

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Ibn Khaldoun de Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Thèse

Pour l'obtention du diplôme de doctorat de troisième cycle (LMD)

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Option : Biotechnologie Alimentaire

Thème

**Conception et réalisation d'un biocapteur pour l'évaluation
de la variation du stress oxydant appliqué à un modèle
expérimental du syndrome métabolique**

Présentée par : Mme BENABDALLAH Halima

Soutenue le : 14 Février 2026

Devant le Jury composé de :

Président	Pr. HAMMOUDI Abdelhamid	Université de Tiaret
Directrice de thèse	Pr. BENARABA Rachida	Université de Tiaret
Codirecteur de thèse	Pr. BELARBI Mostefa	Université de Tiaret
Examineurs	Pr. SASSI Mohamed	Université d'Oran 1
	Dr. CHAHBAR Mohamed	Université de Tissemsilt
	Dr. BENGUIAR Rachida	Université de Tiaret

Année Universitaire : 2025-2026

Remerciements

Tout d'abord, Nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme le présent travail.

Au terme de ce travail de recherche, je suis convaincu que la thèse est loin d'être un travail solitaire. En effet, l'aboutissement de ce travail n'aurait été possible sans l'intervention, le soutien et la générosité de certaines personnes. Qu'elles trouvent ici l'expression de mes plus sincères remerciements.

En premier lieu, j'exprime ma reconnaissance et ma gratitude à ma directrice de thèse : Madame Benaraba Rachida, professeur à l'université de Tiaret. Madame, je tiens à vous remercier pour la confiance que vous m'avez accordée en acceptant de diriger cette thèse, pour les conseils que vous m'avez prodigués et le temps que vous m'avez consacré tout au long de ces années de recherche. J'espère que vous trouverez ici l'expression de mon respect pour vos qualités humaines et scientifiques. Je vous en saurais infiniment gré.

Je tiens à présenter ma profonde gratitude à monsieur Belarbi Mostefa professeur à l'université de Tiaret, d'avoir Co-encadré ce travail de thèse. C'est également grâce à votre collaboration et votre disponibilité. Votre compétence, votre rigueur scientifique et votre clairvoyance, qui m'ont permis d'évoluer dans ma vision de la recherche. Merci pour le soutien que vous m'avez apporté pendant ces années.

J'adresse mes sincères remerciements à monsieur Hmida Houari, professeur à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Tiaret, merci de votre disponibilité et de vos encouragements. Votre esprit d'analyse m'a permis d'acquérir des compétences dans plusieurs domaines. Je tiens également à vous remercier pour votre écoute et tous les conseils que vous m'avez donnés malgré vos nombreuses charges.

J'adresse mes vifs remerciements à monsieur Hammoudi Abdelhamid, professeur à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Tiaret, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de thèse.

J'adresse également mes plus sincères remerciements à monsieur Sassi Mohamed, professeur à l'université d'Oran 1, monsieur CHAHBAR Mohammed, MCA à l'université de Tissemsilt, et madame Benguiar Rachida, MCA à l'université de Tiaret, pour avoir accepté d'être examinateur de ma thèse.

Ces remerciements seraient incomplets si je n'en adressais pas à mon mari, monsieur Abid Abdelmalek, technicien supérieur des laboratoires universitaires au laboratoire Informatique et des Mathématiques (LIM), Université de Tiaret, pour le soutien, l'orientation et la disponibilité.

Je remercie également tous les membres du laboratoire amélioration et valorisation des productions animales locales, université de Tiaret, qui par leur bonne humeur, leur disponibilité et leur aide, m'ont non seulement permis de mener cette thèse à bien mais également de profiter d'une agréable ambiance de travail. Notamment : Mme ABDALLAH Fatiha. Un grand merci à vous.

En guise de remerciement, nous tenons à exprimer notre sincère gratitude envers Mme CHIKHAOUI Mira et Mme SMAIL Fadhéla, docteurs à l'Institut des sciences vétérinaires de l'université Ibn Khaldoun-Tiaret, pour leur aide précieuse à la réalisation de l'expérimentation animale.

J'exprime ma profonde gratitude et mes plus vifs remerciements à monsieur DEBDAB Mansour, l'un des meilleurs professeurs de l'université « Ibn Khaldoun » Tiaret, et à la doctorante Benabdallah Nacira pour leurs soutiens, leur aide et surtout pour leurs disponibilités.

Mes vifs remerciements vont également à Mme Mabrak Houria docteur de l'université « Ibn Khaldoun » Tiaret, pour son aide et surtout pour sa disponibilité.

J'adresse toute ma gratitude et mes respects à monsieur Ghazi Abdelkrim, docteur en informatique, pour son aide et sa disponibilité. Je remercie particulièrement monsieur kadari pour son soutien, son aide pour réaliser la partie réalisation d'un biocapteur.

Remerciements

Evidemment, mes remerciements les plus chaleureux vont à ma source d'inspiration, ma très chère mère, mon très cher père ainsi qu'à mes sœurs, mon frère Abderrahmane, qui ont toujours été là pour me soutenir et m'encourager.

Merci à mes chères amies qui m'ont soutenue tout au long de mon chemin : Noura, Fatiha.

Enfin, je remercie toutes les personnes (nombreuses) que je n'ai pas citées et qui, à un moment ou un autre, m'ont donné l'envie et la force de continuer.

Halima Benabdallah

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents

Sources de mes joies, secrets de ma force

Vous serez toujours le modèle papa, dans ta détermination, ta force et ton honnêteté.

Maman, dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour nous merci pour tous vos sacrifices pour que vos enfants grandissent et prospèrent.

À mes chères sœurs et mes chers frères.

À mes chers enfants Adem et Younes.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon mari Abid Abdelmalek, dont le soutien indéfectible a accompagné chaque étape de la rédaction de ce manuscrit. Plus qu'un appui précieux, il a été un véritable binôme, partageant mes efforts, mes doutes et mes ambitions avec une générosité et une patience infinie. Sa présence attentive, ses conseils et sa confiance constante ont rendu ce travail possible et lui ont donné une signification encore plus profonde.

Résumé

Des recherches récentes mettent en évidence le rôle crucial du stress oxydatif dans les dysfonctionnements cérébraux, hépatiques et cardiaques. Ce stress à long terme contribue à la pathogenèse des maladies neurodégénératives, des troubles hépatiques ainsi que des affections cardiovasculaires. En conséquence, l'intérêt pour l'utilisation des substances naturelles antioxydantes issues de plantes médicinales telles que *Nigella sativa* L. s'est renforcé, cette approche s'impose comme stratégie préventive prometteuse et ce en raison de la faible toxicité et de la forte biodisponibilité de ces composés par rapport aux produits de synthèse. Cependant cette approche, bien que pertinente, demeure à elle seule insuffisante. Dans ce contexte, l'objectif de cette présente étude est d'associer des stratégies préventives basées sur l'utilisation de plantes médicinales à un diagnostic rapide, réalisé à l'aide des biocapteurs, et ce afin de détecter les altérations et les variations de stress oxydatif induites par un régime alimentaire déséquilibré et une surcharge en fer, ainsi qu'à évaluer la capacité des molécules bioactives issues de NS à restaurer le stress oxydatif chez la souris NMRI. L'étude s'est focalisée essentiellement sur les biomarqueurs du stress oxydant, incluant l'oxydation lipidique, le pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP), les dosages des groupements thiols, l'évaluation de la catalase et le glutathion réduit (GSH). Par ailleurs, l'exploitation de matrice biologique sous forme d'homogénat tissulaire immergé dans un liquide ionique a permis la réalisation des mesures diélectrique, mesures par diffraction des rayons X (DRX) et spectroscopie UV-visible. Ces données ont ensuite été intégrées dans deux modèles biologiques et électrochimiques, utilisés conjointement à un modèle informatique d'apprentissage (réseaux neuronaux artificiels RNA). Pour ce faire, quatre groupes de souris NMRI expérimentales (six souris par groupe) ont été constitués : groupe témoin (ST), témoin + 4 % de poudre de graines de NS (ST+N), régime HG enrichi en FeCl₃ (HG/Fe) et HG/Fe + N. À l'issue de 11 semaines d'expérimentation, les résultats obtenus indiquent que le traitement à base de NS rétablit les dommages oxydatifs induits par le régime HG, on constate une augmentation du pouvoir réducteur plasmatique et tissulaire cardiaque, hépatique et cérébrale. En effet, le groupe HG/Fe présente un pouvoir réducteur significativement plus faible, estimé à **29,72 %** vis-à-vis du groupe ST au niveau plasmatique. Parallèlement on note une réduction de **31,39 %** au niveau cérébral, de **32,16 %** au niveau hépatique et de **32,45 %** au niveau cardiaque. En revanche, l'incorporation de la SN dans le régime HG/Fe améliore de manière significative le pouvoir réducteur, avec des augmentations respectives de **29,48 %**, **41,27 %**, **19,62 %** enregistrées dans le plasma, le cerveau et le foie. L'évaluation des taux des groupements thiols, au niveau plasmatique et tissulaire, indique que le groupe HG/Fe présente des altérations oxydatives protéiques significatives marquées par une réduction des groupements SH en comparaison avec les groupes ST avec ou sans supplémentation en poudre NS. On note ainsi des augmentations respectives de **46,39 %** ; de **55,81 %** au niveau du plasmatique, de **29,27 %** ; **45,16 %** au niveau cérébral, de **36,63 %** ; **23,97 %** au niveau hépatique et de **34,49 %** ; **44,71 %** au niveau cardiaque. L'ajout de la SN au régime HG/Fe améliore significativement le taux de groupement thiols, avec des augmentations respectives de **30,47 %** ; **40,89 %** ; **27,48 %** ; et **55,26 %** mesurées dans le plasma, le cerveau, le foie et le cœur. Parallèlement, l'évaluation de GSH au niveau cérébral indique des résultats concordants, caractérisés par une réduction de **16,62 %** et **28,40 %** comparé au groupe ST supplémenté ou non en poudre de NS et de **24,99 %** versus le groupe HG/Fe+N. Une tendance similaire est observée pour l'enzyme antioxydante la catalase au niveau cérébral et érythrocytaire. Le groupe HG/Fe présente une diminution hautement significative de l'activité catalase, avec des réductions de **66,50 %** ; **53,47 %** au niveau des érythrocytes et de **3,88 %** ; **8,44 %** au niveau du cerveau, et ce en comparaison avec les groupes ST et ST+N respectivement. Le régime HG/Fe utilisé dans cette étude génère une oxydation lipidique, estimée par le dosage de MDA. On note une hausse de **(30,21 % ; 52,90 %)** au niveau plasmatique, **(46,13 % ; 32,85 %)** au niveau cérébral, **(46,31 % ; 22,65 %)** au niveau hépatique et **(65,08 % ; 35,55 %)** au niveau cardiaque comparée aux groupes ST et ST+N respectivement. L'incorporation de la NS dans le régime HG/Fe réduit d'une manière très significative le taux de MDA. En effet, une réduction de **66,95 %** ; **39,15 %** ; **32,74 %** ; **56,64 %** au niveau du plasma, du cerveau, du foie et du cœur, respectivement, est constatée dans le groupe HF/Fe+N par rapport au groupe HF/Fe. Dans cette étude, les mesures DRX et UV offrent une vision complémentaire des propriétés moléculaires et structurales de l'homogénat. Afin de tester la fiabilité de ces tests électrochimiques et biologiques, nous avons introduit l'intelligence artificielle (RNA). La configuration finale a démontré une capacité robuste à prédire les mesures DRX et biologiques avec une marge d'erreur d'environ 7 degrés.

Mots-clés : Stress oxydatif ; *Nigella sativa* L. ; régime hypergras ; FeCl₃ ; biocapteur, syndrome métabolique ; intelligence artificielle ; RNA ; Souris NMRI

Abstract

Recent research highlights the crucial role of oxidative stress in cerebral, hepatic, and cardiac dysfunctions. Long-term oxidative stress contributes to the pathogenesis of neurodegenerative diseases, liver disorders, and cardiovascular conditions. Consequently, interest in the use of natural antioxidant compounds derived from medicinal plants such as *Nigella sativa* L. has increased. This approach has emerged as a promising preventive strategy, mainly due to the low toxicity and high bioavailability of these compounds compared to synthetic products. However, although relevant, this strategy alone remains insufficient. In this context, the objective of the present study is to combine preventive strategies based on medicinal plants with early diagnosis using biosensors, in order to detect alterations and variations in oxidative stress induced by an unbalanced diet and iron overload, and to evaluate the ability of the bioactive molecules from NS to restore oxidative stress in NMRI mice. The study focused primarily on oxidative stress biomarkers, including lipid peroxidation, ferric-reducing antioxidant power (FRAP), thiol group levels, catalase activity, and reduced glutathione (GSH) levels. Furthermore, the use of a biological matrix in the form of tissue homogenate dispersed in an ionic liquid enabled measurements by X-ray diffraction (XRD) and UV specterocopy. These data were then integrated into two biological and electrochemical models, used in combination with a computational learning model (Artificial Neural Networks, ANN). Four groups of experimental NMRI mice (six mice per group) were established: control group (ST), control + 4% NS seed powder (ST+N), high-fat diet enriched with FeCl₃ (HG/Fe), and HG/Fe + N. After 11 weeks of experimentation, the results indicate that NS treatment restores the oxidative damage induced by the HG diet. An increase in plasma and tissue reducing power in the heart, liver, and brain was observed. Indeed, the **HG/Fe** group shows a significantly lower reducing power, estimated at **29.72%** compared to the **ST** group at both the plasma and tissue levels. A decrease of 31.39% is observed in the brain, **32.16 %** in the liver, and **32.45%** in the heart. The addition of NS to the HG/Fe diet significantly improves thiol group levels, with respective increases of **30.47%**, **40.89%**, **27.48%**, and **55.26%** measured in the plasma, brain, liver, and heart. In parallel, the assessment of GSH at the brain level indicates consistent results, characterized by reductions of **16.62%** and **28.40%** compared to the ST group supplemented or not with NS powder, and by **24.99%** versus the HG/Fe+N group. A similar trend is observed for the antioxidant enzyme catalase at both the brain and erythrocyte levels. The **HG/Fe** group shows a highly significant decrease in catalase activity, with reductions of **66.50%** and **53.47%** at the erythrocyte level, and **3.88%** and **8.44%** at the brain level, compared to the **ST** and **ST+N** groups respectively. The **HG/Fe** diet used in this study induces lipid oxidation, as estimated by MDA levels. An increase of (**30.21%**; **52.90%**) was observed at the plasma level, (**46.13%**; **32.85%**) at the brain level, (**46.31%**; **22.65%**) at the hepatic level, and (**65.08%**; **35.55%**) at the cardiac level, compared to the **ST** and **ST+N** groups respectively. The incorporation of NS into the HG/Fe diet significantly reduces MDA levels. Indeed, reductions of **66.95%**, **39.15%**, **32.74%**, and **56.64%** in the plasma, brain, liver, and heart, respectively, were observed in the **HF/Fe+N** group compared to the **HF/Fe** group.

In this study, the XRD and UV measurements provide complementary insights into the molecular and structural properties of the homogenate. To assess the reliability of these electrochemical and biological tests, artificial intelligence (ANN) was introduced. The final configuration demonstrated a robust capacity to predict XRD and biological measurements with an error margin of approximately **7 degrees**.

Keywords: Oxidative stress; *Nigella sativa* L.; High- Fat diet; FeCl₃; biosensor; metabolic syndrome; artificial intelligence; ANN; NMRI mice

تُبرز الأبحاث الحديثة الدور المهم للإجهاد التأكسدي في الاضطرابات الدماغية والكبدية والقلبية. ويسهم هذا الإجهاد التأكسدي طويل الأمد في حدوث الأمراض التنكسية العصبية واضطرابات الكبد وكذلك الأمراض القلبية الوعائية. ونتيجة لذلك، ازداد الاهتمام باستخدام المركبات الطبيعية المضادة للأكسدة المستخلصة من النباتات الطبية مثل حبة البركة (*Nigella sativa* L.)، إذ تُعد هذه المقاربة استراتيجية وقائية واعدة نظرًا لانخفاض سُمية هذه المركبات وارتفاع توافرها الحيوي مقارنة بالمنتجات الاصطناعية. ومع ذلك، فإن هذه المقاربة، رغم أهميتها، تبقى غير كافية. في هذا السياق، تهدف الدراسة الحالية إلى ربط الاستراتيجيات الوقائية المعتمدة على النباتات الطبية بالتشخيص المبكر باستخدام المستشعرات الحيوية، وذلك للكشف عن التغيرات والاضطرابات في الإجهاد التأكسدي الناتج عن نظام غذائي غير متوازن وزيادة الحمل الحديدي، بالإضافة إلى تقييم قدرة الجزيئات الحيوية النشطة المستخلصة من حبة البركة على استعادة التوازن التأكسدي لدى فئران (NMRI) وقد ركزت الدراسة أساساً على المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي، بما في ذلك أكسدة الدهون، والقدرة المضادة للأكسدة المختزلة للحديد (FRAP)، وقياس مجموعات الثيول، ونشاط إنزيم الكاتالاز، ومستويات الجلوتاثيون المُختزل (GSH) كما أتاح استخدام مصفوفة بيولوجية على شكل مجانس نسيجي مغمور في سائل أيوني إجراء القياسات باستخدام حيود الأشعة السينية (XRD) والتحليل الطيفي بالأشعة فوق البنفسجية (UV). ثم جرى دمج هذه البيانات داخل نموذجين بيولوجي وكهروكيميائي، مستخدمين بالتوازي مع نموذج حاسوبي للتعلّم الشبكات العصبية الاصطناعية (ANN). ولأجل ذلك، تم تشكيل أربع مجموعات من فئران (NMRI) التجريبية (ست فئران في كل مجموعة): مجموعة الشاهد (ST)، الشاهد + 4% من مسحوق بذور حبة البركة (ST+N)، نظام غذائي عالي الدهون مُدعم بالحديد (HG/Fe)، ومجموعة HG/Fe + N. وبعد 11 أسبوعاً من التجارب، تشير النتائج إلى أن العلاج المستند إلى حبة البركة يعدل الإصابات التأكسدية الناتجة عن النظام الغذائي عالي الدهون. وقد لوحظ ارتفاع في القدرة المختزلة في البلازما والأنسجة القلبية والكبدية والدماغية. في الواقع، تظهر المجموعة HG/Fe قدرة اختزالية أقل بكثير، تقدر بنسبة 29,72% مقارنة بالمجموعة ST على مستوى البلازما. في الوقت نفسه، لوحظ انخفاض بنسبة 31,39% على مستوى الدماغ، 32,16% على مستوى الكبد، و32,45% على مستوى القلب. في المقابل، أدى إدراج SN في نظام HG/Fe إلى تحسن كبير في القدرة على الاختزال، مع زيادة بنسبة 29,48% و41,27% و19,62% على التوالي في البلازما والدماغ والكبد. تشير تقييمات مستويات مجموعات الثيول في البلازما والأنسجة إلى أن المجموعة HG/Fe تعاني من تغيرات تأكسدية كبيرة في البروتينات تتمثل في انخفاض مجموعات SH مقارنة بالمجموعات ST مع أو بدون مكملات مسحوق NS. وبالتالي، لوحظت زيادات بنسبة 46,39% و55,81% على مستوى البلازما، و29,27% و45,16% على مستوى الدماغ، و36,63% و23,97% على مستوى الكبد، و34,49% و44,71% في القلب. أدى إضافة SN إلى النظام الغذائي HG/Fe إلى تحسن ملحوظ في معدل تجمع الثيول، مع زيادة بنسبة 30,47%؛ 40,89%؛ 27,48%؛ و55,26% على التوالي في البلازما والدماغ والكبد والقلب.

