent se dénaturer, se fragmenter ou perdre leurs structures primaires et secondaires. Les dommages oxydatifs au niveau des protéines (et des acides aminés) peuvent se manifester de diverses manières (**DAVIES; 1987 ET 1999**)

- apparition de groupements hydroperoxydes (-OOH),
- oxydation du squelette carboné de la chaîne polypeptidique conduisant à une fragmentation des protéines et à l'apparition de groupements carbonyles,
- oxydation des chaînes latérales des acides aminés avec formation de ponts disulfure, de méthionine sulfoxyde et de groupements carbonyles
- formation de dérivés chlorés et nitrés. (**PANTKE ET AL., 1999**)

7.7. Antioxydants enzymatiques

7.7.1. Les superoxydes dismutases (SOD's)

Cette enzyme assure l'élimination de l'anion superoxyde, première espèce toxique formée à partir de l'oxygène. Elle assure ainsi la première ligne de défense contre le stress oxydant (**MENA ET AL., 1991**). Un bon fonctionnement de la SOD a besoin d'oligo-éléments comme le cuivre et le zinc (Cu-ZnSOD présente dans le cytosol) ou le manganèse (MnSOD présente dans la mitochondrie) par ailleurs Il existe une SOD extracellulaire, mais une concentration trop élevée de cette dernière peut s'avérer dangereuse car, elle est à la base d'une surproduction de peroxyde d'hydrogène (**LEVINE ET KIDD ., 1996**)

7.7.2. Les glutathion peroxydases (GPx)

Cette enzyme a besoin du glutathion et du sélénium pour fonctionner correctement. Son rôle principal est d'éliminer les peroxydes lipidiques résultant de l'effet du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés.

Tout comme la SOD, la glutathion peroxydase séléno-dépendante se comportera de deux façons différentes face au stress oxydant, une surexpression de

l'enzyme dans un premier temps puis destruction si le stress oxydant perdure de manière permanente et une diminution de l'activité de la GPx peut provenir d'un apport alimentaire trop faible en sélénium. (NEVE ET AL., 1989)

7.7.3. Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR) :

Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH). Elles jouent un rôle important dans la régulation du système immunitaire. (MORAN ETAL.,2001).

Une fois oxydée, la thiorédoxine est réduite par la thiorédoxine réductase (TRxR) c'est une enzyme qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif. Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique. (HATTORI ET AL., 2003).

7.7.4. Enzyme catalase :

Les Catalases sont des enzymes qui catalysent la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène, utilisant un fer ou le cofacteur de manganèse. Ceci est trouvé dans les peroxysomes en la plupart des cellules eucaryotes. Son seul substrat est peroxyde d'hydrogène son cofacteur est oxydé par une molécule de peroxyde d'hydrogène et puis régénéré en transférant l'oxygène attaché à une deuxième molécule de substrat. (VALKO ET AL., 2006)

7.8. Les antioxydants non-enzymatiques

7.8.1. Les caroténoïdes :

Par dégradation, certains caroténoïdes comme le β - carotène sert de précurseurs à la vitamine A dont le rôle est primordial dans la perception visuelle. La plupart des caroténoïdes et vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet et peuvent ainsi empêcher l'oxydation de plusieurs substrats biologiques dont les acides gras polyinsaturés.

Une déficience majeure en vitamine A ou rétinol est rare et ne s'observe que pour des valeurs inférieures à 10 mg/100 ml. Des valeurs basses

(<28,6mg/100ml chez l'enfant et < 40,1 mg/100 ml chez l'adulte) correspondent à un risque modéré de déficience en vitamine A (**GEY ET AL., 1993**)

7.8.2. La vitamine C :

La vitamine C ou acide ascorbique n'est pas synthétisée par l'organisme. Sa concentration plasmatique dépend fortement de l'alimentation et des modifications du flux hépatique . C'est un excellent piègeur des EOA 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'EOA (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). 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 ET PINCEMAIL , 2008**)

Face à un stress oxydant, la vitamine C sera consommée. Plusieurs études ont par ailleurs montré que des valeurs de vitamine C inférieures à 4 mg/mL sont associées avec un risque accru de développement de maladies cardiovasculaires malgré son caractère très labile, la vitamine C peut se doser en routine moyennant un traitement immédiat et approprié de l'échantillon sanguin (**GEY ET AL ., 1993**)

7.8.3. La vitamine E :

Sous le terme vitamine E est regroupée la famille des tocophérols (alpha,beta,gamma,delta). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. (**EL-SOHEMY ET AL., 2002**).