في الوقت نفسه، أظهر تقييم GSH في الدماغ نتائج متطابقة، تميزت بانخفاض بنسبة 16,62% و28,40% مقارنة بالمجموعة ST التي تناولت مكملات مسحوق NS أو لم تتناولها، وبنسبة 24,99% مقارنة بالمجموعة HG/Fe+N. وقد لوحظت اتجاهات مماثلة بالنسبة للإنزيم المضاد للأكسدة الكاتالاز على مستوى الدماغ والكريات الحمراء. وتظهر المجموعة HG/Fe انخفاضاً كبيراً في نشاط الكاتالاز، بنسبة 66,50%؛ 53,47% في مستوى كريات الدم الحمراء و3,88%؛ 8,44% في مستوى الدماغ، وذلك بالمقارنة مع المجموعتين ST و ST+N على التوالي. النظام الغذائي HG/Fe المستخدم في هذه الدراسة يولد أكسدة دهنية، مقدرة بواسطة قياس MDA. لوحظ ارتفاع بنسبة (30,21%؛ 52,90%) في البلازما، (46,13%؛ 32,85%) في الدماغ، (46,31%؛ 22,65%) في الكبد و (65,08%؛ 35,55%) في القلب مقارنة بالمجموعتين ST و ST+N على التوالي. أدى إدراج NS في نظام HG/Fe إلى انخفاض كبير في معدل MDA. في الواقع، لوحظ انخفاض بنسبة 66,95%؛ 39,15%؛ 32,74%؛ 56,64% في البلازما والدماغ والكبد والقلب على التوالي في المجموعة HF/Fe+N مقارنة بالمجموعة HF/Fe. في هذه الدراسة، توفر قياسات DRX و UV رؤية تكملية للخصائص الجزيئية والهيكلية للمخفوق. من أجل اختبار موثوقية هذه الاختبارات الكهروكيميائية والبيولوجية، قمنا بإدخال الذكاء الاصطناعي (RNA). أظهرت التكوين النهائي قدرة قوية على التنبؤ بقياسات DRX والبيولوجية بهامش خطأ يبلغ حوالي 7 درجات.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد التأكسدي؛ *Nigella sativa* L.؛ النظام الغذائي عالي الدهون، $FeCl_3$ ، المستشعر الحيوي، متلازمة الأيض؛ الذكاء الاصطناعي؛ RNA؛ فأر NMRI

Liste des abréviations

4-HNE :	4-hydroxynonéal
8-OHdG :	la 8-OH désoxyguanosine
Ac :	anticorps
AchE :	Acétylcholinestérase
ADN :	Acide désoxyribonucléique
Ag :	Antigène
AG :	Acides Gras
AGE:	Produits de glycation avancée
ALAT :	Alanine aminotransférase
AMPK :	Protéine kinase activée par l'adénosine monophosphate
ASAT :	Aspartate aminotransférase
ATP :	Adénosine triphosphate
BH4 :	Tétrahydrobioptérine
BHE :	Barrière hémato-encéphalique
BHT :	2, 6-di-tert-butyl-4-méthylphénol
CO₂ :	Dioxyde de carbone
CRP :	Protéine C-reactive
DAG :	Deacyl glycérols
DL (Deep Learning) : Apprentissage profond	
DT2 :	Diabète de type 2
DTNB:	5-5' dithionitrobenzoicacid
eNOS :	Synthase d'oxyde nitrique endotheliale
EOA :	Espèces oxygénés activées
ERN :	Espèces Réactive de l'azote
ERS :	Espèces réactives du soufre
ERO :	Espaces réactives de l'oxygène
F6P :	Fructose-6-phosphate
Fe²⁺ :	Fer ferreux

Fe³⁺ :	Fer ferrique
FRAP:	Ferric Reducing Ability Plasma
GSH:	Glutathion Reduit
GSSG :	Disulfure de glutathion
GSSG:	Disulfure de glutathion
GST :	Glutathione-S-transferase
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène
HDL :	Lipoprotéines de haute densité
HG :	Régime Hypergras
IA :	Intelligence artificielle
IL- 1β :	Interleukine - 1 β
IL- 6 :	Interleukine - 6
L· :	Radical lipidique L
LDL:	Lipoprotéine de basse densité
LI :	Liquides ioniques
LOOH :	Hydro peroxyde lipidique
LPO :	Lipoxygénase
LPS :	Lipopolysaccharide
MAO :	Monoamine oxydase
MCV:	Maladies cardiovasculaires
MDA:	Malondialdéhyde
ML(Machine Learning) :	Apprentissage automatique
NASH :	stéatohépatite non alcoolique
NF-k β :	Facteur nucléaire k β
NS :	Nigella Sativa L
O₂^{-·} :	Anion superoxyde
OH • :	Radical hydroxyle
OH· :	Radicale hydroxyle
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé

ON:	Oxide de nitrite
ONAB :	Office National des Aliments du Bétail
ONOO⁻:	Peroxynitrite
OX-LDL :	LDL oxydés
PARP:	Peroxisome proliferator activated receptor
PKC :	Proteine kinase C
PPAR-γ:	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
RE :	Réticulum endoplasmique
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
SH :	Groupements Thiols
SIRT-1 :	Sirtuine
SOD:	Superoxide dismutase
TBA:	Acide thiobarbiturique
TBARS:	Thiobarbituric Acid Reactive Substances
TCA:	Acide Trichloroacétique
TEP:	1, 1, 3,3 tétraéthoxypropane
Tf :	Transferrine
TG:	Triglycerides
TGF-α ; TGF-β :	Facteurs de transcription
TPTZ:	Tripyridyl-s- Triazyme
UV :	Radiation ultraviolette

Table des matières

REMERCIEMENTS	2
DEDICACE	4
RESUME	5
ABSTRACT	6
ملخص	7
LISTE DES ABREVIATIONS	8
TABLE DES MATIERES	11
LISTE DES FIGURES	18
LISTE DES TABLEAUX	21
INTRODUCTION	1
PARTIE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	6
CHAPITRE I. DESEQUILIBRE REDOX ET STRESS OXYDANT, FACTEURS CLES DES PATHOLOGIES HUMAINES	6
I.1 Rappel sur les radicaux libres	6
I.2 Origine des espèces réactives d'oxygène	7
I.2.1 ERO d'origine mitochondriale	7
I.2.2 Autres sources d'ERO	9
I.3 Stress oxydatif, mode de vie et facteur environnementaux	10
I.3.1 Régime alimentaire hypercalorique, régime Hyper-gras (HG)	10
I.3.2 Surcharge martiale, un facteur clés dans la genèse de stress oxydatif	12
I.3.3 Facteurs environnementaux	13
I.4 Stress oxydant et ses cibles biologiques	14
I.4.1 Effets sur les lipides	15
I.4.2 Effets sur les protéines	15
I.4.3 Dommages à l'ADN	16

I.5	Implication de stress oxydatifs dans les pathologies humaines	16
I.5.1	Stress oxydatif et syndrome métabolique	16
I.5.1.1	Stress oxydatif, Diabète et insulino-résistance	19
I.5.1.1.1	Stress oxydatif et Diabète.....	19
I.5.1.1.2	Stress oxydatif et insulino-résistance	22
I.5.1.2	Stress oxydatif et maladie cardiovasculaire	23
I.5.1.3	Stress oxydatif, inflammation	26
I.5.1.4	Stress oxydatif, syndrome métabolique et altérations cérébrales.....	27
I.5.1.4.1	Stress oxydatif, et altérations cérébrales	27
I.5.1.4.2	Implication de syndrome métabolique dans les altérations cérébrales	29
CHAPITRE II. APPROCHES THERAPEUTIQUES, STRATEGIES PREVENTIVES ET DIAGNOSTIC RAPIDE.....		31
II.1	Anti-oxydants	31
II.1.1	Systèmes antioxydants enzymatiques :	31
II.1.1.1	La superoxyde dismutase (SOD).....	31
II.1.1.2	Glutathion peroxydase (GPx) et Reductase (GR)	31
II.1.1.3	Glutathione-S-transferase GST	32
II.1.1.4	La Catalase	32
II.1.2	Systèmes antioxydants non enzymatiques	33
II.1.2.1	Le glutathion (GSH).....	33
II.1.2.2	La N-acétylcystéine (NAC).....	33
II.1.2.3	Les Vitamines	34
II.1.2.4	Les polyphénols and flavonoïdes	35
II.1.2.5	Les probiotique, des antioxydants très puissant	37
II.1.2.6	Les plantes médicinales, stratégie préventive nutritionnelle	37
II.1.2.7	La nigelle (<i>Nigella Sativa</i> L.) Plante médicinale a effet miraculeux	38
II.1.2.7.1	Généralité	38

II.1.2.7.2	Description botanique	39
II.1.2.7.3	Systématique botanique	39
II.1.2.7.4	Compositions chimiques	39
II.1.2.7.5	Propriétés pharmacologiques	42
II.1.2.7.6	Toxicité de <i>Nigella Sativa</i> L.....	45
II.2	Biocapteur pour l'analyse biomédicale	46
II.2.1	Introduction.....	46
II.2.2	Définition	47
II.2.3	Structure du biocapteur	48
II.2.4	Classification des biocapteurs.....	49
II.2.4.1	Récepteur : élément de reconnaissance biologique.....	50
II.2.4.2	Type de biorécepteur	50
II.2.4.2.1	Élément de reconnaissance biocatalytique.....	50
II.2.4.2.2	Élément de reconnaissance de biocomplexage ou de bioaffinité	51
II.2.4.3	Transduction du signal	52
II.2.4.3.1	Modes de transduction :	53
II.2.4.3.2	Biocapteurs électrochimiques	53
II.2.4.3.2.1	Principe des biocapteurs électrochimiques.....	54
II.2.5	Techniques d'immobilisation dans les biocapteurs	56
II.2.6	Applications des biocapteurs	57
II.2.6.1	Application des biocapteurs dans le domaine biomédical	57
II.2.6.2	Biocapteur et stress oxydatif ; vers une méthode exploratrice aux avantages prometteuses.....	58
II.2.6.2.1	Stress oxydatif et méthode d'exploration.....	58
II.2.6.2.2	Application des Biocapteurs dans le stress oxydatif.....	58
II.2.7	L'intelligence artificielle et biocapteur	60
II.2.7.1	Définition de l'intelligence artificielle.....	61
II.2.7.2	Les moteurs et les technologies de l'intelligence artificielle	61

II.2.7.2.1 Machine Learning ML (L'apprentissage automatique)	61
II.2.7.3.1.1 Les réseaux neuronaux artificiels (RNA) 63	
II.2.7.3.1.2 La composition de RNA	64
II.2.7.3.1.3 Utilisation des ANN pour l'exploration de données et l'évaluation des biocapteurs.....	64
II.2.7.3.1.4 Défis et opportunités.....	64
PARTIE II. PARTIE EXPERIMENTALE.....	68
CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES.....	68
I.1 Matrices végétales	68
I.2 Identification des composées bioactives de poudre de NS par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR)	68
I.3 Matériel biologique	68
I.3.1 Modèle expérimental animal.....	68
I.4 Effet de la poudre de <i>Nigella Sativa</i> L. sur le stress oxydatif induit par un régime hypergras enrichi en FeCl ₃	68
I.4.1 Régime alimentaire administré aux souris.....	68
I.4.2 Concentration de FeCl ₃ utilisée	69
I.4.3 Concentration de poudre de la <i>Nigella Sativa</i> L utilisée.....	70
I.5 Suivre et traitement des animaux	70
I.5.1 Identification des différents lots expérimentaux.....	70
I.6 Prélèvement et préparation du matériel biologique	73
I.6.1 Prélèvement sanguin	73
I.6.2 Prélèvement d'organe	73
I.6.3 Prélèvement du foie pour l'étude histologique	73
I.7 Préparation d'homogénat d'organe pour la détermination des paramètres oxydatifs.....	73
I.8 Etude des paramètres biochimiques	73

I.8.1	Détermination des teneurs en Triglycérides.....	74
I.8.2	Détermination des teneurs en glucose.....	75
I.8.3	Détermination des teneurs en cholestérol total	76
I.8.4	Détermination des teneurs en HDL et LDL	77
I.8.5	Détermination de l'activité des transaminases plasmatiques.....	78
I.8.6	Détermination des teneurs en urée	79
I.8.7	Détermination des teneurs en créatinine	80
I.8.8	Détermination des teneurs en acide urique	81
I.8.9	Détermination des teneurs en protéines totales plasmatiques.....	81
I.9	Etude des paramètres oxydatifs.....	82
I.9.1	Détermination du pouvoir antioxydant total par la technique FRAP	82
I.9.2	Détermination des teneurs en vitamine C	83
I.9.3	Détermination des teneurs des groupements Thiols (protéines oxydées)..	84
I.9.4	Détermination des teneurs en glutathion réduit	85
I.9.5	Détermination des teneurs en lipides oxydés via le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique	85
I.9.6	Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase	86
I.10	Etude histologique du foie	87
I.11	Modèle Informatique d'apprentissage pour évaluer l'effet modulateur de NS sur le stress oxydatif.....	88
I.11.1	Protocole expérimental	88
I.11.1.1	Synthèse de liquides ioniques : Synthèse de Chlorure de 1-(2-hydroxyéthyl)-3-méthylimidazolium [EtOHMIM+] [Cl-]	88
I.11.1.2	Syntheses de nanoparticule du foie.....	90
I.11.1.3	Mesure diélectrique	90
I.11.1.4	Mesure DRX (diffraction des rayons X).....	91
I.11.1.5	Mesure UV-Visible	91

I.11.1.6	Traitement informatique des données expérimentales.....	92
I.11.1.6.1	Collecte et préparation des données.....	92
I.11.1.6.2	Configuration réseau et formation	92
I.12	Analyse statistique	93
CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSIONS		95
II.1	Composés bioactifs et antioxydants dans NS.....	95
II.2	Effet préventif de NS vis-à-vis du stress oxydatif et de ses complications.....	96
II.2.1	Impact de régime de HG /Fe et de NS sur l'évolution de la masse corporelle	96
II.2.2	Impact de régime HG/Fe associé ou non au NS sur le poids des organes après 11 semaines d'expérimentation	97
II.2.3	Impact de régime HG enrichi en fer associé ou non au NS sur les paramètres biochimiques plasmatiques.....	99
II.2.3.1	Effet sur les teneurs plasmatiques en glucose	99
II.2.3.2	Effet sur le profil lipidique plasmatique : triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL.....	99
II.2.3.3	Effet sur les lésions hépatiques évalués par les taux des transaminases (ASAT et ALAT).....	101
II.2.4	Impact de régime HG enrichi en fer associé ou non au NS sur les paramètres de stress oxydatif	102
II.2.4.1	Evaluation du pouvoir réducteur total au niveau plasmatique et tissulaire	102
II.2.4.2	Effet sur la teneur en vitamine C tissulaire	103
II.2.4.3	Evaluation de l'oxydation des protéines (les groupements thiols) au niveau plasmatique et tissulaire	104
II.2.4.4	Effet sur l'oxydation lipidique au niveau plasmatique et tissulaire	107
II.2.4.5	Effet sur la catalase érythrocytaire et cérébrale	108
II.2.5	Effet contre la stéatose hépatique	109

II.3	Présentation des résultats de Modèle d'apprentissage pour évaluer l'effet modulateur de NS sur le stress oxydatif.....	110
II.3.1	Résultat des mesures diélectriques, mesure DRX et UV-visible	111
II.3.2	Prédiction des mesures DRX et biologiques à l'aide de l'IA.....	114
II.3.2.1	Évaluation des performances	114
II.4	Discussion	117
II.4.1	Effet du régime HG/Fe sur l'induction de troubles métaboliques associés au stress oxydatif.....	117
II.4.2	Effet des régimes expérimentaux sur les paramètres biochimiques plasmatiques	118
II.4.2.1	Impact sur le profil lipidique plasmatique.....	118
II.4.2.2	Impact sur les teneurs plasmatiques en glucose	118
II.4.2.3	Impact des régimes expérimentaux sur le foie troubles hépatiques, la stéatose et transaminases.....	119
II.4.3	Impact des régimes expérimentaux sur les paramètres oxydatifs aux niveaux plasmatique et tissulaire chez les différents lots de souris NMRI	121
II.4.4	Utilisation d'approches d'apprentissage automatique appliquées à l'analyse de données électrochimiques et biologiques en vue de la conception d'un biocapteur	126
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....		130
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		135
ANNEXES		150

Liste des figures

Figure 1: Les principaux radicaux libre produits par le métabolisme cellulaires.....	7
Figure 2: Production d'ERO dans les mitochondries au cours de la phosphorylation oxydative et mécanismes antioxydants	8
Figure 3: ERO et stress oxydatif.....	9
Figure 4 : Associations entre le régime alimentaire et le stress oxydatif	11
Figure 5: Associations entre le régime alimentaire hypercalorique, la surcharge martiale et le stress oxydatif.....	13
Figure 6 : Présentation schématique des sources de radicaux libres et de leurs effets sur le corps humain	14
Figure 7 : Présentation schématique du syndrome métabolique (Islam et al., 2024).....	18
Figure 8: Voies métabolisme du glucose et produits qui interviennent dans le stress oxydatif	21
Figure 9: Voie normale de signalisation de l'insuline et effet inhibiteur des ERO sur la signalisation de l'insuline.	23
Figure 10 : Modification des LDL dans la paroi artérielle menant à la plaque d'athérosclérose	24
Figure 11: Mécanismes proposés pour l'hypertension induite par le stress oxydatif	26
Figure 12: Schéma récapitulative de rôle du stress oxydatif dans les maladies neurodégénératives	28
Figure 13: L'action concertée des enzymes antioxydantes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase est essentielle	33
Figure 14: Vue d'ensemble de l'action antioxydante de la NAC	34
Figure 15: structure chimique des flavonoïdes	36
Figure 16: Classification botanique de <i>Nigella Sativa</i> L selon Bentham et Hooker	39
Figure 17: les structures chimiques des principales sous-classes de composés phénoliques identifiées dans NS.....	41

Figure 18: Effets antioxydants de <i>Nigella sativa</i> et de la thymoquinone sur différents systèmes corporels	46
Figure 19: Structure du biocapteur	49
Figure 20: Types de biorécepteurs	50
Figure 21: Structures et nomenclatures typiques des cations et anions utilisés pour les liquides ioniques	55
Figure 22: Techniques d'immobilisation des enzymes	57
Figure 23 : Représentation schématique du principe de fonctionnement de l'appareil électrochimique	59
Figure 24 : Comparaison des méthodes conventionnelles et des nouvelles méthodes pour la détection de divers marqueurs du stress oxydatif	60
Figure 25: Progrès dans le diagnostic électrochimique grâce à l'intégration de l'intelligence artificielle	63
Figure 26 : Protocole du suivi des souris NMRI durant l'étude expérimentale	72
Figure 27: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH)	82
Figure 28: Mécanisme réactionnel entre le DTNB et un groupement thiol (SH).	84
Figure 29: Figure : Formation du complexe malondialdéhyde/ acide thiobarbiturique de couleur.....	86
Figure 30: réaction de quaternisation	89
Figure 31: réaction de métathèse anionique (échange d'anion)	89
Figure 32: Interaction du liquide ionique avec l'acide gras présent dans la solution.....	89
Figure 33: équation de réaction l'acide de Lewis $FeCl_3$ avec l'ion chlorure	90
Figure 34: Spectres FT-IR de la poudre de NS	95
Figure 35: Evolution de la masse corporelle des souris durant les 11semaines de traitement.....	97
Figure 36: Teneur plasmatique en glucose (g/l) chez les différents groupes de souris après 11semaines	99

Figure 37: Profils lipidiques plasmatiques en cholestérol total, triglycéride, HDL et LDL (g/L) chez les différents groupes de souris après 11 semaines.....	100
Figure 38: Le pouvoir réducteur A : plasmatique ($\mu\text{mol/L}$), B :cérébrale :hépatique et D :cardiaque(($\mu\text{mol/g}$ de tissu), chez les différents groupes de souris après 11 semaines.	102
Figure 39 : :la concentration des groupements thiols plasmatique ($\mu\text{mol/L}$), tissulaire et GSH réduit cérébral ($\mu\text{mol/g}$ de tissu) chez les différents groupes de souris après 11semaines	106
Figure 40: Observation microscopique (X40) des coupes histologiques de foie de souris de après 11 semaines de traitements.	110
Figure 41 : Représentation du réseau de nanoparticules	111
Figure 42: Conductivité (partie réelle) (a) et permittivité (partie réelle).....	113
Figure 43 : Spectre DRX affiné de nanoparticule du foie	113
Figure 44 : spectre UV- visible nanoparticule du foie	114
Figure 45 : comparaison entre les prédictions du réseau neuronal artificiel et les données expérimentales réelles de DRX	115
Figure 46: Comparaison entre les prédictions du réseau neuronal artificiel et les données expérimentales Biologique réelles	116
Figure 47: Gamme d'étalonnage de FRAP plasma (a), Foie (b), Cœur (c), (d) cerveau..	150
Figure 48: Gamme d'étalonnage acide ascorbique, Foie (a), Cœur (b).....	151
Figure 49: Gamme d'étalonnage de Thiol plasma (a), Foie (b), Cœur (c) ;(d) cerveau ...	151
Figure 50: Gamme d'étalonnage de dosage des MDA à Plasma Foie	152
Figure 51: Gamme d'étalonnage de dosage dans l'homogénat de cerveau	153
Figure 52: souris du groupe ST,ST+N , HG et HG+N après 11 semaines d'expérimentation	154
Figure 53: Différents régimes expérimentaux	158

Liste des tableaux

Tableau 1: Principales propriétés des antioxydants endogènes	32
Tableau 2: Valeur nutritionnelle de <i>Nigella sativa</i> L	42
Tableau 3: Composition des régimes utilisés durant l'expérimentation selon (Garait, 2006) modifiée.....	69
Tableau 4 : Principaux pics observés dans le spectre FT-IR de la poudre de NS.....	96
Tableau 5 : Poids des différents organes, des souris prélevés (g) après 11 semaines d'expérimentation	98
Tableau 6 : Impact d'un régime HG enrichi en fer associé ou non au NS sur les transaminases hépatiques (ASAT et ALAT) et sur les paramètres biochimiques rénaux après 11 semaines d'expérimentation.....	101
Tableau 7: Effet de NS sur le teneurs tissulaires ($\mu\text{g/g}$ de tissus) en vitamine C des souris nourries par le régime HG supplémenté de FeCl_3 après 11 semaines d'expérimentation	104
Tableau 8 : Oxydation lipidique (MDA) plasmatique ($\mu\text{mol/L}$) et tissulaire ($\mu\text{mol/g}$ de tissu) des souris sous le régime hypergras enrichi en fer, supplémenté de la poudre de NS après les 11 semaines d'expérimentation.....	108
Tableau 9: Effet de NS sur la teneur en CAT au niveau érythrocytaire ($\mu\text{mol/min/ml}$) et cérébrale ($\mu\text{mol/min/g}$ de tissu) chez différents groupes de souris après 11 semaines.	108
Tableau 10: Composition des régimes hypergras	157
Tableau 11: Profile lipidique de la graisse ovine	157

Introduction

Introduction

De nos jours, le mode de vie sédentaire et l'exposition accrue à de nombreux polluants environnementaux et toxines exacerbent le risque de la genèse du stress oxydatif. Ce stress se manifeste par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui sont toxiques en raison de leur capacité à endommager les macromolécules, les lipides, les protéines et l'ADN, ce qui conduit in fine à la mort cellulaire (**Bonnefont-Rousselot, 2014**). Plusieurs études approfondies menées dans le domaine de la pathogenèse confirment la forte implication du stress oxydatif et de ses espèces réactives de l'oxygène dans la genèse d'un large éventail de maladies chroniques telles que le diabète, les maladies cardiovasculaires, le cancer et les maladies neurodégénératives (**Hepel & Andreescu, 2015**). Parmi les causes incriminées dans l'installation du désordre oxydatif figure le régime alimentaire déséquilibré tel que le régime riche en graisses. Ce dernier est en effet considéré comme l'un des principaux facteurs de risque liés à de nombreuses pathologies graves (**Kesh et al., 2016**).

De surcroît, à cette consommation excessive de lipides s'ajoute parfois un apport alimentaire trop élevé en fer, souvent lié à une surconsommation de viande rouge, qui pourrait également accentuer davantage le déséquilibre oxydatif. Le fer, par sa capacité à alterner entre l'état Fe^{3+} et Fe^{2+} , facilite la formation d'ERO par le biais des réactions de Fenton et de Haber-Weiss. Plus précisément, ces réactions impliquent que des ions de fer réagissent avec le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), générant ainsi des radicaux hydroxyles particulièrement très réactifs (**Hininger-Favier et al., 2016 ; Yan et al., 2022**). Ainsi, cet effet potentiellement pro-oxydant des niveaux élevés de fer a été associé à un risque accru de diabète de type 2 et de maladies cardiovasculaires (**Berg & Youdim, 2006 ; Chen et al., 2012**).

Récemment, plusieurs études ont également mis en évidence l'implication du fer et son activité redox dans le développement de diverses maladies neurodégénératives telles qu'Alzheimer (**D'Mello & Kindy, 2020**). Il a été clairement démontré que la surcharge en fer dans le système nerveux central favorise la production excessive des ERO, induisant une peroxydation lipidique, une perte de l'intégrité membranaire, des dommages à l'ADN ainsi qu'un dysfonctionnement mitochondrial.

Ces perturbations contribuent à un processus de mort cellulaire programmée, notamment la ferroptose, responsable de la dégénérescence progressive des cellules neuronales et de la neurodégénérescence (**D'Mello & Kindy, 2020**).

Dans ce contexte, la gestion des désordres métaboliques induits par l'excès de fer associé à un régime alimentaire déséquilibré tel que le régime hypergras pourrait constituer une stratégie thérapeutique potentielle dans la prévention des pathologies associées au déséquilibre oxydatif. Parmi les stratégies émergentes, l'intégration croissante dans la nutrition quotidienne de produits naturels dotés de propriétés antioxydantes et capables de piéger les radicaux libres suscite un vif intérêt. Notamment, l'utilisation des nutraceutiques issus de sources botaniques (Alu'datt et al., 2024).

En effet, de nombreuses études se sont intéressées à *Nigella sativa* L. (NS) comme source naturelle d'agents adaptogènes. Cette plante est reconnue en médecine traditionnelle pour ses vertus préventives essentiellement contre divers troubles physiologiques et neurologiques (Cascella et al., 2018). Plusieurs études cliniques et expérimentales ont souligné les nombreux bienfaits de NS, notamment ses effets bronchodilatateurs, immunomodulateurs, antibactériens, hypotenseurs, antidiabétiques, hépato-protecteurs, gastro-protecteurs, antihistaminiques. Ceci confirme ainsi l'intérêt nutraceutique de cette plante, justifiant son utilisation dans les stratégies préventives nutritionnelles modernes (Desai et al., 2015 ; Tavakkoli & Hosseinzadeh, 2020 ; Jarmakiewicz-Czaja et al., 2023). Les activités biologiques associées à cette plante sont attribuées principalement à sa richesse en composés bioactifs, les polyphénols, particulièrement leurs groupes fonctionnels hydroxyles qui sont des excellents chélateurs de fer et dotés d'une forte capacité de réguler les mécanismes de la réponse au stress oxydatif (Perron & Brumaghim, 2009 ; Gueffai et al., 2022).

Cependant, et bien que l'utilisation des plantes médicinales représente une approche prometteuse pour la prévention des maladies métaboliques associées au stress oxydatif, cette démarche demeure insuffisante à elle seule, ce qui souligne la nécessité de développer des techniques plus sophistiquées permettant un diagnostic précoce ainsi qu'une meilleure prise en charge optimisée de ces complications oxydatives. Dans cette optique, les biocapteurs spécifiquement électrochimiques suscitent un intérêt croissant en raison de leurs multiples applications, surtout dans la détection précoce des maladies. Ces dispositifs offrent ainsi des outils innovants et performants pour garantir la sécurité sanitaire et la protection de la santé de l'homme. À la lumière de ces données, la présente étude s'intéresse à une double démarche complémentaire. Dans un premier temps, elle vise à développer une stratégie nutritionnelle préventive basée sur l'utilisation des plantes médicinales, notamment la NS

contre les désordres métaboliques, essentiellement le déséquilibre de la balance oxydative induit par le régime hypergras associé à une surcharge en fer. Dans un second temps, à l'application de ce modèle sur le biocapteur associé à l'intelligence artificielle (IA) dans le but d'un diagnostic biologique précoce rapide et in situ de la variation du stress oxydatif. Dans cette optique, les objectifs majeurs de cette présente étude consistent à

- Évaluer l'effet préventif de NS comme une stratégie nutritionnelle vis-à-vis des altérations oxydatives et biochimiques au niveau cardiaque, hépatique et cérébral induites par un régime alimentaire hyperlipidique enrichi en fer chez les souris NMRI.
- Étudier une stratégie établie sur la détection et la mesure précoce sensible aux variations de stress oxydatif par le biais des biocapteurs en essayant d'exploiter les matrices biologiques telles que l'homogénat du foie,
- Réaliser des mesures diffraction des rayons X (DRX) et de spectroscopie UV dans le but de développer un modèle théorique des nanoparticules associées à la matrice biologique.
- D'utiliser un modèle de réseau neuronal artificiel (RNA) pour prédire les résultats DRX et biologiques.

Partie I
Revue bibliographique

Chapitre I
Déséquilibre redox et stress
oxydant facteurs clés des
pathologies humaines

Partie I. Revue bibliographique

Chapitre I. Déséquilibre redox et stress oxydant, facteurs clés des pathologies humaines

À l'heure actuelle, le stress oxydant est largement connu comme dénominateur commun de la plupart des maladies non transmissibles. Il est classiquement défini comme un phénomène causé par un déséquilibre entre la production et l'accumulation d'espèces réactives oxygène (ERO) et la capacité du système biologique à détoxifier ces produits réactifs, ou à réparer les dommages qu'elles induisent (**Carillon et al., 2012 ; Aslani et al., 2024**).

Bien que l'oxygène soit une molécule indispensable à la vie, il est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation des radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) (**Haleng et al., 2007**). Ce déséquilibre peut être dû à une surproduction d'espèces pro-oxydantes, d'origine inflammatoire, ou à un déficit en antioxydants. Des facteurs pro-oxydants environnementaux peuvent également entraîner et/ou amplifier un stress oxydant (**Aslani et al., 2024**).

I.1 Rappel sur les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié, extrêmement instable (**Ré et al., 2005**). Ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron (**Pincemail et al., 2001**).

Ils proviennent de trois éléments : l'oxygène, l'azote et le soufre, donnant lieu à des EOA, des espèces réactives de l'azote (ERN) et des espèces réactives du soufre (ERS) (**Gulcin, 2025**).

Les EOA et les ERN constituent une classe de substances actives dans les organismes aérobies. Les ERO peuvent provoquer un stress oxydatif tandis que les ERN peuvent engendrer un stress nitrosatif (**Jiang et al., 2021**).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer les radicaux primaires qui dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron, tels l'anion superoxyde O_2^- et le radical hydroxyle $OH^\cdot$, ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO.

D'autres espèces dérivées de l'oxygène, dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé **espèces réactives de l'oxygène (Haleng et al., 2007).** (Figure 1)

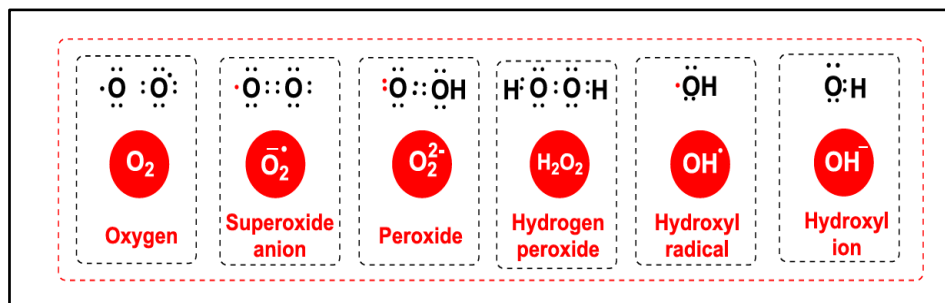


Figure 1: Les principaux radicaux libre produits par le métabolisme cellulaires (Gulcin, 2025)

Il est important de souligner que les ERO ne doivent pas être considérées comme des facteurs uniquement dommageables, mais participant à divers processus physiologiques comme ceux à la signalisation de l'insuline (Bonnefont-Rousselot, 2014). Dans des conditions normales, leur production est limitée et elles agissent comme des messagers secondaires qui contribuent, entre autres, à la régulation de l'apoptose ou à l'activation des facteurs de transcription (Haleng et al., 2007). En étant formés en excès, les ERO deviennent « pathologiques » en activant l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion. De plus, leur instabilité les rend très réactifs aux substrats biologiques et capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies (Haleng et al., 2007).

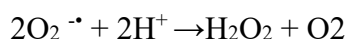
I.2 Origine des espèces réactives d'oxygène

I.2.1 ERO d'origine mitochondriale

Les ERO peuvent avoir différentes sources cellulaires, mais la mitochondrie représente une source importante, citant ainsi l'auto-oxydation des petites molécules,

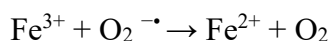
Lors du métabolisme oxydatif, 2 à 5 % de l'oxygène consommé sont convertis en radical superoxyde. Ceci est dû à des électrons qui s'échappent de la chaîne respiratoire et se fixent directement sur l'oxygène moléculaire (O_2), selon la réaction : $\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}_2^{\cdot-}$

Le radical superoxyde est peu réactif, il ne traverse pas les membranes cellulaires et il est rapidement dissimulé en peroxyde d'hydrogène lors de la réaction suivante, catalysée par un des membres de la famille des superoxydes dismutases (SOD) :



Le peroxyde d'hydrogène est également peu réactif, mais il a la capacité de traverser les membranes cellulaires et, en présence de métaux de transition tel que le Fe^{2+} , se transforme en un puissant oxydant, le radical hydroxyle, selon la réaction suivante (ou réaction de Fenton) : $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{OH}^\bullet + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$

Le radical superoxyde peut réduire le Fe^{3+} et régénérer le Fe^{2+} , selon la réaction :



Le bilan de ces deux dernières réactions (ou réaction d'Haber Weiss) est donc :

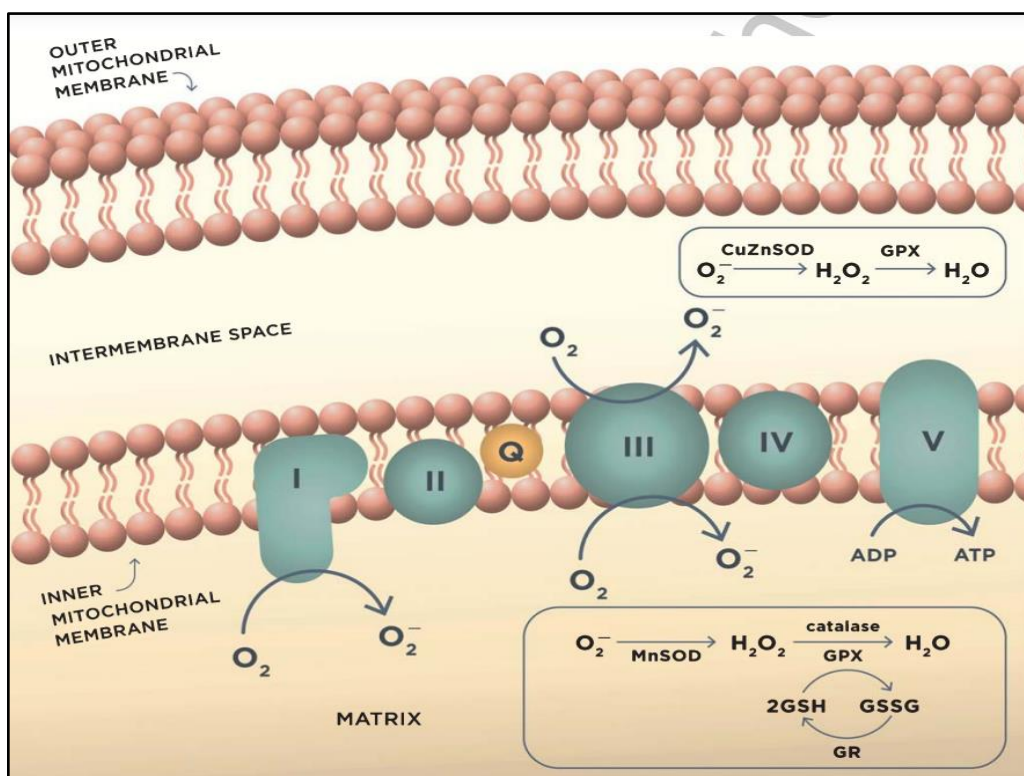


Figure 2: Production d'ERO dans les mitochondries au cours de la phosphorylation oxydative et mécanismes antioxydants (Tönnies & Trushina, 2017)

Le complexe I et le complexe III de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale sont les principaux sites de production d' $\text{O}_2^{\bullet -}$ au cours de la respiration aérobie. L' $\text{O}_2^{\bullet -}$ est converti en H_2O_2 par la MnSOD ou la CuZnSOD dans l'espace mitochondrial intermembranaire. L' H_2O_2 est ensuite réduit en eau par des enzymes détoxifiantes, la glutathion peroxydase (GPX) ou la catalase. La GPX utilise le glutathion réduit (GSH) comme réducteur, et le glutathion oxydé qui en résulte réagit avec une autre molécule de glutathion pour former du disulfure de glutathion (GSSG), qui est amélioré en GSH par l'enzyme glutathion réductase (GR). Ces réactions se produisent dans la matrice mitochondriale.

1.2.2 Autres sources d'ERO

Les sources endogènes des ERO/ERN comprennent notamment la myéloperoxydase (MPO), la NADPH oxydase, la lipoxygénase (LPO), la cytochrome c oxydase, les différentes isoformes de la NO synthase (NOS), la xanthine oxydase (XO) ainsi que l'angiotensine II (AgII) (Aslani *et al.*, 2024).

La formation et les principales réactions impliquant les ERO et les ERN sont illustrées à la figure 3. La famille des NADPH oxydases (NOX) joue un rôle essentiel dans la production d'ERO, notamment pour l'élimination des micro-organismes pathogènes. La NO synthase (NOS) catalyse quant à elle l'oxydation de la L-arginine pour générer du monoxyde d'azote (NO).

La superoxyde dismutase (SOD) constitue l'une des premières lignes de défense antioxydante en convertissant l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en dioxygène non toxique et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce dernier étant moins réactif. La peroxiredoxine (PRX), une classe importante de peroxydases, participe à la régulation du métabolisme des ERO et des voies de signalisation associées.

La catalase (CAT) assure principalement la dégradation du H_2O_2 , tandis que la glutathion peroxydase (GPX) représente une autre enzyme clé dans la neutralisation des peroxydes. Par ailleurs, la réaction de Fenton - correspondant à l'interaction entre le H_2O_2 et les ions ferreux (Fe^{2+}) - conduit à la formation de radicaux hydroxyles ($\bullet OH$), parmi les ERO les plus réactifs (Jiang *et al.*, 2021).

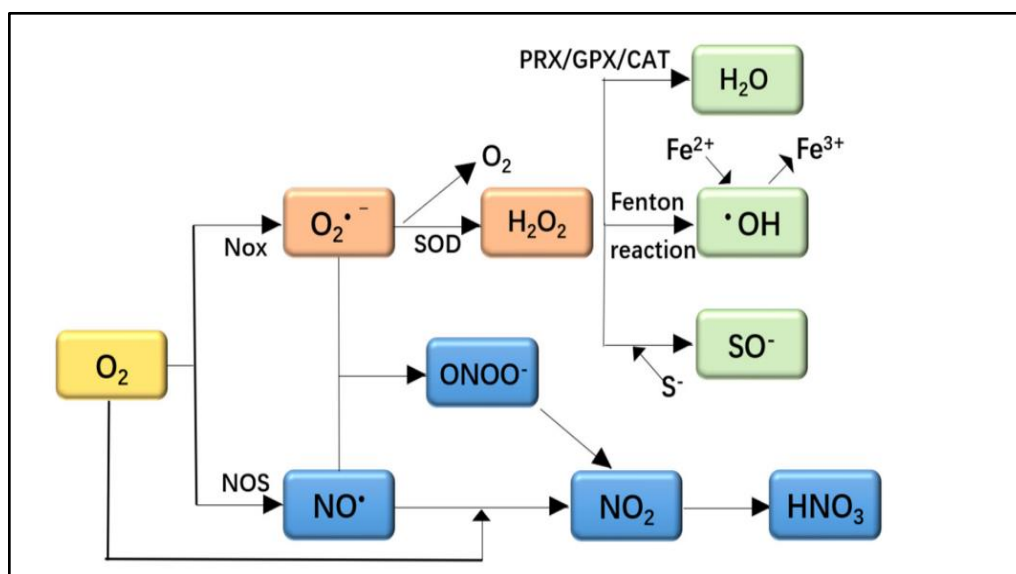


Figure 3: ERO et stress oxydatif. (Jiang *et al.*, 2021)

NOX, famille de la NADPH oxydase ; ERO, espèces réactives de l'oxygène ; NOS, oxyde nitrique synthase ; SOD, superoxyde dismutase ; PRX, peroxiredoxine ; CAT, catalase ; GPX, glutathion peroxydase ; H₂O₂, peroxyde d'hydrogène ; -OH, radicaux hydroxydes.

I.3 Stress oxydatif, mode de vie et facteur environnementaux

I.3.1 Régime alimentaire hypercalorique, régime Hyper-gras (HG)

L'alimentation, notamment celle qui est riche en graisses ou en glucides, a été liée au stress oxydatif. Elle provoque une condition postprandiale caractérisée par une hypertriglycéridémie, une hyperglycémie et une hausse des acides gras libres (FFAs) circulants, contribuant ainsi à l'installation d'un stress oxydatif dans les modèles d'obésité (**Kobi, et al., 2023**). Ces troubles métaboliques stimulent une génération intensifiée des ERO, entraînant une augmentation de la carbonylation des protéines et des produits de peroxydation lipidique, parallèlement à une réduction des défenses antioxydantes (**Jiang et al., 2021**).

Lorsque l'apport en lipides dépasse les besoins énergétiques, l'excès de lipides est d'abord stocké dans le tissu adipeux, qui agit comme un réservoir lors d'une première exposition à un excès d'énergie. Toutefois, si cette capacité de stockage est dépassée, l'excès de lipides peut atteindre d'autres tissus métaboliques importants, notamment le foie et les muscles (lipides ectopiques), ce qui provoque une stéatose hépatique, une intolérance au glucose et le développement du diabète de type II (**Feillet-Coudray et al., 2019**).

Dans cette optique, un régime riche en graisses favorise la surcharge lipidique en générant des acides gras libres grâce à l'augmentation des chylomicrons dans l'intestin, qui sont par la suite absorbés par le foie. Effectivement, les acides gras libres ont la capacité de pénétrer dans les mitochondries pour y être β -oxydés ou estérifiés en bases de Schiff de triglycérides (**Jiang et al., 2021**). Cependant, la simple accumulation de lipides ne suffit pas à expliquer les troubles métaboliques associés. De plus, la plupart des études s'accordent à dire que ce n'est pas l'accumulation de lipides en elle-même qui cause l'intolérance au glucose, mais plutôt les intermédiaires lipidiques tels que les acyl-CoA d'acides gras, les diacylglycérols (DAG) et les céramides. Plus précisément, c'est leur localisation, leur composition et leur renouvellement qui jouent un rôle clé dans le développement de la stéatose hépatique, de l'intolérance au glucose et du diabète de type II. (**Feillet-Coudray et al., 2019**).