7.8.4. Le glutathion :

Il s'agit d'un tripeptide qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant. Le glutathion (GSH) peut interagir 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 de gènes codant pour des protéines pro –

et anti – inflammatoires . Des concentrations trop basses en GSH conduisent à une diminution de la défense immunitaire. **(JONES ET AL., 2002). (figure11)**

7.8.5. L'acide urique

L'acide urique constitue le produit terminal majeur du métabolisme des purines chez les primates. Possédant des propriétés antioxydants, 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 ROS. **(ALLEVA ET AL., 1997).**

7.8.6. Le CoEnzyme Q10

L'ubiquinone ou CoQ10 est bien connu pour son rôle vital dans la production d'énergie au niveau de la mitochondrie. Le CoQ10, principalement sous sa forme réduite ubiquinol 10 ou CoQ10H2, possède aussi des propriétés antioxydantes intéressantes puisque, tout comme la vitamine E, il est capable d'inhiber la peroxydation lipidique **(ERNSTER ET DALINER, 1995)**

7.8.7. Les oligo-éléments

•Le sélénium

Cet oligo-élément n'est pas en tant que tel un antioxydant mais il participe au processus de défense contre les ROS comme co-facteur de la glutathion peroxydase. **(CESARINI, 2004)**

Plusieurs grandes études ont montré que des concentrations sériques en sélénium inférieures à 45 – 50 µg/L, sont associées avec l'apparition de pathologies coronariennes. **(PINCEMAIL, 2004)**

Le sélénium est un cofacteur de divers enzyme à activité antioxydante. **(DEFRAIGNE ET PINCEMAIL ,2008)**