À son tour, le stress oxydatif altère les voies de signalisation intracellulaire, entraînant entre autres une production accrue de stress oxydatif (Varela-López et al., 2015). En effet, L'accumulation excessive de graisse stimule la β -oxydation mitochondriale des acides gras libres, ce qui entraîne une utilisation excessive du flux d'électrons de la cytochrome C oxydase, augmentant ainsi l'accumulation d'ERO dans les cellules. Les mitochondries sont des sources essentielles d'ERO dans les cellules, qui oxydent les lipides insaturés déposés dans les graisses et provoquent la peroxydation des lipides (Jiang et al., 2021). Cette activation a été suivie par une élévation du facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) et des acides gras libres dans le plasma et le foie (Varela-López et al., 2015 ; Jiang et al., 2021). (Figure 4)

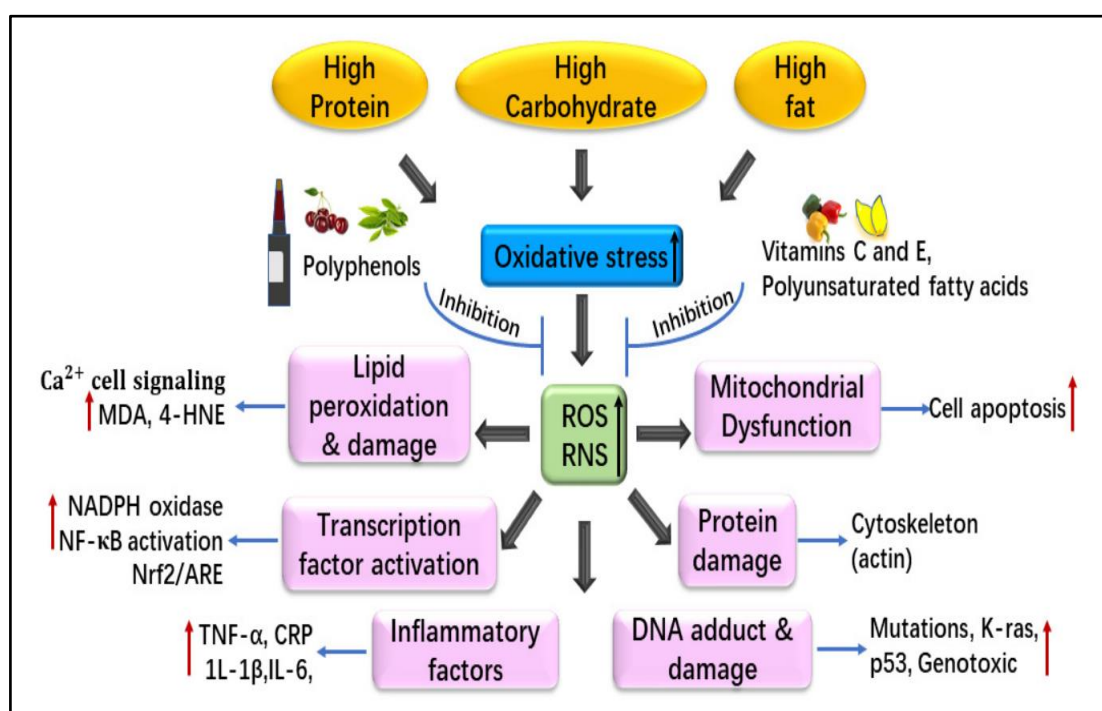


Figure 4 : Associations entre le régime alimentaire et le stress oxydatif (Jiang et al., 2021).

ERO, espèces réactives de l'oxygène ; ERN, espèces réactives de l'azote ; MDA, malondialdéhyde ; 4-HNE, 4-hydroxynonénal ; NADPH, triphosphopyridine nucléotide ; TNF- α , facteur de nécrose tumorale alpha ; IL-6, interleukine-6 ; IL-1 β , interleukine-1 β ; CRP, protéine C-réactive ; NF- κ B, facteur nucléaire kappa-B ; Nrf2, facteur 2 lié à NF-E2 ; ARE, élément de réponse antioxydant ; p53, gène suppresseur de tumeur ; K-ras.

I.3.2 Surcharge martiale, un facteur clés dans la genèse de stress oxydatif

Le fer est un métal crucial qui joue le rôle de donneur et accepteur d'électrons dans une multitude de processus cellulaires, notamment le transport de l'oxygène, la respiration cellulaire, le métabolisme énergétique, la synthèse de l'ADN et la prolifération cellulaire. Il n'est donc pas surprenant qu'une carence en fer puisse avoir des effets graves sur le développement fœtal et postnatal, ainsi que tout au long de la vie adulte (**D'Mello & Kindy, 2020**). Parallèlement une surcharge en fer, qu'elle soit d'origine nutritionnelle, transfusionnelle ou génétique, peut conduire à des complications systémiques comme les affections hémolytiques génétiques, notamment la thalassémie, la drépanocytose et la sphérocytose héréditaire ou de l'hémochromatose (**Teschke, 2024**).

En catalysant la réaction de Fenton, le fer convertit le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en radical hydroxyle ($\bullet OH$) et ion hydroxyde (OH^-) par l'oxydation du Fe^{2+} en Fe^{3+} (**Long et al., 2023**). Pour prévenir la toxicité liée à la formation excessive des ERO, l'organisme conserve le fer sous des formes non dangereuses : principalement associé à la ferritine dans le compartiment intracellulaire et lié à la transferrine dans l'espace extracellulaire.

Une surcharge intracellulaire en fer augmente le pool de fer labile, constitué de Fe^{2+} redox-actif, ce qui intensifie la génération de radicaux libres. Dans le compartiment extracellulaire, l'excès de fer se traduit par une élévation du fer non lié à la transferrine (NTBI), lequel peut être internalisé par le transporteur ZIP14 et devenir une source supplémentaire des ERO (**Gensluckner et al., 2024**).

La production de dérivés des ERO a été identifiée comme un élément clé de la pathogenèse de maladies courantes telles que la stéatose hépatique d'origine métabolique ou le diabète de type 2. (**Harrison et al., 2023**).

Ces mécanismes délétères induisent la peroxydation des lipides et des acides aminés, provoquant des dommages supplémentaires aux lipides, aux protéines ou à l'ADN et, lorsque les systèmes de réparation sont dépassés, peuvent conduire à une apoptose. Ainsi, une production excessive d'ERO peut avoir des effets néfastes sur de nombreux organes, notamment le foie, le cœur, les reins, le pancréas et le système nerveux (**Gensluckner et al., 2024**). (**Figure 5**)

Dans ce dernier, l'homéostasie du fer constitue un facteur déterminant. En effet, l'activité redox du fer, liée à la transition $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, intensifie la production de radicaux libres et favorise son accumulation intracellulaire. Cette surcharge perturbe profondément le fonctionnement neuronal en induisant l'agrégation protéique, en altérant le transport axonal ainsi que la libération de neurotransmetteurs, de facteurs neurotrophiques et de cytokines. Lorsque cette accumulation dépasse les capacités cellulaires de régulation, elle déclenche la ferroptose, une forme de mort cellulaire programmée dépendante du fer, caractérisée par une peroxydation lipidique exacerbée et une déplétion du glutathion, conduisant finalement à la neurodégénérescence (Long *al.*, 2023).

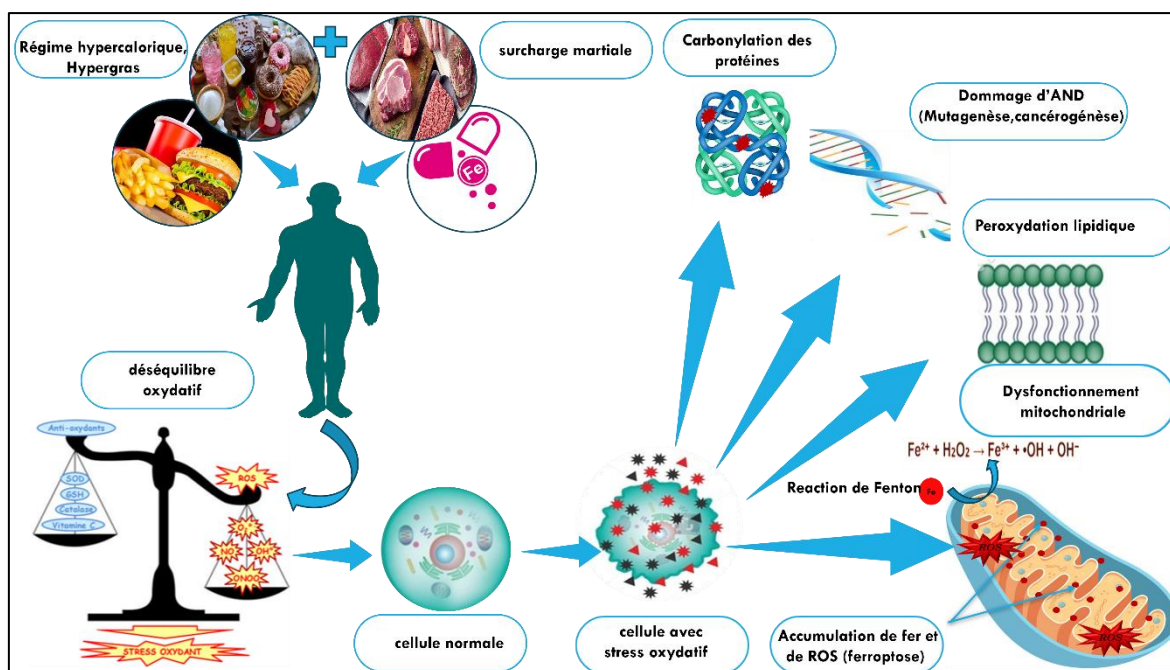


Figure 5: Associations entre le régime alimentaire hypercalorique, la surcharge martiale et le stress oxydatif

I.3.3 Facteurs environnementaux

Une exposition prolongée aux polluants environnementaux (agents oxydants puissants, ions de métaux lourds, herbicides et pesticides, agents photosensibilisants, à la lumière UV ou aux radiations ionisantes peuvent contribuer à l'endommagement de l'ADN, des lipides et des protéines. (Hepel & Andreescu, 2015). Dans ce contexte, plusieurs sources exogènes de ERO et d'ERN, telles que le tabac, la pollution de l'eau et de l'air, l'alcool, les médicaments (gentamicine, tacrolimus, cyclosporine, bléomycine, doxorubicine, morphine, diazinon), les solvants industriels et la cuisson, participent également à l'augmentation du stress oxydatif et aux dommages cellulaires associés (Aslani *et al.*, 2024).

Parmi les polluants environnementaux les pesticides, en effet Les humains sont généralement exposés aux pesticides principalement par l'alimentation, en particulier via la consommation de légumes et de fruits riches en résidus de pesticides. Ces substances exercent des effets perturbateurs endocriniens, altérant notamment les fonctions œstrogéniques, androgéniques et thyroïdiennes, tout en stimulant une production accrue des ERO, ce qui entraîne un stress oxydatif (Roychoudhury et al., 2021; Pérez-Bermejo et al., 2024).

Les métaux lourds tels que le fer, le cuivre, le plomb et l'arsenic stimulent la génération de radicaux libres par des mécanismes chimiques complexes, en perturbant les défenses antioxydantes cellulaires. (Sharifi-Rad et al., 2020). Cette capacité est particulièrement marquée pour les métaux redox-actifs (le fer, le cuivre, le chrome ou encore le cobalt) qui catalysent la formation de radicaux hydroxyles via la réaction de Fenton, générant des ERO capables d'attaquer l'ADN, les lipides et les protéines (Jomova & Valko, 2011)

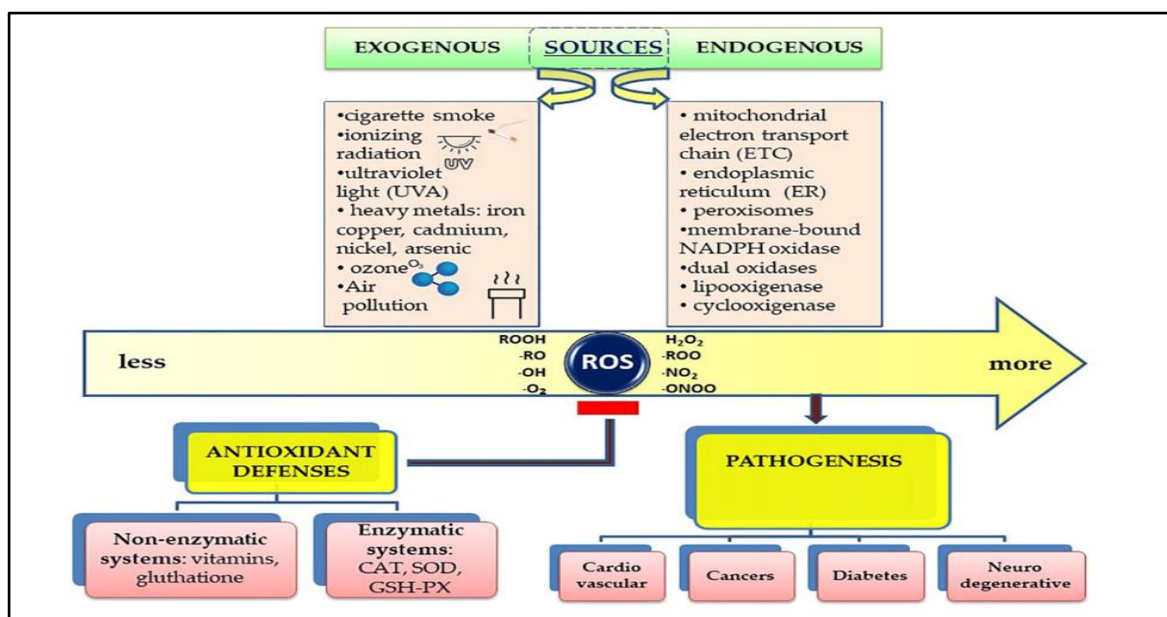


Figure 6 : Présentation schématique des sources de radicaux libres et de leurs effets sur le corps humain (Sharifi-Rad et al.,2020).

I.4 Stress oxydant et ses cibles biologiques

Lorsqu'un état de stress oxydant s'établit dans la cellule, les ERO en excès sont susceptibles d'attaquer les cibles cellulaires, ce qui a pour conséquence des dommages oxydatifs au niveau des lipides, des protéines, des acides nucléiques, pouvant notamment conduire à un dysfonctionnement endothélial et à des processus inflammatoires. Les produits d'oxydation

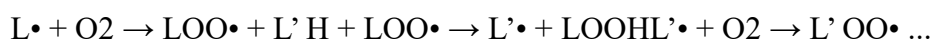
des cibles cellulaires, tout comme les systèmes antioxydants, peuvent servir de biomarqueurs pour mettre en évidence un état de stress oxydant (**Bonnefont-Rousselot, 2014**) .

I.4.1 Effets sur les lipides

Les ERO peuvent attaquer les lipides, et plus particulièrement les acides gras polyinsaturés qui sont facilement oxydables. Ceci conduit à une réaction en chaîne de peroxydation lipidique, qui modifie la fluidité et la perméabilité de la membrane et peut aussi altérer le fonctionnement des protéines membranaires (**Davies, 2000**).

La peroxydation des lipides est généralement initiée par un radical ($R\bullet$) particulièrement réactif selon la réaction : $LH + R\bullet \rightarrow L\bullet + RH$

Le radical lipidique ($L\bullet$, radical alkyle) formé lors de cette réaction réagit avec l'oxygène pour former un radical peroxy capable de transformer un autre acide gras polyinsaturé en radical lipidique propageant ainsi la réaction de peroxydation :



L'hydroperoxyde lipidique (LOOH) formé lors de la phase de propagation de la réaction de peroxydation est relativement stable. Cependant, en présence de métaux de transition, il peut reformer de nouveaux radicaux lipidiques ($LO\bullet$, radical alkoxy ou $LOO\bullet$, radical peroxy) : $LOOH + Fe^{2+} \rightarrow LO\bullet + OH^- + Fe^{3+}$



Par ailleurs, il peut aussi se transformer en endoperoxyde, qui, en présence d'oxygène, va conduire à la formation de divers produits, dont notamment des aldéhydes, (4-hydroxynonénal, malondialdéhyde...), qui peuvent aller endommager les protéines et les acides nucléiques et dont le dosage permet de déterminer l'étendue de la peroxydation (**Michel et al., 2008**). Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), le acides thiobarbiturique (TBARS) et le 4-hydroxynonénal (4- HNE) sont étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (**Davies, 2000**) .

I.4.2 Effets sur les protéines

Les effets des ERO sur les protéines sont complexes, allant de l'oxydation du squelette protéique, c'est-à-dire de la chaîne polypeptidique conduisant à son clivage, à celle des chaînes latérales de différents acides aminés. Certaines protéines voient leur activité augmenter suite à une oxydation, mais la plupart deviennent inactives.

Ces processus réversibles d'oxydation et de réduction, notamment des groupements thiols des résidus cystéines des protéines, sont impliqués dans bon nombre de processus de signalisation et de régulation de l'expression des gènes (signalisation redox). Ils nécessitent des concentrations de ERO bien plus faibles que celles requises pour induire des dommages oxydatifs irréversibles (Ré et *al.*, 2005).

I.4.3 Dommage a l'AND

Les acides ribo- et désoxyribonucléiques sont également vulnérables aux dommages oxydatifs, et surtout, il a été démontré que l'ADN subit des dommages oxydatifs *in vivo*. Bien que l'ADN soit un biopolymère relativement simple composé de seulement quatre acides nucléiques différents, son intégrité est vitale pour la division et la survie des cellules. Il a été démontré que les altérations oxydatives des polymères d'acide nucléique perturbent la transcription, la traduction, et la réplication de l'ADN et entraînent des mutations et la mort des cellules (Davies, 2000). Les radicaux libres peuvent provoquer des liaisons transversales entre l'ADN et les protéines, endommager le squelette du désoxyribose-phosphate ainsi que des modifications spécifiques des bases puriques et pyrimidiques (Thérond et *al.*, 2000).

I.5 Implication de stress oxydatifs dans les pathologies humaines

Plusieurs études faites sur l'étiologies des pathologies humaines montrent l'implication de stress oxydant dans de nombreuses situations pathologiques, telle que l'inflammation (Hepel & Andreescu, 2015) Outre les maladies cardio-vasculaires (oxydation des lipides) , le cancer (oxydation de l'ADN) diabète (obésité, syndrome métabolique) c'est certainement dans le cadre du l'implication du stress oxydant dans les maladies de cerveau que des avancées spectaculaires ont été réalisées au cours des dernières années (Sharifi-Rad et *al.*, 2020).

I.5.1 Stress oxydatif et syndrome métabolique

Le syndrome métabolique est plus justement appelé syndrome d'insulinorésistance, syndrome (pluri-) métabolique ou syndrome cardiovasculaire métabolique, suivant que l'on s'intéresse prioritairement à sa cause présumée (l'insulinorésistance), à son phénotype (la combinaison de plusieurs anomalies métaboliques) ou à ses conséquences (les complications cardiovasculaires, en particulier coronaires) (Raoux, 2006).

Le syndrome métabolique se caractérise par la présence de plusieurs facteurs de risque interconnectés de diabète de type 2 (DT2) et de MCV (Jakubiak et *al.*, 2021).

La présence du syndrome métabolique multiplie par cinq le risque de développer un DT2, par deux le risque de maladie cardiovasculaire et par 1,5 le risque de mortalité toutes causes confondues (**Masenga et al., 2023**). Les facteurs de risque du syndrome métabolique comprennent l'augmentation du tour de taille ou de la graisse du ventre, un taux élevé de triglycérides plasmatiques, une pression artérielle élevée, une glycémie élevée et un faible taux de HDL plasmatiques (**Han & Lean, 2015**).

La résistance à l'insuline peut entraîner une hyperglycémie, une hypertension, une dyslipidémie, une obésité viscérale, une hyperuricémie, une augmentation des marqueurs inflammatoires, un dysfonctionnement endothélial et une thrombose, qui peuvent conduire au syndrome métabolique, à la NASH et au DT2 par le biais de plusieurs mécanismes complexes (**Masenga et al., 2023 ; Alemany, 2024**). Les composantes du syndrome métabolique sont interdépendantes. L'obésité est le principal facteur de risque dans le développement du DT2, et on estime qu'environ 90 % des personnes atteintes de DT2 sont en surpoids ou obèses. L'obésité est également liée à un risque accru de maladies cardiovasculaires, qui comprennent des affections telles que l'hypertension artérielle, l'athérosclérose, l'infarctus aigu du myocarde et l'insuffisance cardiaque (**Masenga et al., 2023**).

Le stress oxydatif peut jouer un rôle important dans les manifestations liées au syndrome métabolique, y compris l'athérosclérose, l'hypertension et le DT2. Le stress oxydatif est également associé à l'adiposité et à la résistance à l'insuline chez les hommes et chez les personnes atteintes du syndrome métabolique, suggérant que le stress oxydatif pourrait être un événement précoce dans la pathologie de ces maladies chroniques plutôt qu'une simple conséquence ou un témoin innocent (**CK, 2009**).

Chez les patients atteints du syndrome métabolique, un stress oxydatif accru est mis en évidence par une diminution des défenses antioxydantes et une augmentation des marqueurs de dommages oxydatifs (malondialdéhyde, protéines carbonylées, activité de la xanthine oxydase). Le stress oxydatif est également associé à l'accumulation de graisse corporelle, à la dysfonction endothéliale et à l'activation de NAD(P)H oxydase. L'ox-LDL augmente de façon progressive avec l'obésité et le syndrome métabolique, et elle est corrélée à un risque accru de syndrome métabolique (**CK, 2009**) .

La surproduction d'ERO entraîne un environnement de stress oxydatif, qui déstabilise également la signalisation et le contrôle redox et entraîne des effets délétères sur l'expression des gènes, augmente les facteurs de croissance et les éléments de réponse au stress, et active la voie de l'apoptose. La signalisation redox perturbée favorise également les voies pro-inflammatoires et pro-fibrotiques, qui affectent la signalisation métabolique de l'insuline et le dysfonctionnement endothélial et favorisent l'inflammation et la fibrose cardiovasculaires et rénales, ce qui contribue à endommager les organes cibles (**Masenga et al., 2023**).

Les mécanismes des ERO et leur rôle dans le développement du syndrome métabolique sont présentés dans la figure 7.

Figure 7



Figure 7 : Présentation schématique du syndrome métabolique (**Islam et al., 2024**).

De multiples facteurs (génétique, âge, mode de vie, suralimentation, sédentarité et tabagisme) conduisent à l'adiposité viscérale, élément central du syndrome métabolique. Cette adiposité déclenche une altération du métabolisme des acides gras libres, favorisant l'insulinorésistance, la dyslipidémie et une inflammation accrue à travers des marqueurs tels que le TNF et l'IL-6. De plus, les adipokines (leptine, aldostérone) et le RAAS exacerbent l'inflammation chronique. Ces processus interconnectés augmentent le risque de maladies cardiovasculaires telles que la mort cardiaque subite et l'hypertension, qui sont toutes des caractéristiques clés du SM. AGL : acide gras libre, ATII : angiotensine II, CRP : protéine C-réactive, TNF : facteur de nécrose tumorale, IL-6 : interleukine 6, LOX : oxydée de type lectine, LDL : lipoprotéine de basse densité, ERO : espèces réactives de l'oxygène, RAAS : système rénine-angiotensine-aldostérone.

I.5.1.1 Stress oxydatif, Diabète et insulinorésistance

Le diabète de type 2 est une maladie chronique caractérisée par des niveaux élevés de glucose dans le sang résultant soit d'un manque absolu ou relatif d'insuline, soit d'une résistance à l'insuline (**Caturano et al., 2023**). L'obésité augmente significativement le risque de diabète de type 2. Face à la résistance à l'insuline, l'organisme compense initialement par une hyperinsulinémie due à l'augmentation de la masse des cellules bêta, permettant de maintenir une glycémie normale. Toutefois, chez environ un tiers des personnes obèses, l'apoptose des cellules bêta réduit leur capacité sécrétoire, rendant impossible la compensation de l'insulinorésistance. L'hyperglycémie qui en résulte conduit alors à l'installation du diabète de type 2, conséquence d'une IR associée à une production insuffisante d'insuline (**Rochette et al., 2014**).

I.5.1.1.1 Stress oxydatif et Diabète

Les principaux mécanismes moléculaires impliqués dans le SO dans le diabète ont été clairement identifiés et sont étroitement liés au métabolisme du glucose et des lipides. Plusieurs voies métaboliques contribuent au développement du SO en situation d'hyperglycémie, notamment : l'activation de la voie des polyols, la formation des produits de glycation avancée (AGE), l'auto-oxydation du glucose, l'activation de la protéine kinase C (PKC), l'altération de la signalisation de l'insuline, ainsi que la production accrue de radicaux libres par la mitochondrie (**Darenskaya et al., 2021**).

En condition d'hyperglycémie, une production excessive de ERO est observée au cours des réactions glycolytiques (**Darenskaya et al., 2021**). En effet, une fois le glucose entré dans les cellules, il est oxydé soit via la voie des pentoses phosphates, conduisant à la production de molécules biosynthétiques et de NADPH, soit via la glycolyse. La glycolyse se poursuit dans le cycle de Krebs, aboutissant à la formation de NADH et de FADH₂, utilisés dans la phosphorylation oxydative pour produire l'ATP.

Ce processus génère des ERO telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) et les radicaux hydroxyles ($\bullet\text{OH}$). En effet, une fois le glucose entré dans les cellules, il est oxydé soit via la voie des pentoses phosphates, conduisant à la production de molécules biosynthétiques et de NADPH, soit via la glycolyse. La glycolyse se poursuit dans le cycle de Krebs, aboutissant à la formation de NADH et de FADH_2 , utilisés dans la phosphorylation oxydative pour produire l'ATP. Ce processus génère également des ERO (Caturano et al., 2023).

Dans des conditions physiologiques normales, le système de défense antioxydante neutralise efficacement les ERO (Caturano et al., 2023). Toutefois, lorsque la glycémie devient excessivement élevée, la production de radicaux augmente, entraînant une inhibition des systèmes antioxydants. Cette diminution favorise des dommages à l'ADN et l'activation d'enzymes de réparation telles que la poly-ADP-ribose polymérase-1 (PARP-1). PARP-1 inactivera alors la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH), ce qui provoque l'accumulation de glyceraldéhyde-3-phosphate (GAP), de glucose-6-phosphate (G-6-P) et de fructose-6-phosphate (F-6-P) (Darenskaya et al., 2021).

L'élévation de ces trois intermédiaires active plusieurs réactions convergeant vers le stress oxydatif :

- G-6-P et GAP peuvent subir une auto-oxydation générant des précurseurs des AGE ;
- G-6-P et F-6-P peuvent emprunter la voie des polyols ;
- Le GAP, quant à lui, active la protéine kinase C (PKC).

Lorsque la concentration en glucose augmente, l'hexokinase devient saturée et ne peut plus catalyser la formation de G-6-P. Le glucose est alors converti en sorbitol par l'aldose réductase, puis en fructose par le sorbitol déshydrogénase (SDH) (Caturano, et al., 2023). Ce processus consomme le NADPH, un substrat essentiel à la GPx pour la synthèse du GSH, ce qui contribue à affaiblir les défenses antioxydantes. En conditions hyperglycémiques, la SDH est également surexprimée, augmentant la production de fructose, ensuite converti en GAP et en dihydroxyacétone-3-phosphate (DHA-3-P), activant ainsi la PKC et favorisant le stress oxydatif.

L'excès de glucose peut subir une auto-oxydation formant du glyoxal, tandis que le GAP et le DHA-3-P dérivés du glucose peuvent subir une déphosphorylation non enzymatique produisant du méthylglyoxal.

Ces composés, ainsi que la 3-désoxyglucosone (produit d'Amadori), sont des précurseurs des AGE, qui réagissent avec les composants de la matrice extracellulaire (ECM). La réaction non enzymatique entre le groupe carbonyle du glucose et un groupement ϵ -amino d'une protéine modifie sa fonction (Singh *et al.*, 2012).

Une fois formés, les AGE se lient aux récepteurs RAGE, ce qui induit un stress oxydatif et active la PKC, entraînant l'activation de la NADPH oxydase et de la lipoxigénase, générant ainsi davantage d'ERO. Par ailleurs, l'excès de GAP peut être converti en DHA-3-P, puis réduit en glycérol-3-phosphate ; combiné aux acides gras, ce dernier forme le diacylglycérol (DAG), qui active également la PKC (Caturano *et al.*, 2023). (Figure 8)

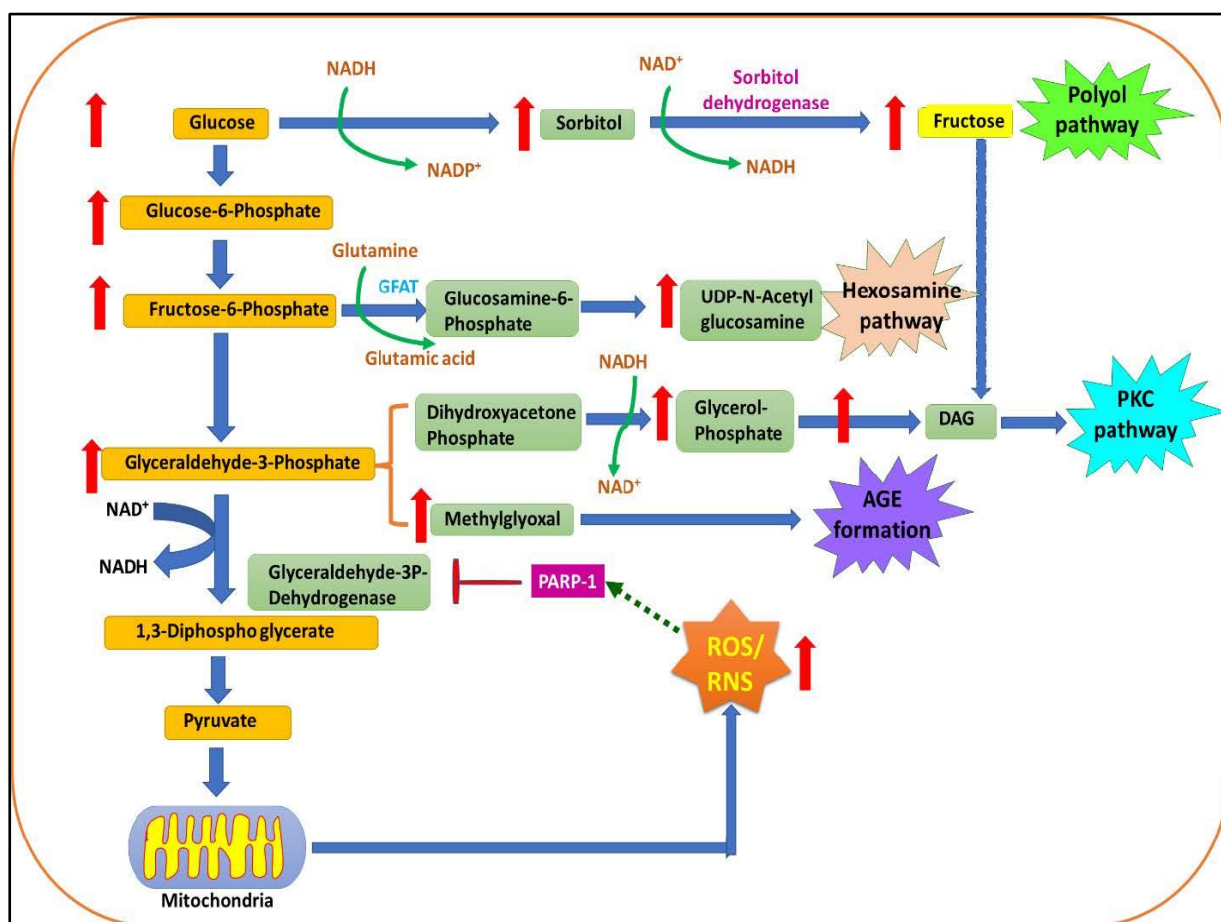


Figure 8: Voies métabolisme du glucose et produits qui interviennent dans le stress oxydatif (Singh *et al.*, 2022)

I.5.1.1.2 Stress oxydatif et insulino-résistance

La résistance à l'insuline constitue la principale anomalie sous-jacente du diabète de type 2, caractérisée par une incapacité des cellules à répondre efficacement à l'insuline, entraînant une absorption sous-optimale du glucose. La transduction normale du signal de l'insuline (TSI) implique une série complexe d'étapes séquentielles faisant intervenir différentes enzymes et médiateurs, aboutissant à l'entrée facilitée du glucose dans les adipocytes, les cellules musculaires et myocardiques via les transporteurs GLUT-4 (**Yaribeygi et al., 2020**).

L'insuline exerce des actions régulatrices du redox dans divers organes cibles, soulignant son rôle antioxydant. Elle atténue la production d'ERO générés par la phosphorylation oxydative mitochondriale grâce à la régulation des protéines découplantes (UCP) et inhibe l'expression des NADPH oxydases (NOX). Cependant, dans les adipocytes, un excès de glucose conduit à la production d'ERO via NOX4 plutôt que par l'oxydation mitochondriale. Cette isoforme est régulée à la fois par le NADPH issu de la voie des pentoses phosphates et par sa translocation vers les radeaux lipidiques, entraînant l'expression de facteurs chimiotactiques pour les monocytes (**Rochette et al., 2014**).

La stimulation du récepteur de l'insuline induit des changements dans la voie PI3-kinase, et une signalisation brusque peut provoquer l'activation excessive de NOX4, phosphorylant Rac (GTPase Rac) au lieu de PIP2 et augmentant les ERO/ERN dans l'environnement cellulaire. Ces ERO/ERN élevés activent la caseine kinase-2 (CK2), qui déclenche l'activation du rétromère. Ce dernier influence la signalisation du réseau trans-Golgi, entraînant le transport des GLUT4 vers les lysosomes pour leur dégradation plutôt que vers la membrane plasmique. Ce mécanisme contribue à l'élévation de la glycémie et à l'état de stress oxydatif (**Singh et al., 2012**). (**Figure 9**)

De plus, le stress oxydatif active plusieurs voies de signalisation sensibles au stress, incluant des composants tels que NF- κ B, la NO synthase inducible et des complexes d'histocompatibilité de classe II, participant largement à l'altération de la sécrétion et de l'action de l'insuline (**Darenskaya et al., 2021**).

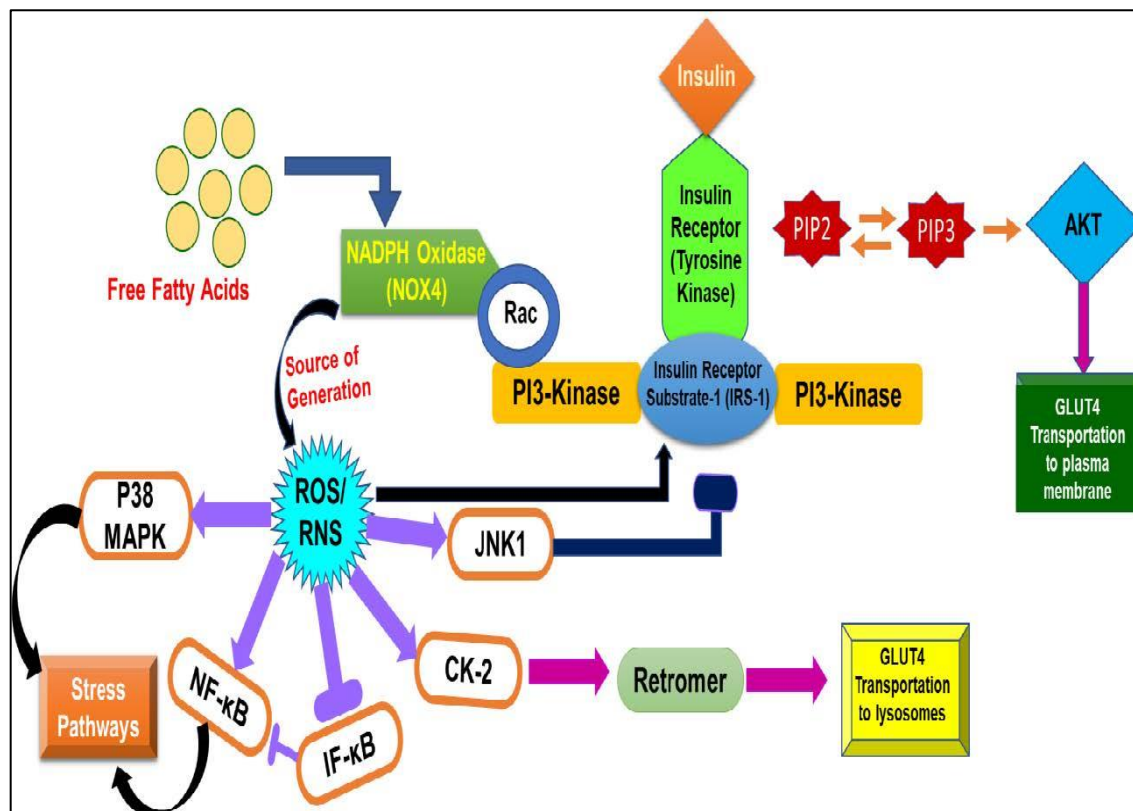


Figure 9: Voie normale de signalisation de l'insuline et effet inhibiteur des ERO sur la signalisation de l'insuline (**Singh et al., 2022**).

I.5.1.2 Stress oxydatif et maladie cardiovasculaire

Le stress oxydatif étant impliqué dans le développement et/ou la progression des maladies cardiovasculaires (MCV). (**Sharifi-Rad et al., 2020**). En effet, il a un impact majeur sur l'évolution des pathologies cardiovasculaires en modulant l'expression des gènes, la sécrétion de cytokines et le fonctionnement de l'endothélium vasculaire. Les ERO ont un effet protecteur sur le système cardiovasculaire à des concentrations faibles, tandis qu'à des niveaux élevés, elles contribuent à la dysfonction endothéliale et à l'apparition de l'athérosclérose (**Leyane et al., 2022**).

Ce déséquilibre redox résulte principalement de l'activation de la NAD(P)H oxydase, de l'hyperproduction mitochondriale d'anions superoxyde et de la réduction de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (**Beaudeux et al., 2006**).

L'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) dans la paroi des vaisseaux est l'un des événements initiaux à l'origine de l'athérosclérose ou d'autres maladies cardiovasculaires associées à un dysfonctionnement de la paroi des vaisseaux (**Leyane et al., 2022**). Les LDL oxydées deviennent cytotoxiques vis-à-vis des cellules endothéliales, par le biais des oxystérols essentiellement, et elles ne sont plus reconnues par leur récepteur mais au contraire par le récepteur scavenger des cellules spumeuses (**Baudin, 2006**).

Dans la paroi artérielle, ces particules oxydées activent des voies de signalisation pro-inflammatoires, stimulent l'expression de molécules d'adhésion et contribuent au recrutement des monocytes, amplifiant ainsi le processus inflammatoire et le développement de la plaque athérosclérose (**Leyane et al., 2022**).

Ces mécanismes provoquent un dysfonctionnement endothélial, favorisent l'agrégation plaquettaire et activent les métalloprotéinases, participant à la thrombogénèse ; sous l'effet du stress oxydatif, l'augmentation de l'expression et de l'activité de ces enzymes accélère la rupture des plaques et la formation de thrombus (**Leong et al., 2013**). (**Figure 10**)

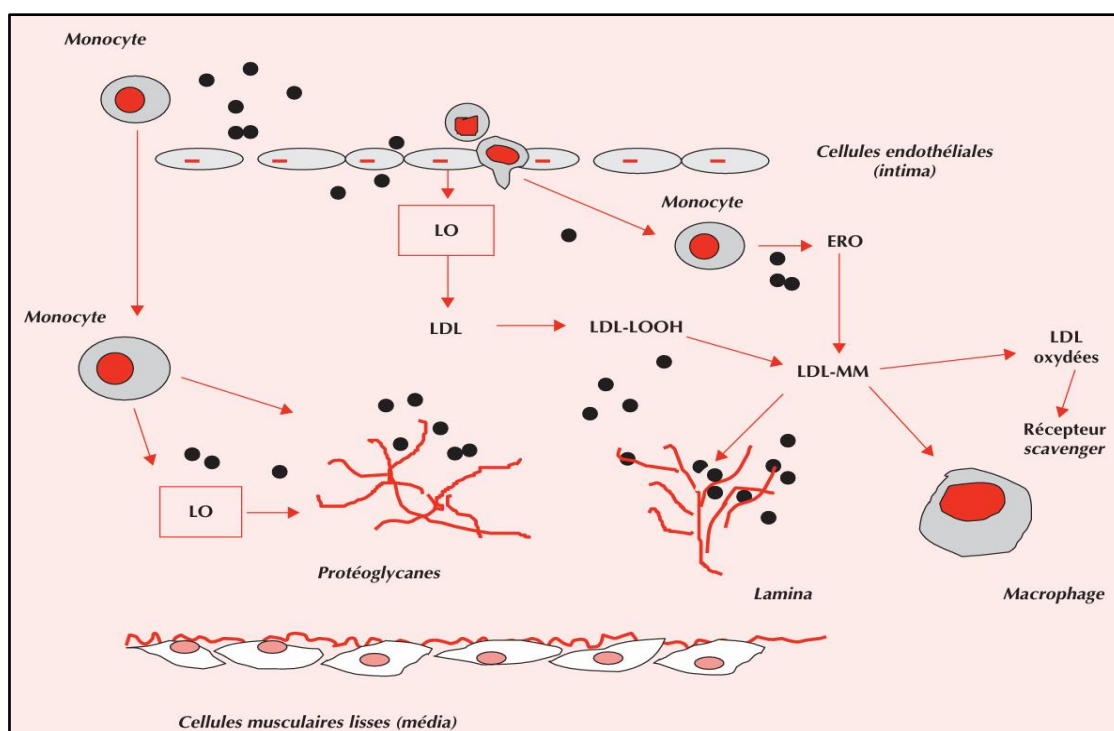


Figure 10 : Modification des LDL dans la paroi artérielle menant à la plaque d'athérosclérose (**Baudin, 2006**).

La première étape est la pénétration de lipoprotéines athérogènes, en particulier des LDL, à travers la monocouche endothéliale, suite à un dysfonctionnement de l'endothélium, à une augmentation de sa perméabilité, ou à un défaut du récepteur aux LDL. Par activation de lipoxygénases (LO), les LDL vont s'oxyder avec formation d'hydroperoxydes (LOOH). Des monocytes circulants vont pénétrer dans l'intima après avoir été ralentis et fixés par des protéines d'adhésion endothéliales, dont l'expression à la face luminale est augmentée par les LDL oxydées. Ces monocytes vont s'activer et produire de la LO et des ERO qui viennent compléter l'oxydation des LDL. Les LDL-MM formées peuvent adhérer aux protéoglycanes du sous-endothélium et sont partiellement éliminées par les macrophages par leur récepteur scavenger. En fonction de leur faculté d'évacuation des différentes populations de LDL oxydées, les macrophages vont soit maintenir un équilibre sans épaissement intimal, soit, suite au débordement de ce système d'élimination, se transformer en cellules spumeuses qui, s'accumulant, vont venir épaissir l'intima, créant les conditions du développement de la plaque d'athérosclérose. Vont alors intervenir, en plus de ces premiers acteurs, des cellules musculaires lisses du média, des lymphocytes, des plaquettes et une réaction inflammatoire.