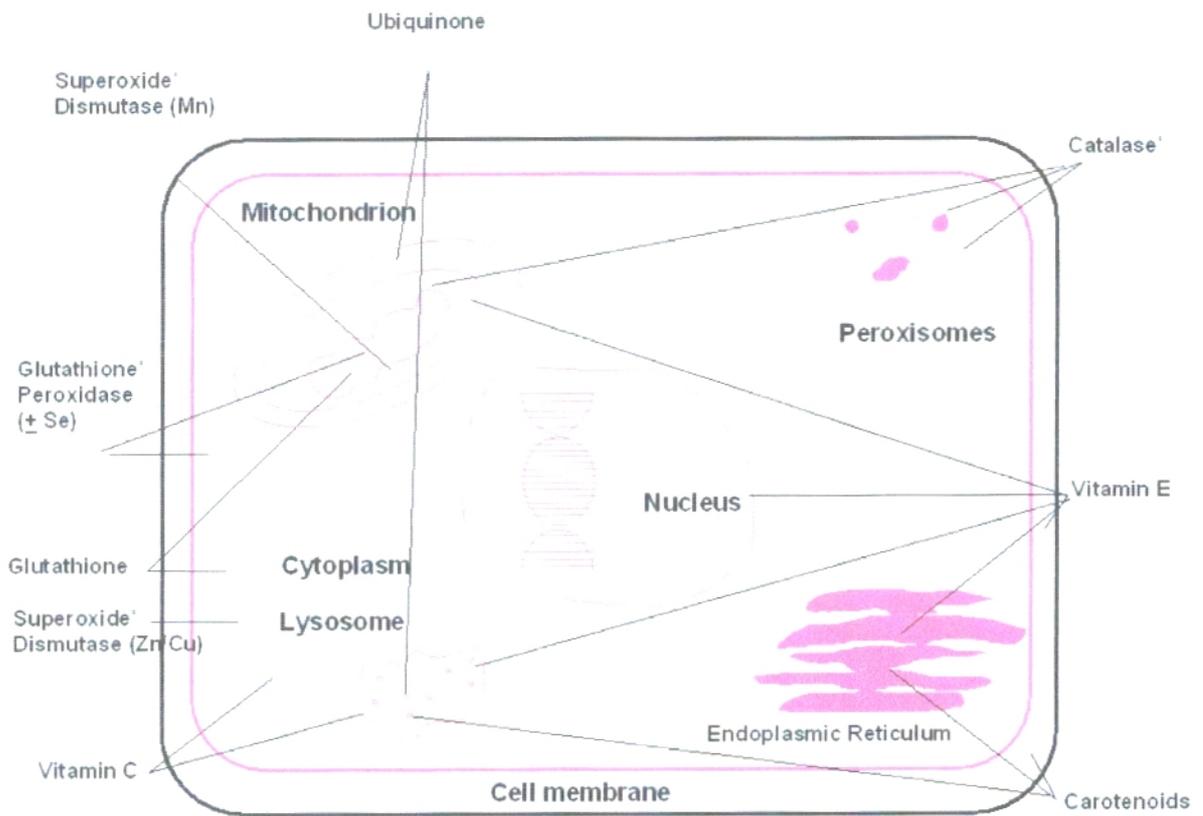


Figure 11: Mode d'action des enzymes antioxydante (GEY ET AL., 1993)

•Le cuivre :

Cet oligo-élément est un des co-facteurs essentiels de la SOD. Toutefois, au même titre que le fer, il joue, en tant que métal dit de transition, 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 montré 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 de 0.7 à 1.4mg/l.

•Le zinc :

Cet oligo-élément est un des co-facteurs essentiels de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes comme les métallothioneines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre. (PINCEMAIL, 2004 ;DEFRAINGUE ET PINCEMAIL, 2004) A ce titre, l'analyse du rapport sanguin cuivre/zinc peut donner des indications intéressantes sur l'état de stress oxydant d'un individu. (BERGER, 2006)

7.9. Facteurs contribuant à augmenter le stress oxydant :

Un stress oxydant se définira comme étant un déséquilibre de la balance entre les antioxydants et les pro-oxydants en faveur de ces derniers. In vivo, plusieurs systèmes biochimiques peuvent être à l'origine d'une production accrue d'EOA. L'altération de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie est une première cause de l'augmentation du stress oxydant (SIES H., 1991).

Ce phénomène se produit lors du processus du vieillissement ou de toute situation caractérisée par un phénomène d'ischémie – reperfusion (e.g. la transplantation d'organes). L'activation des globules blancs est également une source très importante de production d'EOA. Sous l'action d'agents étrangers,

ces cellules passent d'un état quiescent à un état activé, ce qui se traduit par une augmentation de 400% de la consommation en oxygène. **(WASSMANN ET AL.,2002)**

Divers systèmes enzymatiques transforment la quasi-totalité de l'oxygène en ROS qui peut alors s'attaquer à des tissus sains : c'est le phénomène de l'inflammation. **(BONNEFONT-ROUSSELOT ET AL., 2003).**

8. Marqueurs du stress oxydant et pathologie cardiovasculaire

Les maladies coronariennes représentent la principale cause de décès dans les pays industrialisés (environ 30 à 50%). Les manifestations les plus importantes des maladies coronariennes sont l'angine, l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque chronique consécutive et la mort subite. **(PINK SHEET, 1995)**

La maladie coronarienne qui se manifeste cliniquement est une maladie qui a atteint son apogée et qui tient ses origines dans un athérome sous-clinique présent depuis une longue période de temps. **(HENDERSON, 1996).**

Comme le stress oxydant est impliqué dans la physiopathologie de l'athérosclérose et des syndromes coronaires aigus, on comprend l'intérêt à développer des marqueurs spécifiques, sensibles, fiables et d'exécution analytique aisée. Le stress oxydant peut être évalué par la mesure des radicaux libres, des systèmes antioxydants, enzymatiques ou non, et des dommages créés par l'attaque des radicaux libres sur les lipides, les protéines et les acides nucléiques. **(LEFER ET AL., 2000).**

Chapitre 2 : matériels et méthodes

1. Population étudié

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 étude est réalisée auprès d'une population de 10 hommes atteints du syndrome coronarien recrutés au niveau du service de cardiologie CHU de Tlemcen et de 13 hommes sains