Dans le cas de la pression artérielle, ce dernier est régulé par le débit cardiaque et la résistance périphérique qui est modulée par l'endothélium (**Leyane et al., 2022**). Dans l'hypertension, le dysfonctionnement endothélial- lié à une diminution de la biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO)- réduit la vasodilatation et favorise l'augmentation de la résistance vasculaire. Le stress oxydatif joue un rôle central : les ERO dégradent le NO et forment du peroxynitrite, limitant son action vasorelaxante. (**Leong et al., 2013**) L'angiotensine II (Ang II), puissant vasoconstricteur, aggrave cette situation en activant la NADPH oxydase, augmentant la production d'ERO, la peroxydation lipidique et les cytokines pro-inflammatoires, ce qui contribue à l'élévation de la pression artérielle. Dans la paroi vasculaire, la NADPH oxydase constitue la principale source de ERO, réduisant davantage la relaxation endothélium-dépendante. Au niveau cardiaque, la production excessive d'ERO par les mitochondries des myocytes provoque des lésions structurelles et fonctionnelles, participant au développement et au maintien de l'hypertension (**Carillon et al., 2012 ; Xiang et al., 2021**). (**Figure 11**)

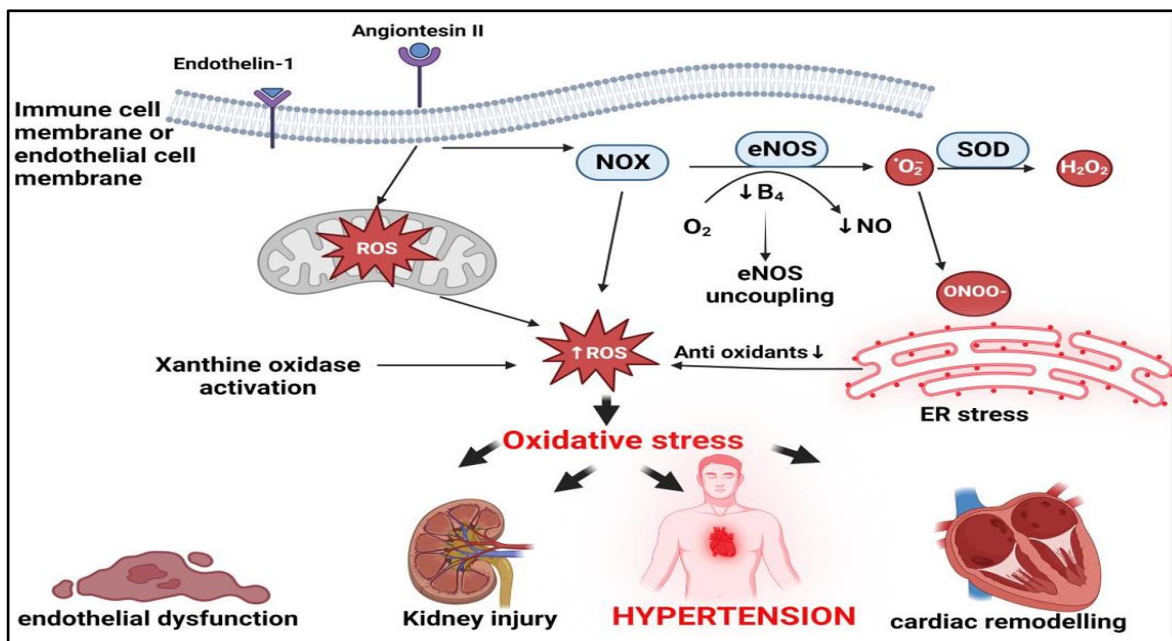


Figure 11: Mécanismes proposés pour l'hypertension induite par le stress oxydatif

La famille NOX (NADPH oxydase) et les enzymes xanthine oxydase sont les principaux générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans l'hypertension, et ils sont régulés par des facteurs pro-hypertenseurs et pro-inflammatoires tels que l'Ang II (angiotensine II) et l'ET-1 (endothéline-1). Le découplage de la eNOS (synthase d'oxyde nitrique endothéliale) et les voies mitochondriales et du réticulum endoplasmique (RE) affectées par les NOX/ERO entraînent également la production d'ERO. Il peut en résulter une hypertension due à des lésions endothéliales, des lésions rénales ou un dysfonctionnement cardiovasculaire. SOD, superoxyde dismutase ; NO, oxyde nitrique ; BH₄, tétrahydrobioptérine.

I.5.1.3 Stress oxydatif, inflammation

L'inflammation et le stress oxydatif sont des processus interconnectés et il existe une relation complexe entre les deux. D'une part, l'inflammation stimule la production des ERO. Par exemple, au cours de la réaction inflammatoire, les cellules immunitaires telles que les macrophages peuvent libérer des ERO pour détruire les agents pathogènes. D'autre part, l'inflammation peut induire l'activité d'enzymes antioxydantes et de facteurs de défense contre le stress oxydatif pour contrer les effets nocifs des ERO. À son tour, le stress oxydatif contribue également à l'inflammation. Les ERO fonctionnent comme des signaux d'alarme pour le système immunitaire, déclenchant l'inflammation (Balan et al., 2024). Les ERO aussi stimulent la voie NF- κ B, un modérateur essentiel de la réponse inflammatoire. Cette activation stimule la transcription de divers médiateurs pro-inflammatoires comme TNF- α , iNOS, COX-2 et IL-1 β . Par ailleurs, les ERO ont également la capacité de modifier directement les molécules lipidiques et protéiques, ce qui perturbe leur structure et leur fonction, intensifiant ainsi la réaction inflammatoire (Balan et al., 2024).

I.5.1.4 Stress oxydatif, syndrome métabolique et altérations cérébrales

I.5.1.4.1 Stress oxydatif, et altérations cérébrales

Les ERO générées dans le cerveau peuvent causer de graves dommages aux neurones, entraînant des pertes de mémoire et des troubles cognitifs. Le stress oxydatif induit par les ERO dans le cerveau a été impliqué dans plusieurs maladies invalidantes, notamment la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, l'autisme et le syndrome de Down. Des expériences *in vitro* ont montré que les astrocytes cérébraux présentent une sensibilité nettement plus élevée au H_2O_2 que les neurones. Ainsi, lors d'une attaque par les ERO, les astrocytes subissent des dommages plus importants **(Hepel & Andreescu, 2015)**

Par rapport à d'autres organes, le système nerveux apparaît comme particulièrement sensible au stress oxydatif. Le cerveau possède un métabolisme oxydatif élevé, pouvant être à l'origine de la production d'une grande quantité d'ERO, puisqu'il utilise 20 % de l'oxygène respiré par l'organisme alors qu'il ne représente que 2% du poids corporel **(Ré et al., 2005)**. De plus, le fer, pouvant catalyser la production d'ERO, est présent en grande quantité dans le cerveau et il est plus particulièrement concentré dans certaines régions, notamment au niveau des ganglions de la base. Le cerveau est également riche en acides gras poly-insaturés, qui sont les cibles de la peroxydation lipidique **(Butterfield et al., 2007)**. Par ailleurs, les niveaux d'activité des enzymes antioxydantes sont beaucoup plus faibles dans le cerveau que dans le foie ou les reins. Ainsi, dans le cerveau, le GSH constituerait la principale ligne de défense contre les ERO. Or, la synthèse du GSH dans les neurones semble dépendre d'échanges métaboliques intenses avec les astrocytes, et l'interruption de l'approvisionnement neuronal en précurseurs gliaux du GSH pourrait affaiblir les défenses antioxydantes des neurones. Enfin, les neurones étant des cellules postmitotiques, ils ne seront généralement pas remplacés, s'ils subissent des dommages irréversibles **(Ré et al., 2005)**.

Les molécules oxydées d'ADN, de protéines et de lipides retrouvées dans le tissu cérébral de patients décédés atteints de troubles neurodégénératifs soulignent le rôle du stress oxydatif dans ces pathologies. Une autre cause de maladies neurodégénératives réside dans une utilisation défectueuse des métaux par le cerveau, due à l'intervention de protéines mutantes, formées à la suite du stress oxydatif **(Leyane et al., 2022)**.

Ainsi que L'utilisation excessive de glucose pour la production d'énergie rend le cerveau particulièrement vulnérable au stress oxydatif, et la chaîne respiratoire mitochondriale en est la principale source d'ERO **(Sharifi-Rad et al., 2020)**.

La majorité des ERO présentes dans le cerveau proviennent des complexes I et III de la chaîne de transport des électrons mitochondriale, en tant que sous-produits de l' O_2 . La MAO constitue également une source importante d'ERO, en particulier dans la maladie de Parkinson. En effet, les principales cibles des ERO produits par les mitochondries sont le pore de transition de perméabilité mitochondriale (MPTP), la poly (ADP-ribose) polymérase (PARP) et l'ADN mitochondrial (Sharifi-Rad et al., 2020).

L'excès de calcium intracellulaire peut, pour une grande part, être séquestré par les mitochondries, mais cette accumulation anormale de calcium va perturber le fonctionnement mitochondrial et notamment la chaîne de transport des électrons, conduisant à une production accrue d'ERO et à une diminution de la synthèse d'ATP. Des ERO sont aussi produits dans le cytoplasme neuronal suite à l'activation excessive d'enzymes calcium dépendantes (Ré et al., 2005).

D'autres sources oxydantes proviennent de la NADPH oxydase, présente dans les astrocytes, la microglie et les neurones, tandis que l'inhibition de la NOS a montré des effets neuroprotecteurs (Leyane et al., 2022). (Figure 12)

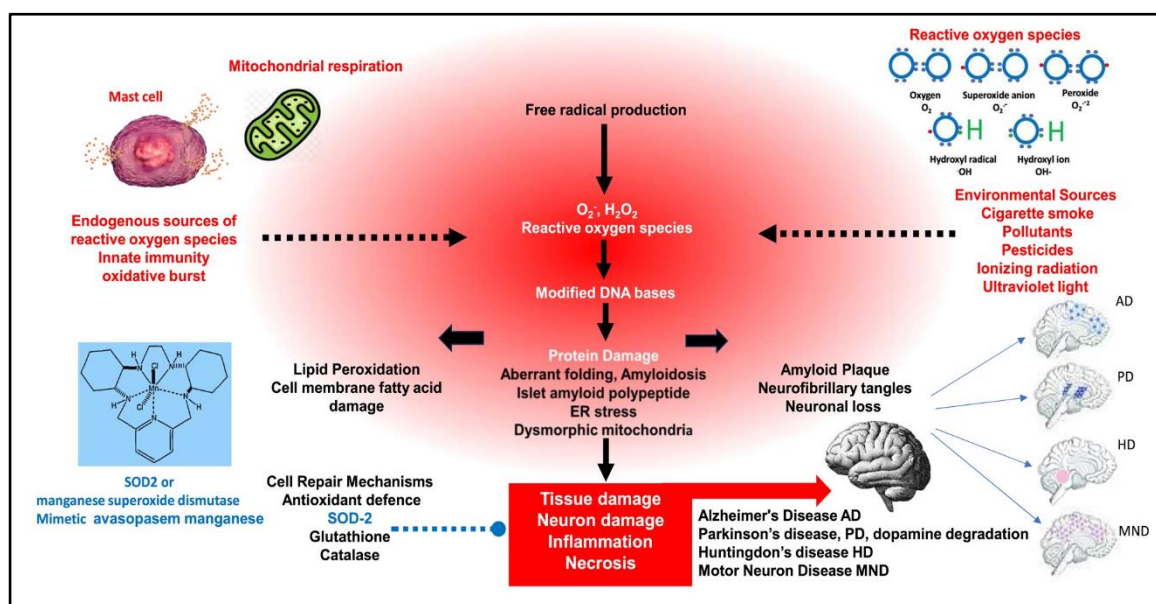


Figure 12: Schéma récapitulatif de rôle du stress oxydatif dans les maladies neurodégénératives (Houldsworth, 2024)

I.5.1.4.2 Implication de syndrome métabolique dans les altérations cérébrales

Le syndrome métabolique altère les fonctions cognitives et favorise le développement de troubles neurodégénératifs par l'induction d'un stress oxydatif, d'une neuroinflammation et d'une insulino-résistance cérébrale. L'inflammation systémique associée à l'obésité et au diabète de type 2 contribue notamment à la rupture de la barrière hémato-encéphalique, entraînant une infiltration accrue de cellules immunitaires, une perturbation de l'homéostasie neuronale et gliale ainsi qu'une altération de l'élimination des déchets métaboliques (**Van Dyken & Lacoste, 2018**).

Bien que les mécanismes moléculaires reliant le syndrome métabolique aux pathologies neurologiques ne soient pas totalement élucidés, les données actuelles suggèrent que les altérations cellulaires et biochimiques caractéristiques du syndrome métabolique — telles que la dysfonction endothéliale, les anomalies du métabolisme des acides gras essentiels, les perturbations des médiateurs lipidiques et les dérèglements de la signalisation de l'insuline et de la leptine — constituent un pont physiopathologique majeur entre dysfonctionnement métabolique périphérique et atteinte cérébrale (**Alzarea et al., 2025**).

Chapitre II
Approches thérapeutiques,
stratégies préventives et
Diagnostic rapide

Chapitre II. Approches thérapeutiques, stratégies préventives et diagnostic rapide

II.1 Anti-oxydants

Le terme « antioxydant » peut être attribué à toute substance dont la disponibilité, même à une concentration infime, inhibe ou retarde l'oxydation d'un substrat. Il existe plusieurs espèces ou molécules, endogènes (synthétisées en interne) ou exogènes (consommées), qui jouent un rôle dans la défense antioxydante et peuvent être considérées comme des biomarqueurs du stress oxydatif (Ngo & Duennwald, 2022).

En effet, ils jouent un rôle essentiel en empêchant l'oxydation, ce qui préserve à la fois la qualité des aliments (saveur, couleur, texture) et protège l'organisme contre les maladies dégénératives. Ils retardent la peroxydation lipidique, limitent la formation de composés toxiques comme le MDA, et protègent les biomolécules (protéines, acides aminés) de l'oxydation, préservant ainsi leur fonctionnalité (Gulcin, 2025).

Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes principaux : les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

II.1.1 Systèmes antioxydants enzymatiques :

II.1.1.1 La superoxyde dismutase (SOD)

Les SOD peuvent être divisées en quatre groupes, avec des cofacteurs métalliques différents. La SOD cuivre-zinc est la plus abondante dans les chloroplastes, le cytosol et l'espace extracellulaire. La SOD au fer se trouve dans le cytosol des plantes et dans les cellules microbiennes, tandis que les SOD au manganèse sont mitochondriales (Ngo & Duennwald, 2022).

La SOD entre également en compétition avec le NO pour l'anion superoxyde. Par conséquent, la SOD réduit aussi indirectement la formation d'un autre ERO délétère, le ONOO (tableau 1 : réaction 2), et augmente la disponibilité biologique du NO, un modulateur essentiel de la fonction endothéliale (Sharifi-Rad et al., 2020).

II.1.1.2 Glutathion peroxydase (GPx) et Reductase (GR)

La GPx est une famille de huit isozymes différentes (GPx1-8). La GPx convertit le peroxyde d'hydrogène ou le peroxyde organique en eau ou en éthanol, en agissant en combinaison avec le GSH, comme le montre la réaction 4 du tableau 1. Dans cette réaction, la GSH s'oxyde en disulfure de glutathion (GS-SG). Le GS-SG est ensuite réduit par le glutathion réductase pour compléter le cycle (Marino et al., 2022).

Tableau 1: Principales propriétés des antioxydants endogènes (Marino et al., 2022)

Les antioxydants endogènes	Types	Principale réaction	Localisation
SOD	Enzymatique	(1) $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$	Cytosolique (SOD1), mitochondriale (SOD2) et extracellulaire (SOD3).
Catalase	Enzymatique	(2) $2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$ (3) $H_2O_2 + H_2R \rightarrow 2H_2O + R$	Principalement dans les peroxysomes, mais aussi dans les cytoplasmes et les mitochondries
GPx	Enzymatique	(4) $2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$	GPx1 est cytosolique, GPx2 extracellulaire, GPx3 dans le plasma, GPx4 nucléaire, mitochondrial et cytosolique.
GST	Enzymatique	conjugaison de la HSG à des substrats xénobiotiques	superfamilles cytosolique, mitochondriale et microsomale
GSH	Noenzymatique	(5) $2GSH + R_2O_2 \rightarrow GS-SG + 2ROH$ (6) $GSH + R^{\bullet} \rightarrow 0.5GS-SG + RH$	intracellulaire (cytosol, nuclei, and mitochondria) and extracellular

II.1.1.3 Glutathione-S-transferase GST

La GST est une famille d'isozymes hétérogènes indépendants du sélénium, qui catalysent la conjugaison du GSH avec des centres électrophiles et détoxifient les composés endogènes (Marino et al., 2022).

II.1.1.4 La Catalase

La catalase humaine est une enzyme caractérisée par un tétramère de quatre chaînes polypeptidiques, présente dans le peroxysome des cellules aérobies, et qui catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire, comme indiqué dans la réaction 2 du tableau. La catalase favorise également l'oxydation des toxines par le peroxyde d'hydrogène, selon la réaction 3 du tableau 1 (Marino et al., 2022).

II.1.2 Systèmes antioxydants non enzymatiques

II.1.2.1 Le glutathion (GSH)

Le GSH est un tripeptide constitué de trois acides aminés (la cystéine, l'acide glutamique et la glycine), et représente l'antioxydant de faible poids moléculaire le plus abondant et le plus important, synthétisé aussi bien par les cellules eucaryotes que procaryotes. Le GSH possède plusieurs fonctions importantes pour la viabilité cellulaire. C'est un antioxydant majeur, soit en interagissant directement avec différents ERO (radical hydroxyle, superoxyde, NO...), soit en tant que cosubstrat de la GPx, soit en régénérant d'autres antioxydants. (Ngo & Duennwald, 2022).

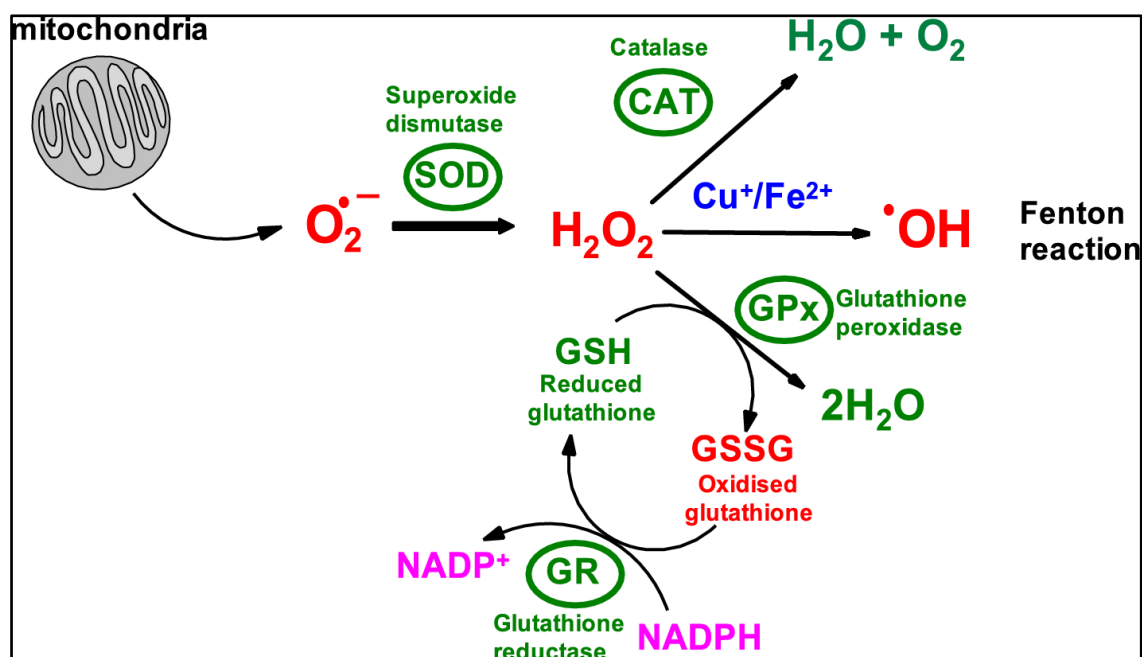


Figure 13: L'action concertée des enzymes antioxydantes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase est essentielle (Jomova & Valko, 2011).

La SOD convertit les anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène. Le niveau physiologique de peroxyde d'hydrogène est ensuite régulé par la catalase. Dans des conditions pathologiques, les métaux rédox (Cu, Fe) peuvent catalyser la formation de radicaux hydroxyles à partir de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (réaction de Fenton). La glutathion peroxydase (GPx) convertit le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en deux molécules d'eau ($2H_2O$) en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme substrat, qui est alors transformé en sa forme oxydée, le glutathion disulfure (GSSG). Le GSSG est reconverti en GSH grâce à l'enzyme glutathion réductase (GR). La réaction catalysée par le glutathion réductase contribue de manière significative au maintien des niveaux cellulaires de glutathion réduit, indispensable à la défense rédox.

II.1.2.2 La N-acétylcystéine (NAC)

L'effet antioxydant de la NAC provient de sa capacité à agir comme précurseur du GSH, un antioxydant direct bien connu et un substrat de plusieurs enzymes antioxydantes. De plus, dans certaines conditions caractérisées par une déplétion importante en cystéine et en GSH

endogènes, la NAC peut agir comme antioxydant direct vis-à-vis de certaines espèces oxydantes telles que NO_2 et HOX (Aldini et al., 2018).