Caractéristique	Témoins	cas
Effectifs	13	10
Age	39,30±8,74	67,33±12,14
Poids (kg)	75,23±9,59	65,91±8,38
Taille (m)	1,75±0,04	1,71±0,09
IMC (kg/m ²)	24,74±3,16	22,42±2,42
Tabagisme(%)	/	46
HTA(%)	/	33
IDM(%)	/	58
DT2(%)	/	42
Alcool(%)	/	50

Tableau 1 : caractéristique de la population étudié

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

2. Les prélèvements sanguins :

Les prélèvements sanguins se font le matin à jeun sur la veine du pli du coude. Sur tubes anti coagulant (EDTA) et des tubes secs, tous les tubes sont étiqueté et répertoriés de manière précise. , puis centrifugés à 3000 tours/ min pendant 15 min. Le plasma ou le sérum conservé pour le dosage des marqueurs du statut oxydant/antioxydant.

Le culot est récupéré, lysé avec 9 volumes d'eau distillée glacée puis incubé pendant 15 min au réfrigérateur (2-8°C). Celui-ci est ensuite centrifugé à 4000 tours pendant 15 min afin d'éliminer les débris cellulaires. Le surnageant récupéré constitue le lysat érythrocytaire qui servira pour le dosage des marqueurs érythrocytaires du statut oxydant/antioxydant. Le dosage de la vitamine C se fait le jour même du prélèvement. Les échantillons ont été stockés au congélateur pendant un temps très court, ne dépassant pas un mois, afin d'éviter la dégradation des protéines et des lipides.

3. Détermination du statut oxydant / antioxydant

3.1. Dosage de la vitamine C (JACOTA ET DANI, 1982) :

La vitamine C plasmatique est dosée en utilisant le réactif de Folin et une gamme étalon d'acide ascorbique. Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloroacétique (TCA) et centrifugation, le surnageant est incubé en présence du réactif de coloration folin ciocalteau dilué. La vitamine C présente dans le plasma réduit le réactif de folin donnant une coloration jaune. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en vitamine C à une longueur d'onde de 769 nm présente dans l'échantillon. La concentration est déterminée à partir de courbe étalon obtenu grâce à une solution d'acide ascorbique.

3.2. Détermination de l'activité de la catalase (AEBI, 1974) :

Cette activité enzymatique est mesurée par l'analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène. En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H₂O₂ en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient 1ml de surnageant (lysate dilué au 1/50 ou sérum), 1 ml d'H₂O₂, et 1ml de tampon phosphate (50mmol/l, pH 7,0). Après incubation de 5 min, 1 ml du réactif titanium oxyde sulfate (TiOSO₄) (1,7 g dans 500 ml d'H₂SO₄ 2N) est ajouté. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du H₂O₂ restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H₂O₂ avec le tampon phosphate et le réactif (TiOSO₄) de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l.

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

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

A₁ est la concentration de H₂O₂ de départ

A₂ est la concentration de H₂O₂ après incubation (au bout de 5 min) L'activité spécifique est exprimée en U/g Hb ou en U/ml.

3.3. Dosage du Malondialdéhyde (DRAPER ET AL., 1990) :

Le malondialdéhyde (MDA) érythrocytaire et sérique représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogène consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm).

3.4. Dosage du Peroxynitrite selon la méthode de (BECKMAN ET AL. 1992) citée par (VAN UFFELEN ET AL. 1998)

La détermination du taux de peroxy-nitrite se fait au niveau du sérum. La nitration du phénol par le peroxy-nitrite est mesurée au spectrophotomètre à 412 nm

4. ANALYSE STATISTIQUE :

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

* $P < 0,1$ significative, très significatives à ** $P < 0,01$ et hautement significative
*** $p < 0,001$

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

Chapitre 3 : résultats et interprétations

1. Les caractéristiques de la population

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

2. Statut oxydant/ antioxydant

2.1. Teneurs en vitamine C :

Concernant les teneurs plasmatiques en vitamine C les résultats montrent que le taux reste inchangé chez les coronariens par rapport aux témoins.

2.2. L'activité enzymatique de la catalase

La teneur de l'enzyme de la catalase plasmatique montre que le taux reste inchangé chez les coronariens par rapport aux témoins. Par contre les teneurs enzymatiques de la catalase érythrocytaire montrent une diminution significative chez les patients coronariens par rapport aux témoins.

2.3. Teneur plasmatique et érythrocytaire en MDA

Les teneurs en MDA plasmatique montrent une augmentation significative chez les patients coronariens comparées aux témoins. Par contre les teneurs en MDA érythrocytaire restent inchangées chez les coronariens par rapport aux témoins.

2.4. Teneur en peroxy-nitrite

Les teneurs en peroxy-nitrite sont augmentées chez les patients coronariens de manière très significative par rapport à celles obtenues chez les témoins

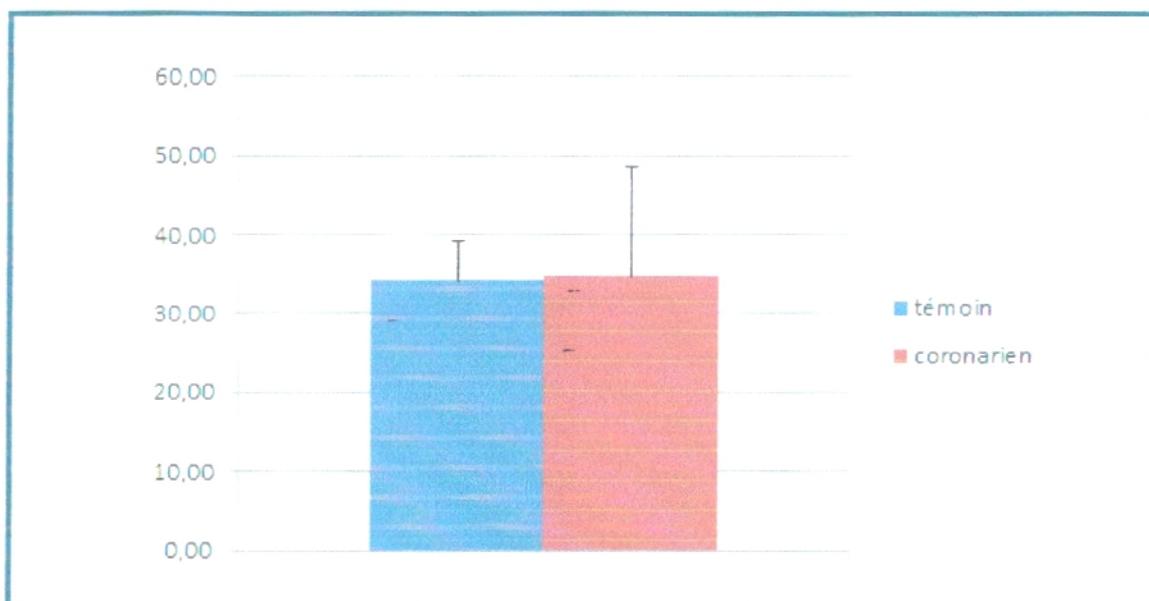


Figure12 : le teneur plasmatique de la vitamine C chez les coronariens et les témoins

Différence significative * $p < 0,1$

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

Différence hautement significative *** $p < 0,001$

Chaque moyenne représentent la moyenne \pm l'erreur standard.