L'activité antioxydante de la NAC peut également résulter de son action sur les protéines thiolées : en rompant les ponts disulfures, elle libère des thiols libres ainsi que des protéines réduites, lesquelles peuvent posséder, dans certains cas - comme pour la mercaptoalbumine - une activité antioxydante directe importante (Aldini et al., 2018). (Figure 14)

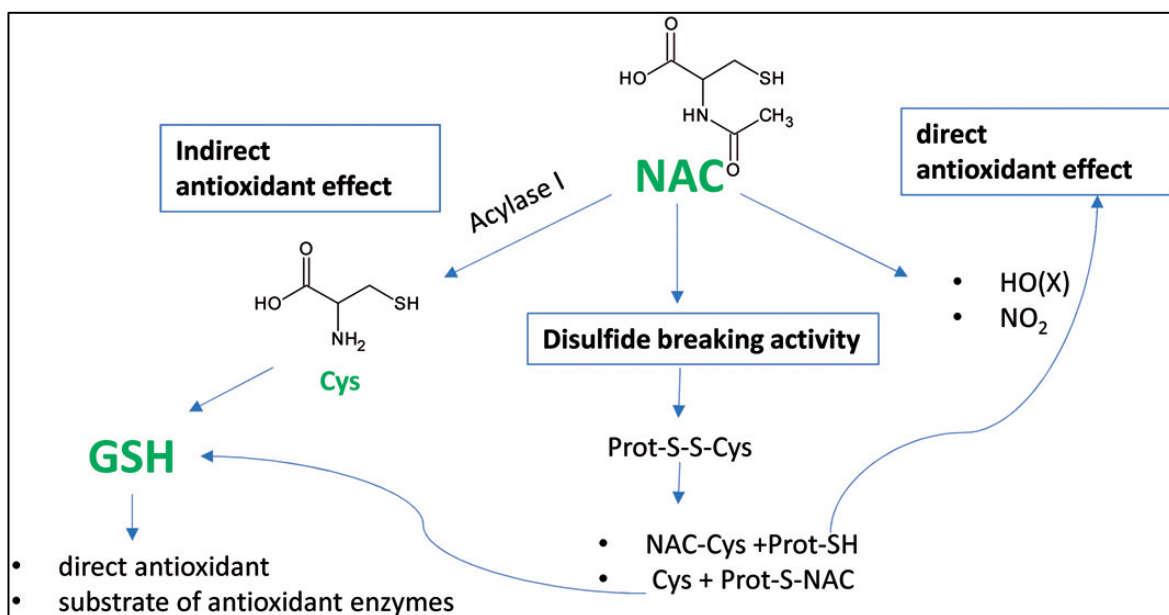


Figure 14: Vue d'ensemble de l'action antioxydante de la NAC (Aldini et al., 2018)

L'effet antioxydant de la NAC repose à la fois sur une activité indirecte (via la synthèse de GSH), une activité antioxydante directe et une capacité à rompre les liaisons disulfures. Son activité indirecte correspond à sa capacité à servir de précurseur du GSH, lequel est un antioxydant direct bien connu et un substrat de plusieurs enzymes antioxydantes.

Lorsque l'état de stress oxydatif épuise les réserves de groupements SH, la NAC peut agir comme piègeur direct de certaines espèces oxydantes, telles que NO(X) et NO_2 . La NAC rompt également les protéines thiolées, libérant ainsi des thiols libres dont l'activité antioxydante est supérieure à celle de la NAC. Ces thiols libres stimulent en outre la synthèse de GSH et de protéines réduites, qui, dans certains cas - comme la mercaptoalbumine - possèdent une activité antioxydante directe importante.

II.1.2.3 Les Vitamines

Les vitamines sont un élément très important du système biologique car elles jouent un rôle important dans différents processus biochimiques. Parmi ces vitamines, les vitamines A, C et E agissent comme des antioxydants en détoxifiant les radicaux libres (Caturano et al., 2023).

La vitamine E est le principal antioxydant liposoluble. Le terme vitamine E englobe différents isomères, l' α -tocophérol étant l'antioxydant le plus efficace, notamment dans la détoxification des radicaux peroxydes et alkoxydes et donc dans la prévention des réactions en chaîne de la peroxydation lipidique (**Jomova & Valko, 2011**).

La vitamine C ou ascorbate est un piègeur de ERO à spectre large, efficace contre les radicaux peroxydes, hydroxydes et superoxyde ainsi que contre le peroxyde d'azote. Bien que l'ascorbate soit hydrosoluble, il est capable de régénérer la vitamine E, ce qui permet de déplacer les ERO de la membrane vers le cytosol et de prévenir la peroxydation lipidique (**Gulcin, 2025**).

II.1.2.4 Les polyphénols and flavonoïdes

Les polyphénols sont des métabolites spécialisés produits naturellement par les plantes et inclus dans divers suppléments. Ces métabolites sont également présents en grandes quantités dans les aliments diététiques, notamment les fruits, le thé, les légumes et les épices (**Leyane, Jere, & Houreld, 2022**). Ce groupe hétérogène de molécules générées par le métabolisme secondaire des plantes est caractérisé chimiquement par des anneaux aromatiques et des fonctions hydroxyle. Plus de 8000 structures phénoliques différentes sont connues et regroupées en phénols, flavonoïdes et tanins (**Marino et al., 2022**).

Les phénols présentent un anneau phénolique et une fonction acide carboxylique organique (**Marino et al., 2022**). Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de polyphénols et on en connaît plus de 2000. Les flavonoïdes peuvent être divisés en plusieurs classes sur la base de leur structure moléculaire, comme les anthocyanes et les anthoxanthines. Ce dernier groupe est divisé en flavonols, flavans, flavanols, flavones et isoflavones, les catéchines étant les flavanols les mieux décrits (**Ramassamy, 2006**).

Les polyphénols sont réputés pour leurs effets bénéfiques sur la santé, comme les anti-inflammatoires, les antioxydants, les piègeurs de radicaux libres et les anti-cancérigènes. En outre, la capacité des composés phénoliques à subir diverses modifications avant d'atteindre les organes cibles peut influencer de manière cruciale leurs propriétés d'aptitude. En outre, il a été démontré que les polyphénols diminuent la destruction de l'ADN induite par le fer en réagissant avec le fer pour former un complexe polyphénol-fer. (**Leyane et al., 2022**).

Parmi les classes de polyphénols les plus abondantes, les flavonoïdes se distinguent par leurs puissantes propriétés antioxydantes. Celles-ci reposent notamment sur leur capacité à inhiber diverses enzymes impliquées dans la production des ERO et à moduler la disponibilité des ions métalliques libres participant aux réactions d'oxydoréduction. En particulier, les flavonoïdes possèdent une aptitude marquée à chélater les ions métalliques rédox, capacité qui est proportionnelle au nombre de groupes hydroxyles présents dans leur structure.

La formation de complexes flavonoïde-métal réduit le nombre de sites métalliques catalytiquement actifs, limitant ainsi leur participation aux réactions de type Fenton responsables de la génération de radicaux hydroxyles hautement réactifs à partir du H_2O_2 . Par ce double mécanisme — inhibition enzymatique et chélation métallique — les flavonoïdes contribuent efficacement à la diminution du stress oxydatif en milieu biologique (Jomova & Valko, 2011 ; Leyane *et al.*, 2022).

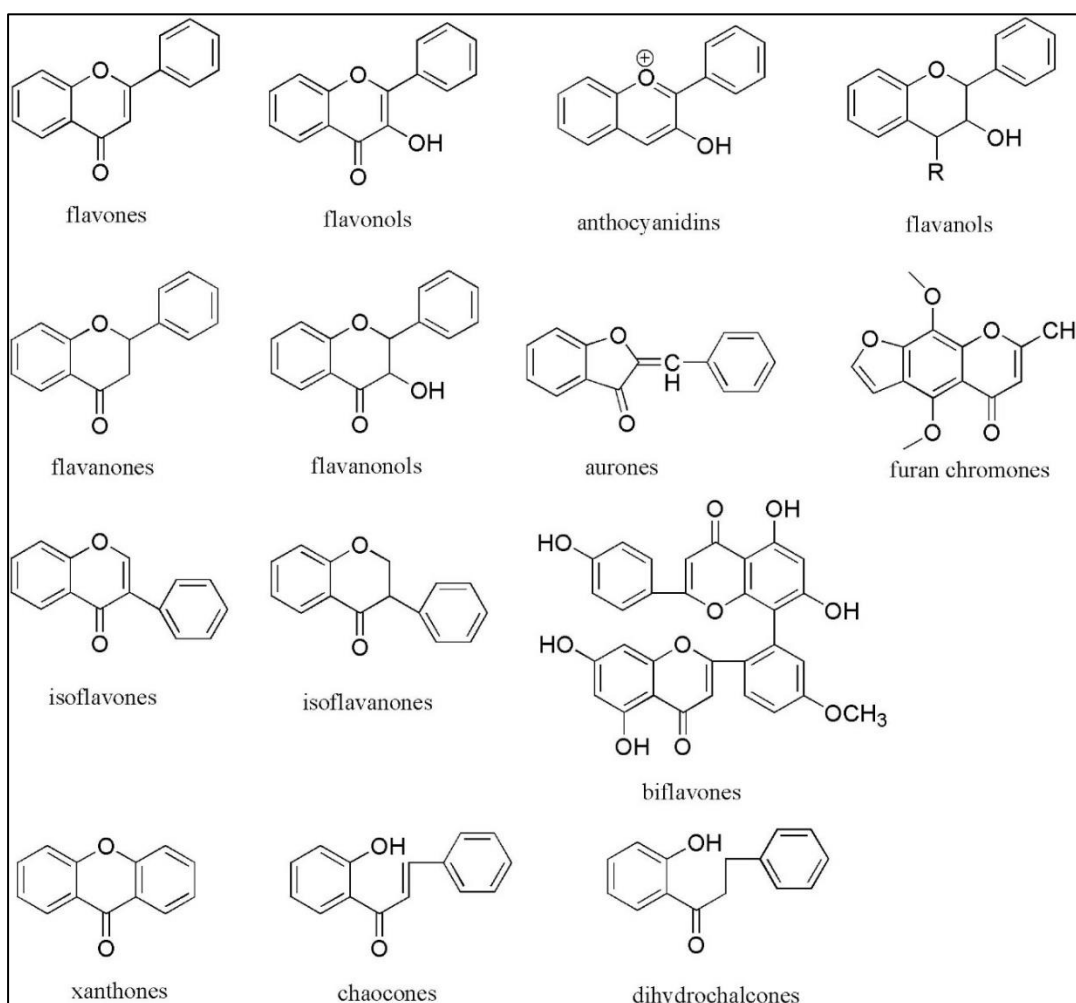


Figure 15: structure chimique des flavonoïdes (Wang *et al.*, 2018).

II.1.2.5 Les probiotique, des antioxydants très puissant

Au cours des dernières années, un nombre croissant d'études ont mis en évidence l'impact majeur du microbiote intestinal sur l'état de santé, montrant que les probiotiques, capables de coloniser le tractus intestinal, peuvent améliorer diverses maladies métaboliques telles que l'obésité et le diabète en modulant la composition et l'activité des micro-organismes intestinaux. Leur rôle dépasse toutefois la seule modulation du microbiote : les probiotiques contribuent également au maintien de l'homéostasie redox de l'hôte par plusieurs mécanismes complémentaires. Ils exercent une activité antioxydante directe en produisant des enzymes (SOD, catalase) et des métabolites tels que le glutathion et les folates, ainsi qu'en piégeant les radicaux libres. De plus, ils peuvent chélater les ions métalliques pro-oxydants, réguler des voies de signalisation impliquées dans la réponse au stress oxydatif et influencer l'activité d'enzymes génératrices d'ERO, renforçant ainsi leur effet protecteur (Wang et *al.*, 2017).

II.1.2.6 Les plantes médicinale, stratégie préventive nutritionnelle

L'intervention diététique a été recommandée pour soulager ou prévenir certains troubles métaboliques. Différents aliments et régimes alimentaires peuvent avoir des impacts différents sur la santé en raison de la diversité de la composition du régime. Au cours des dernières années, le régime méditerranéen a été largement recommandé comme étant sain, car il comprend principalement des aliments d'origine végétale riches en antioxydants. Ces composés sont principalement des substances actives dérivées de l'oxydoréduction, qui stimulent des réactions positives et bénéfiques des cellules en activant un léger stress oxydatif (Jiang et *al.*, 2021).

Les herbes et épices médicinales sont appréciées depuis l'Antiquité pour leurs effets curatifs, ainsi que pour leur saveur et leur arôme. Les bénéfices découlant, entre autres, de la présence d'antioxydants font qu'elles sont encore largement utilisées aujourd'hui, non seulement en médecine mais aussi en cuisine (Ulewicz-Magulska & Wesolowski, 2023).

En effet, les plantes médicinales constituent une source majeure d'antioxydants, produits principalement sous forme de métabolites secondaires qui participent à leur protection contre les dommages induits par les radicaux libres.

Ces composés phytochimiques, définis comme des « produits chimiques végétaux », sont des substances non nutritives mais dotées de multiples propriétés bénéfiques pour la santé humaine, notamment des effets antioxydants et protecteurs contre diverses maladies. Leur activité biologique résulte de la diversité et de la synergie des composés présents, parmi lesquels les phénols, vitamines, oligoéléments et constituants volatils des huiles essentielles. Ces composés exercent des effets physiologiques importants lorsqu'ils sont **consommés** (Nwozo et *al.*, 2023 ; Ulewicz-Magulska & Wesolowski, 2023).

II.1.2.7 La nigelle (*Nigella Sativa* L.) Plante médicinale a effet miraculeux

II.1.2.7.1 Généralité

Nigella Sativa L. (NS) appartient à la famille des Ranunculaceae ; il s'agit d'une plante herbacée annuelle largement cultivée dans les pays méditerranéens, en Asie occidentale, au Moyen-Orient et en Afrique du Sud (Khazdair, 2015). NS est l'une des plantes médicinales les plus importantes, possédant un potentiel thérapeutique face à plusieurs affections médicales. Elle a donc une valeur médicinale considérable, permettant de prévenir ou de traiter différentes maladies et d'améliorer l'état de santé général. NS est une plante annuelle à fleurs cultivée presque partout dans le monde. Elle est connue sous différents noms : graine noire, cumin noir, nigelle, coriandre romaine, fleur de muscade, fleur de fenouil, kalonji, Kalo jeera, Hak Jung Chou et Habbat al-barakah (Alagawany et *al.*, 2021).

Les graines de Nigelle sont de couleur noire et de petite taille, similaires aux graines de sésame, et l'huile et les graines sont utilisées comme compléments alimentaires. Les graines sont ajoutées comme agent aromatisant naturel à certains produits alimentaires, notamment les pâtes, les pâtisseries, le fromage, et les produits de boulangerie (Albakry et *al.*, 2022).

Le nom de genre « nigelle » découle du latin « niger » ou « nigellus » qui signifie noirâtre, se référant à la couleur noire de ses graines. Quant au nom d'espèce « sativa », il signifie « semer » ou « cultiver » car *Nigella Sativa* L. est une variété cultivée spécialement pour ses graines comestibles à usage culinaire comme épice ou à des fins cosmétiques et médicinales (Ghedira, 2006).

II.1.2.7.2 Description botanique

Nigella Sativa L. (Ranunculaceae), ou nigelle cultivée est une plante annuelle herbacée, atteignant 30 à 60 cm de haut. Les fleurs sont petites, à pétales blanchâtres et sépales pétaloïdes et présentent de nombreuses étamines insérées sur le réceptacle. Les feuilles, pennatiséquées et a lobes étroits, sont lancéolées a linéaires et présentent des onglets nectarifères. Les fruits murs, constitués de follicules soudés s'ouvrant par une fente interne, renferment de nombreuses graines de couleur foncée. Les graines, ovoïdes de 2 à 3,5 mm de long, de couleur noir mat, présentent 3 ou 4 angles. La face supérieure est finement granuleuse et réticulée (Ghedira, 2006).

II.1.2.7.3 Systématique botanique

La classification botanique de la NS provient du système établi par Bentham et Hooker. Représentée dans le schéma de la figure 16.

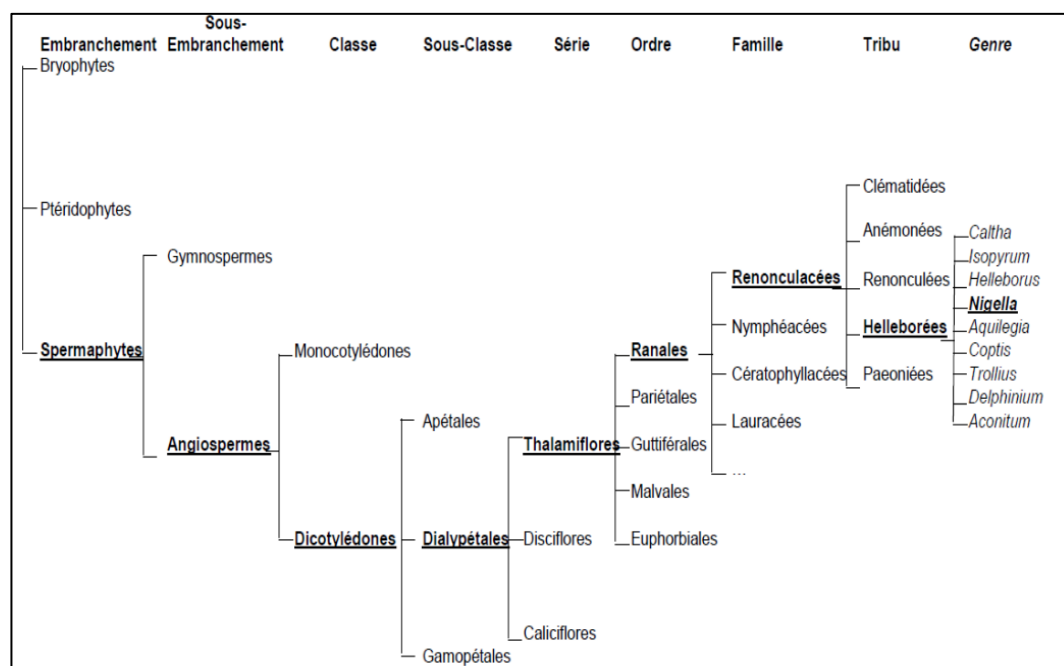


Figure 16: Classification botanique de *Nigella Sativa* L selon Bentham et Hooker (Spichiger & Jeanmonod, 2002)

II.1.2.7.4 Compositions chimiques

Plusieurs composés bioactifs présents dans différentes variétés de NS sont décrits dans la littérature. Il peut exister de légères différences dans sa composition phytochimique, en fonction de la région de culture, du stade de maturité, des méthodes de transformation ou de stockage (Jarmakiewicz-Czaja et al., 2023).

Les graines de cumin noir sont une source importante de glucides, de matières grasses et de protéines. De plus, les graines de cumin noir sont de riches sources de calcium, potassium, phosphore, magnésium, sodium, cuivre, zinc, fer et manganèse (**Albakry et al., 2022**).

Les graines de NS renferment une large variété d'acides aminés, comprenant à la fois neuf acides aminés essentiels - leucine, valine, lysine, thréonine, phénylalanine, isoleucine, histidine, méthionine et tryptophane - ainsi que plusieurs acides aminés non essentiels tels que l'acide glutamique, l'acide aspartique, l'arginine, la glycine, la proline, la sérine, l'alanine, la tyrosine et la cystine. Parmi ceux-ci, l'acide glutamique constitue l'acide aminé le plus abondant dans la nigelle, suivi de l'acide aspartique, de l'arginine, de la leucine et de la glycine. Les graines présentent également des teneurs relativement élevées en alanine, isoleucine, sérine, thréonine et phénylalanine, tandis que la teneur en cystine demeure faible. (**Jarmakiewicz-Czaja et al., 2023 ; Alu'datt et al., 2024**).

Outre leur richesse en acides aminés, les graines de NS contiennent une proportion importante d'acides gras, dominés par les acides gras insaturés **linoléique** et **oléique**, ainsi que par l'acide gras saturé **palmitique**. D'autres acides gras, tels que les acides myristique, palmitoléique, stéarique, linoléique, arachidique et lignocérique, ont également été identifiés dans leur composition. (**Jarmakiewicz-Czaja et al., 2023**).

Par ailleurs, la diversité chimique et les propriétés fonctionnelles des composés volatils présents dans les graines de cumin ont attiré une attention considérable. Les principaux composés aromatiques dans les graines de cumin noir sont la thymoquinone (38,23 %), le p-cymène (28,61 %), le 4-isopropyl-9-méthoxy-1-méthyl-1-cyclohexène (5,74 %), le longifolène (5,33 %), le α -thujène (3,88 %) et le carvacrol (2,31 %), et ces composés ont démontré des propriétés antimicrobiennes et pharmacologiques (**Albakry et al., 2022**).

Les polyphénols constituent une source majeure d'antioxydants naturels, capables de neutraliser les radicaux libres grâce à la présence de plusieurs groupes hydroxyles. Parmi eux, les flavonoïdes représentent la principale catégorie de composés phénoliques présents dans NS. Ils renforcent les défenses immunitaires des muqueuses en piégeant efficacement les ERO, notamment les radicaux superoxydes et hydroxyles. Les flavonoïdes comprennent différentes sous-classes, telles que les flavanols, flavanones, flavones, anthocyanidines, anthocyanes et flavonols, tandis que les composés phénoliques non flavonoïdes regroupent principalement les acides phénoliques, les stilbènes et les lignanes (**Alu'datt et al., 2024**).