La comparaison des témoins est effectuée par le test « t » de student

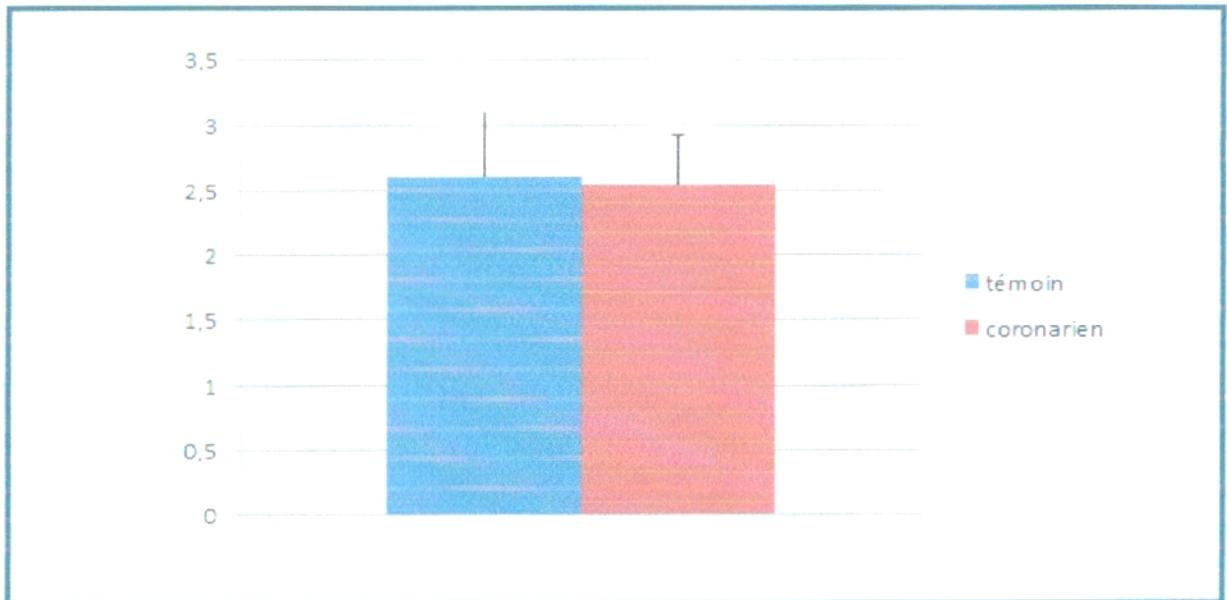


Figure13 : teneur plasmatique de l'enzyme catalase chez les coronariens et les témoins

Différence significative * $p < 0,1$

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

Différence hautement significative *** $p < 0,001$

Chaque moyenne représente la moyenne \pm l'erreur standard.

La comparaison des témoins est effectuée par le test « t » de student

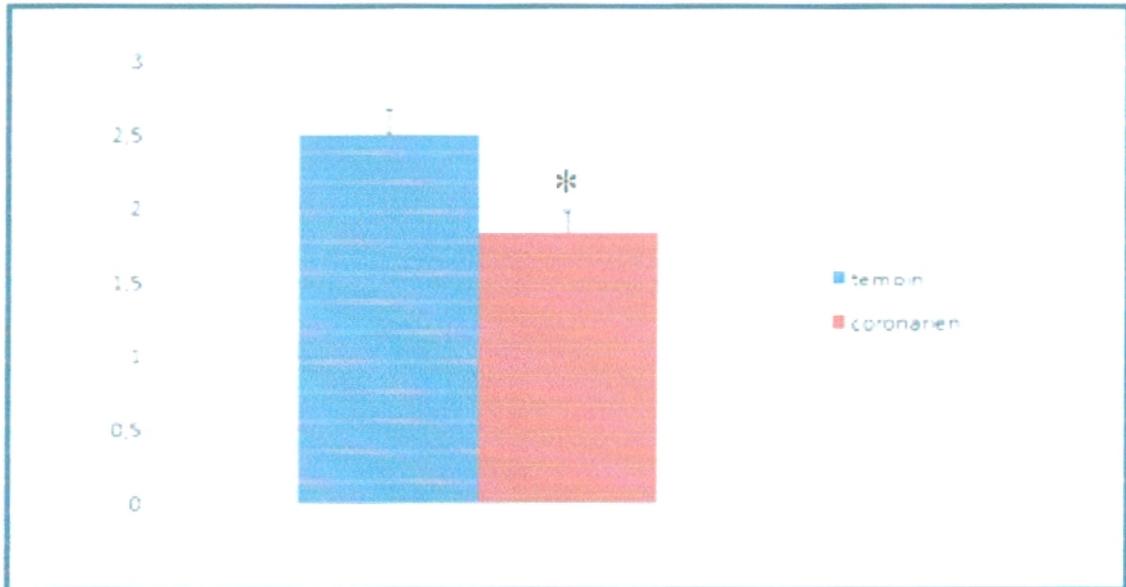


Figure14 : teneur érythrocytaire de l'enzyme catalase chez les coronariens et témoins

Différence significative * $p < 0,1$

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

Différence hautement significative *** $p < 0,001$

Chaque moyenne représente la moyenne \pm l'erreur standard.

La comparaison des témoins est effectuée par le test « t » de student

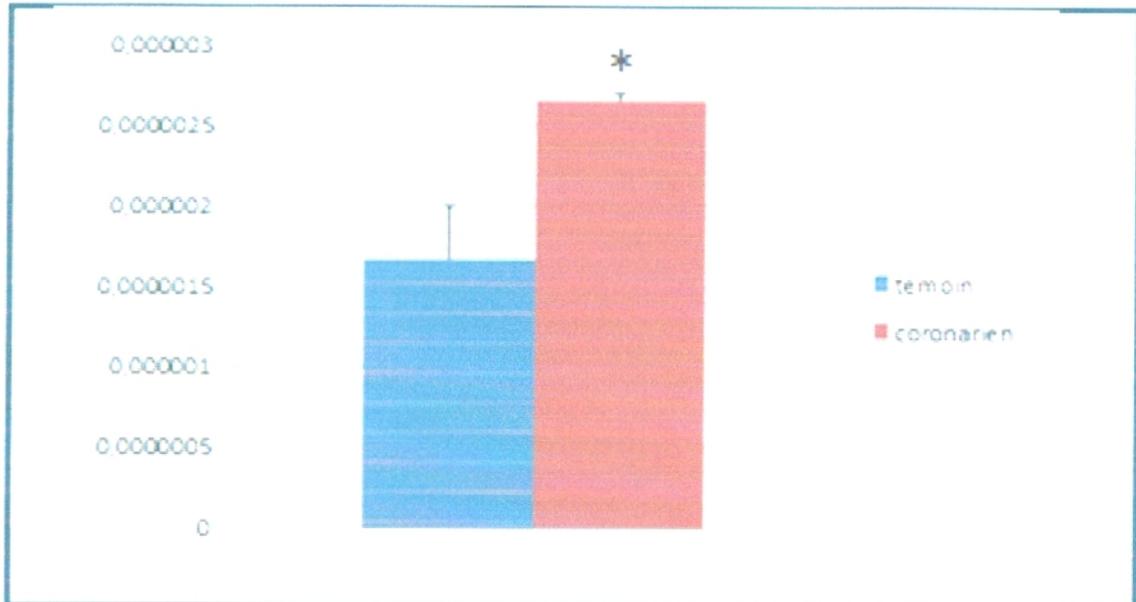


Figure15 : teneur plasmatique de MDA chez les coronariens et les témoins

Différence significative * $p < 0,1$

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

Différence hautement significative *** $p < 0,001$

Chaque moyenne représentent la moyenne \pm l'erreur standard.

La comparaison des témoins est effectuée par le test « t » de student



Figure16 : teneur érythrocytaire de MDA chez les coronariens et les témoins

Différence significative * $p < 0,1$

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

Différence hautement significative *** $p < 0,001$

Chaque moyenne représentent la moyenne \pm l'erreur standard.

La comparaison des témoins est effectuée par le test « t » de student

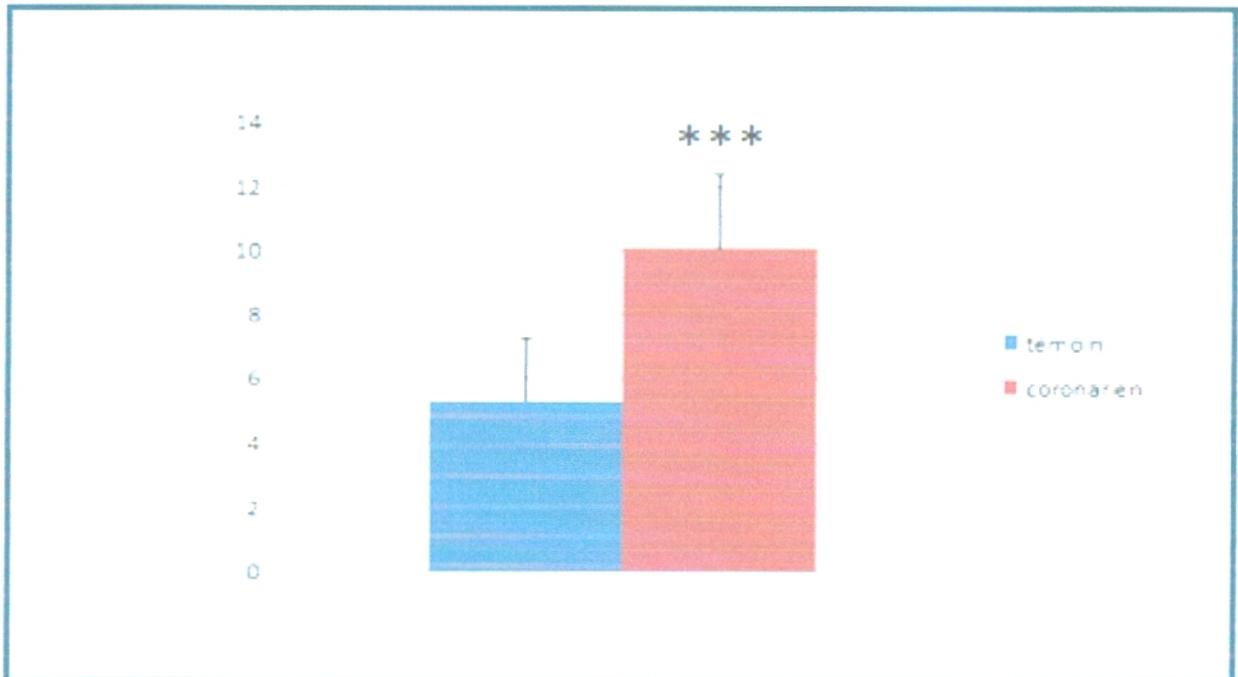


Figure17 : teneur du peroxy-nitrite chez les coronariens et les témoins

Différence significative * $p < 0,1$

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

Différence hautement significative *** $p < 0,001$

Chaque moyenne représente la moyenne \pm l'erreur standard.

La comparaison des témoins est effectuée par le test « t » de student

Chapitre 4 : Discussion

Les maladies cardiovasculaires constituent un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins (**BOUNHOURE ET AL., 2007**)

Elle résulte des complications de l'athérosclérose, maladie chronique multifactorielle elle commence par la rétention de lipoprotéines oxydées dans la paroi artérielle et accompagnée d'un état inflammatoire, d'un stress oxydant et d'un dysfonctionnement de l'endothélium vasculaire (**NAKBI ET AL., 2011**)

Les principales manifestations cliniques de l'athérosclérose sont l'infarctus du myocarde et les attaques cardiaques d'origine ischémique (**QUILICI ET AL., 1999**)

La coronaropathie est une maladie dont l'incidence est très élevée dans le Maghreb (**AOUBA ET AL., 2008**). Les facteurs de risque de cette pathologie sont multiples les connus sont l'hypercholestérolémie, le tabac, HTA, le diabète et d'autres facteurs génétiques ou environnemental et aussi l'alimentation. (**GINON ET FOUET, 2000**) ;

Le stress oxydant est responsable de lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi de lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des produits libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides. Ces produits se lient à l'ADN, formant des adduits responsables de mutagenèse et carcinogénèse. Ils peuvent aussi se lier avec des protéines devenant responsables de la formation d'auto-anticorps caractéristiques du vieillissement. D'autre part, le potentiel redox des cellules servant à contrôler l'expression d'un grand nombre de gènes par l'intermédiaire de facteurs de transcription, on assiste, lors de ces modifications anormales, à la surexpression ou à l'inhibition d'un nombre important de fonctions biochimiques. Ces anomalies de fonctionnement des gènes sont responsables, selon la dose de radicaux, d'une fibrose, d'une inhibition de la prolifération cellulaire, d'une apoptose ou d'une nécrose. Certaines cellules, comme les lymphocytes, les cellules bêta de Langerhans ou certains neurones, sont particulièrement sensibles au stress oxydant.

Le stress oxydant est donc la cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré. Il est un des facteurs de la