De plus, la teneur totale en composés phénoliques de NS a été estimée entre 4,12 et 60,67 mg/g, tandis que la teneur totale en flavonoïdes varie entre 2,01 et 24,45 mg/g, indiquant une richesse notable en molécules antioxydantes. Comme illustré dans la figure 16, les structures chimiques des principales sous-classes de composés phénoliques identifiées dans NS y sont représentées. (Alu'datt *et al.*, 2024)

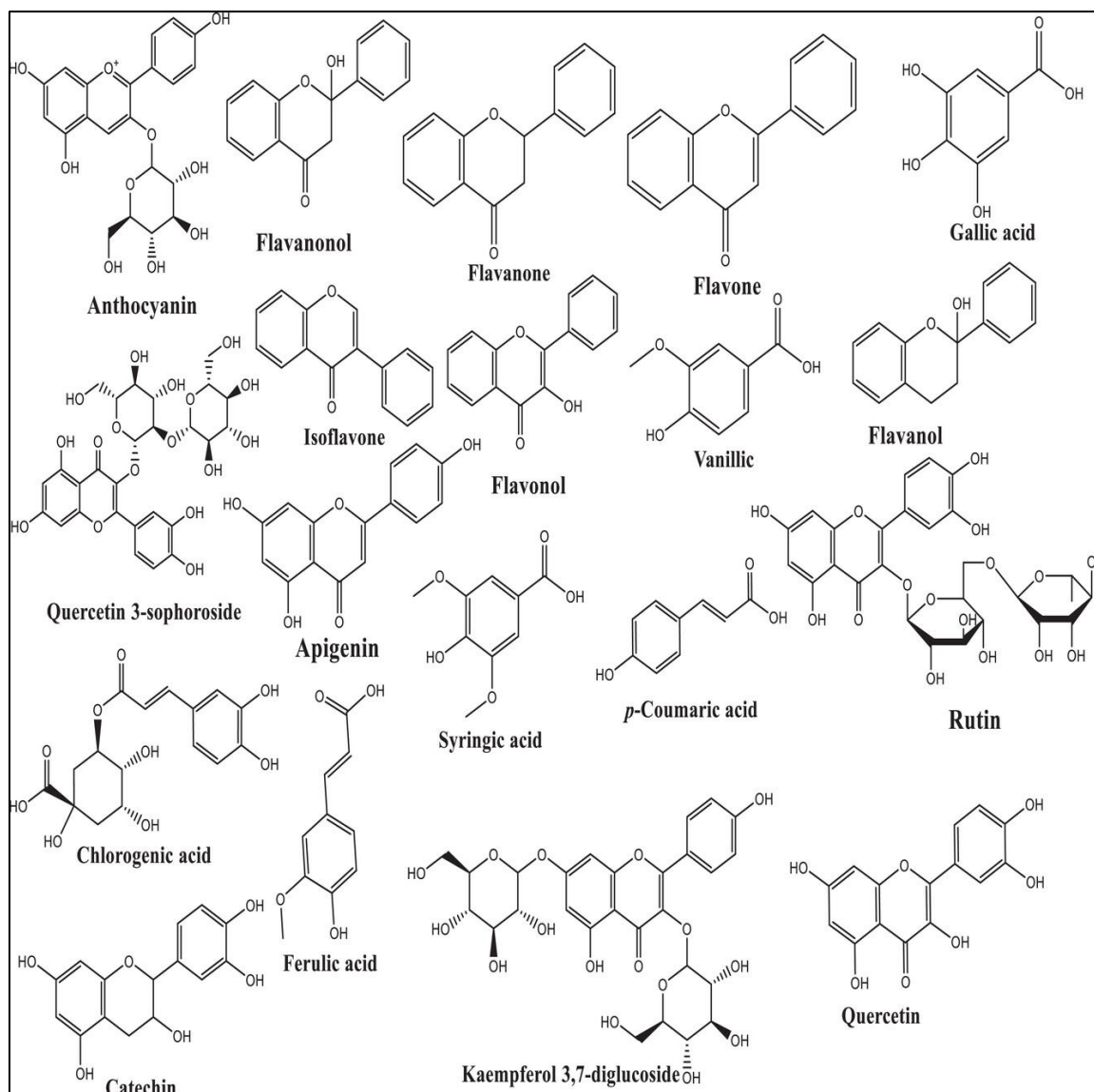


Figure 17: les structures chimiques des principales sous-classes de composés phénoliques identifiées dans NS (Alu'datt *et al.*, 2024)

Tableau 2: Valeur nutritionnelle de *Nigella sativa* L (Alu'datt et al., 2024)

Valeurs nutritives		Vitamines (µg/g)	Minéraux (µg/g)	
Eau (g)	8.1% -11.6%	B1 (Thiamine) 7.35–18,00	Potassium	14,983 - 8080
Cendres	4,20 %	B2 (Riboflavine) 0.425- 1	Fer	8.61-117,320
Protéine totale (g)	19.1% - 26.7%	B3 (niacine) 33.00–97.00	Cuivre	9.45 - 48
Hydrate de carbone (g)	24.9%-40.0%	B6 (Pyridoxine) 4,00–15,003	Sodium	112.4 -2800
Sucre neutre	22,9 %			
Acide glucuronique	17,6 %			
Acide galacturonique	30,2 %			
Lipide totale (g)	21 - 47%	Acide Folique 400–870	Calcium	366.7 -6110
Ac gras Polyinsaturé	57%			
Ac gras Monoinsaturé	21,8 %			
Ac gras Saturé	13,1 %			
Fibre	6.5% - 36.8%		Zinc	40.32 - 67
			Phosphore	1180 - 5430

II.1.2.7.5 Propriétés pharmacologiques

❖ Activité antioxydante

Plusieurs études ont montré que les effets antioxydants de NS sont responsables de ses actions pharmacologiques. Elle contient de nombreux composés antioxydants, notamment la thymoquinone (TQ), le carvacrol, le trans-anéthole et le 4-terpinéol. NS agit comme piègeur de radicaux libres et améliore les composantes non enzymatiques (GSH et vitamine C) ainsi qu'enzymatiques (SOD, CAT, GPX et GST) du système antioxydant. Elle contribue également à la réduction des niveaux élevés de malondialdéhyde (MDA) et de diènes conjugués (Oskouei et al., 2018).

❖ Activité antimicrobienne

L'augmentation alarmante des souches bactériennes résistantes aux agents antimicrobiens existants a conduit à la recherche de stratégies alternatives. Parmi elles, NS est une plante qui contient des quantités importantes de composés phénoliques (p-cymène, carvacrol et thymoquinone), ce qui pourrait expliquer le potentiel antimicrobien de cette plante. La thymoquinone possède un large spectre d'activité antimicrobienne, incluant les bactéries à Gram positif et négatif, ainsi que les parasites, les champignons et les virus (Hosseinzadeh et al., 2007).

Elle a également démontré une activité antifongique contre *Curvularia lunata*, les espèces d'*Aspergillus*, ainsi que contre la levure pathogène *Candida albicans*. La présence de composés biologiquement actifs tels que l' α -phélandrène, l' α -thuyène, le limonène, le 2(1H) -naphthalenone, la thymoquinone, l' α -pinène et la myristicine contribue à l'activité antimicrobienne de NS. (Alagawany et al., 2021)

Le carvacrol et le p-cymène sont deux composés bioactifs pouvant agir comme inhibiteurs puissants des pompes d'efflux chez les souches de *Staphylococcus aureus* (Alagawany et al., 2021).

❖ Activité antidiabétique

De nombreuses études ont été menées sur le potentiel antidiabétique des graines de NS et ont démontré son efficacité contre le diabète en réduisant les niveaux de glucose sanguin par plusieurs mécanismes. NS et son principal constituant la TQ, maintiennent l'intégrité des cellules β . La thymoquinone contribue également à l'amélioration du taux d'insuline, entraînant ainsi une diminution significative du glucose sanguin et des niveaux d'hémoglobine glyquée (Tanwar et al., 2021).

De plus les composants bioactifs de NS favorisent la sécrétion d'insuline en protégeant l'intégrité des cellules bêta pancréatiques ou en soutenant leur régénération/prolifération partielle (Alu'datt et al., 2024).

❖ Activité cardioprotectrice

Le principe actif la TQ des graines de nigelle réduit le cholestérol total, les TG et les LDL, tout en augmentant le cholestérol HDL. Il a été démontré que les graines de NS diminuent également la pression artérielle systolique induite par le carburant moteur, l'IL-6, les leucocytes et l'activité de la superoxyde dismutase plasmatique (Tanwar et al., 2021).

NS et ses constituants actifs ont été documentés pour leurs propriétés antioxydantes, hypotensives, de blocage des canaux calciques et diurétiques, qui peuvent contribuer à la réduction de la pression artérielle. Cela suggère un rôle potentiel de NS dans la prise en charge de l'hypertension (Leong et al., 2013).

❖ Activité neuroprotectrice

NS a été largement utilisée dans le traitement de divers troubles du système nerveux tels que la maladie d'Alzheimer, l'épilepsie et la neurotoxicité (Khazdair, 2015). Selon différentes études, il semble que NS puisse avoir des effets sur le système nerveux et les maladies qui y sont associées.

Les résultats de plusieurs recherches ont montré que cette plante peut améliorer les troubles de la mémoire, l'ischémie, l'anxiété, la dépression, la psychose, l'épilepsie, la neurotoxicité, la neurodégénérescence et la douleur (**Tavakkoli & Hosseinzadeh, 2020**).

La plupart des propriétés thérapeutiques de cette plante sont attribuées à la présence de certains composés phénoliques, en particulier la TQ (**Khazdair, 2015**). En effet la TQ montre des fonctions émergentes dans divers modèles animaux de troubles neurologiques et de maladies psychologiques (Tavakkoli & Hosseinzadeh, 2020).

❖ Effets anti-inflammatoires et analgésiques

NS a démontré de puissants effets anti-inflammatoires dans plusieurs modèles expérimentaux d'inflammation, notamment l'encéphalomyélite, la colite, la péritonite, l'œdème et l'arthrite, par la suppression des médiateurs inflammatoires (prostaglandines et leucotriènes) (**Tavakkoli & Hosseinzadeh, 2020 ; Alagawany et al., 2021**).

Les études suggèrent que NS peut renforcer durablement les réponses immunitaires humaines. Elle peut augmenter la réponse immunitaire médiée par les cellules T, moduler les fonctions des cellules dendritiques et réduire l'immunité médiée par les cellules B. En tant qu'agent anti-inflammatoire et immunomodulateur, elle supprime les médiateurs inflammatoires, les leucotriènes, les prostaglandines et la réponse immunitaire médiée par les cellules B, tout en équilibrant le ratio Th1/Th2 et en renforçant les réponses immunitaires médiées par les cellules T et les cellules NK (**Tavakkoli & Hosseinzadeh, 2020**).

L'activité analgésique et anti-inflammatoire exercée par NS est attribuée à son activité de piégeage des radicaux libres ainsi qu'à son interaction avec plusieurs cibles moléculaires impliquées dans l'inflammation, principalement des enzymes et des cytokines pro-inflammatoires (**Alagawany et al., 2021**).

❖ Effets sur le système gastro-intestinal antidiabétique et hépatoprotecteur

Les études portant sur NS ont confirmé ses effets thérapeutiques potentiels. L'un des effets les plus importants est son activité hépatoprotectrice, mise en évidence dans de nombreux travaux de recherche (**Mollazadeh & Hosseinzadeh, 2014**).

Par ailleurs, NS exerce également un effet protecteur au niveau gastro-intestinal : le cumin noir peut améliorer le statut antioxydant en augmentant la teneur en mucine de la muqueuse gastrique (**Oskouei et al., 2018**).

En plus de ses effets sur le foie et la muqueuse gastrique, NS agit également sur d'autres organes impliqués dans le métabolisme, notamment le pancréas. Les effets multidirectionnels de NS concernent principalement la fonction endocrine du pancréas (Jarmakiewicz-Czaja et *al.*, 2023).

II.1.2.7.6 Toxicité de *Nigella Sativa* L.

Les études toxicologiques montrent que NS présente une bonne tolérance générale et une toxicité faible, tant chez l'animal que chez l'humain. Chez la souris, la TQ affiche une DL50 de 2,4 g/kg, et des doses très élevées ($\geq 2-3$ g/kg) peuvent provoquer une hypoactivité, des difficultés respiratoires ainsi qu'une diminution du glutathion dans les organes vitaux. Les extraits aqueux deviennent toxiques uniquement à des doses massives ($\geq 6,4$ g/kg), tandis que l'huile fixe possède une DL50 orale de 28,8 ml/kg, indiquant une toxicité faible dans les conditions normales d'utilisation.

Chez l'humain, les données cliniques confirment la sécurité d'emploi aux doses courantes. La consommation de 1 à 3 g/jour de graines pendant plusieurs semaines ou mois n'entraîne aucun effet indésirable mesurable : les fonctions hépatiques (ALT, AST), rénales (créatinine, urée), ainsi que les paramètres hématologiques (leucocytes, plaquettes) restent stables. L'administration d'extraits de nigelle à 200–400 mg/jour ou d'un thé contenant 5 g/jour de graines est également bien tolérée, avec même une amélioration des marqueurs hépatorénaux chez des patients diabétiques ou hypertendus.

En résumé, NS est considérée comme sûre aux doses traditionnelles (1–3 g/jour), tandis que les effets toxiques n'apparaissent qu'à des doses très élevées, bien supérieures aux usages alimentaires ou thérapeutiques habituels. (Tavakkoli et *al.*, 2017 ; Yimer et *al.*, 2019).



Figure 18: Effets antioxydants de *Nigella sativa* et de la thymoquinone sur différents systèmes corporels

II.2 Biocapteur pour l'analyse biomédicale

II.2.1 Introduction

Le développement des biocapteurs est un domaine de recherche très actif car il ouvrira la voie à de nouvelles méthodes de détection aux caractéristiques améliorées (meilleure sensibilité, détection sans étiquette, meilleure sélectivité...) et parce qu'il peut avoir un large éventail d'applications, en particulier dans le domaine médical, comme le diagnostic, le pronostic ou le suivi des maladies. Différentes technologies électrochimiques, optiques et mécaniques ont été développées avec succès pour détecter des agents biologiques, tels que des toxines microbiennes et des agents pathogènes (Cottat *et al.*, 2015).

Au cours des dernières décennies, ces dispositifs ont fait l'objet d'une attention considérable dans le cadre de la détection d'une large gamme d'analytes, notamment le glucose, le peroxyde d'hydrogène, les acides nucléiques, les protéines, les polluants de l'environnement, ... La grande sensibilité de ces dispositifs, associée à leur compatibilité avec les technologies modernes de microfabrication, leur portabilité, leur faible coût (jetabilité) et leur faible consommation d'énergie, en fait d'excellents candidats pour la fabrication de dispositifs d'analyse au point d'intervention pour des applications biologiques et environnementales (Shiddiky & Torriero, 2011).

Le premier biocapteur inventé par Clark et Lyons (1962) pour mesurer le glucose dans des échantillons biologiques utilisait la stratégie de détection électrochimique de l'oxygène ou du peroxyde d'hydrogène à l'aide d'une électrode de glucose oxydase immobilisée. Depuis lors, des progrès incroyables ont été réalisés tant au niveau de la technologie que des applications des biocapteurs, avec des approches innovantes impliquant l'électrochimie, la nanotechnologie et la bioélectronique. En effet une nouvelle tendance s'est dessinée en faveur du développement de réseaux de biocapteurs multianalytes (**Goode et al., 2015**). L'analyse de biomarqueurs multiples peut, en principe, apporter une plus grande certitude dans le diagnostic (**Vigneshvar et al., 2016**). La description systématique d'un biocapteur doit comporter cinq caractéristiques :

- (1) le paramètre détecté ou mesuré,
- (2) le principe de fonctionnement du transducteur,
- (3) le modèle physique et chimique : biochimique,
- (4) l'application
- (5) la technologie et les matériaux utilisés pour la fabrication du capteur.

II.2.2 Définition

Le terme « biocapteur » est l'abréviation de « capteur biologique ». Qu'est un dispositif analytique composé d'un élément biologique (ou bioélément) et d'un transducteur. Le bioélément interagit spécifiquement avec l'analyte, et le transducteur convertit cette interaction en un signal quantifiable, généralement électrique. Le biocapteur est un type particulier de dispositif bioélectronique couramment utilisé dans l'analyse biologique. Un biocapteur peut être considéré comme « l'élément primaire d'une chaîne de mesure, qui convertit la variable d'entrée en un signal adapté à la mesure (**Akkaş et al., 2025**). »

La majorité des biocapteurs actuels peuvent être classés selon quatre principes différents : la bioaffinité, la catalyse, les capteurs transmembranaires et les capteurs cellulaires. La partie active de la plupart des capteurs transmembranaires et cellulaires est généralement basée sur les principes d'affinité ou de catalyse (**Ziegler & Göpel, 1998**).

Principe de fonctionnement

Le principe de fonctionnement d'un biocapteur est basé sur trois étapes :

- La reconnaissance.
- La détection.
- Le traitement du signal.

Les biocapteurs sont des dispositifs constitués généralement de trois éléments : un bio-récepteur, un transducteur physico-chimique, et une unité de traitement du signal. Le bio-récepteur assure la reconnaissance spécifique de l'analyte via un mécanisme biochimique, et le transducteur convertit cette interaction en un signal quantifiable (**Thévenot et al., 2001**). Les bioéléments peuvent inclure des cellules, enzymes, anticorps ou acides nucléiques, qui sont immobilisés et intégrés au transducteur par adsorption, liaison covalente ou liaison croisée (**Kaur et al., 2018**).

Selon le type de capteur, la liaison entre l'analyte et le bioélément peut générer directement un signal mesurable (capteur d'affinité) ou provoquer une réaction chimique produisant des variations détectables en chaleur, électrons, gaz ou ions, converties en signal électrique par le transducteur (**Karunakaran et al., 2015**). Ces dispositifs permettent ainsi de mesurer de manière sensible les propriétés biochimiques et biophysiques du milieu, en transformant l'interaction biologique en un signal exploitable.

II.2.3 Structure du biocapteur

Un biocapteur est constitué de cinq éléments principaux et d'un module complémentaire appelé médiateur :

- ❖ Analyte : Substance d'intérêt à détecter, telle que le glucose, l'ammoniac, l'alcool ou le lactose.
- ❖ Biorécepteur : Biomolécule ou élément biologique capable de reconnaître spécifiquement l'analyte (ex. : enzymes, cellules, aptamères, ADN/ARN, anticorps). L'interaction analyte–biorécepteur génère un signal biologique (lumière, chaleur, pH, charge, masse ou produit métabolique) appelé bioréognition.
- ❖ Transducteur : Dispositif clé qui convertit l'événement de bioréognition en un signal mesurable, généralement électrique ou optique. Selon leur principe, les transducteurs peuvent être électrochimiques, optiques, thermiques, électroniques ou gravimétriques.
- ❖ Électronique : Le signal transduit est amplifié, traité et converti en forme numérique pour l'interprétation.
- ❖ Affichage : Système qui interprète et présente les résultats à l'utilisateur sous forme numérique, graphique ou tabulaire (**Naresh & Lee, 2021**).

- ❖ Médiateur : Biomolécule de faible poids moléculaire facilitant le transfert d'électrons entre le site actif des enzymes et la surface de l'électrode, augmentant ainsi l'efficacité et la stabilité des réactions d'oxydoréduction et réduisant les interférences.

Ce système intégré permet de mesurer de manière sensible et spécifique les propriétés biochimiques et biophysiques du milieu, transformant l'interaction biologique en signal exploitable. (Noori & Abdulameer, 2023)

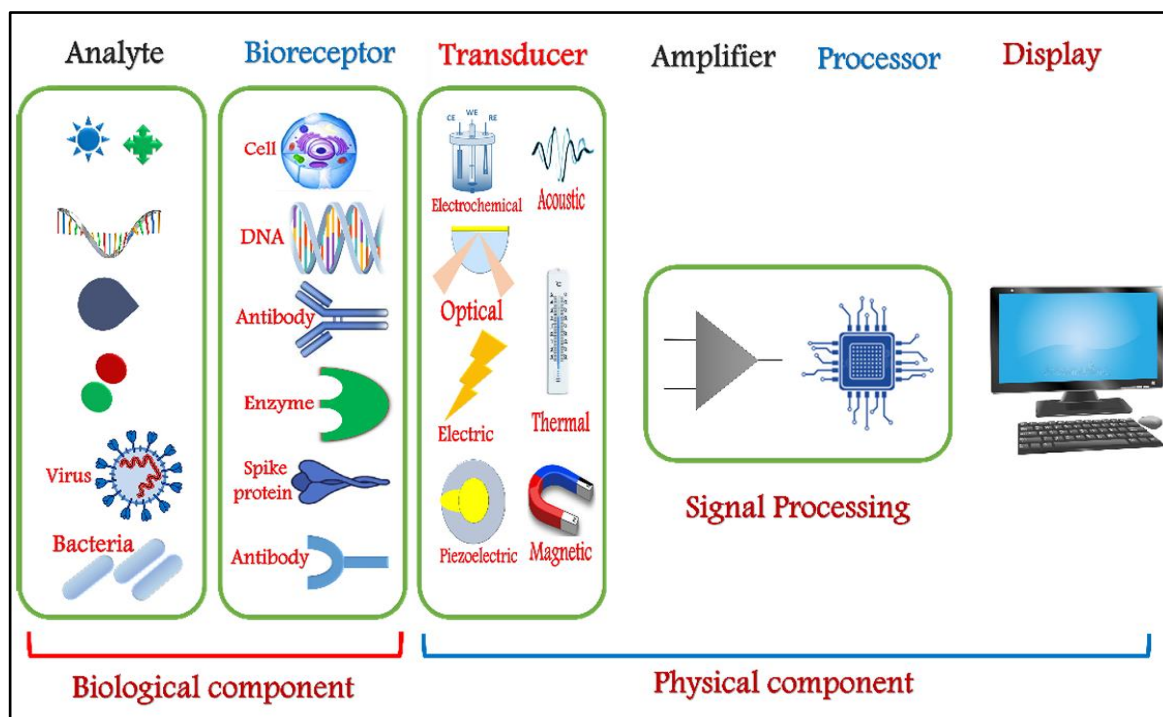


Figure 19: Structure du biocapteur (Noori & Abdulameer, 2023)

II.2.4 Classification des biocapteurs

Le biocapteur se compose de trois éléments principaux : un biorécepteur, un transducteur et un système de traitement du signal. Les biocapteurs peuvent être classés en fonction de leur biorécepteur ou de leur type de transducteur (Karunakaran *et al.*, 2015).

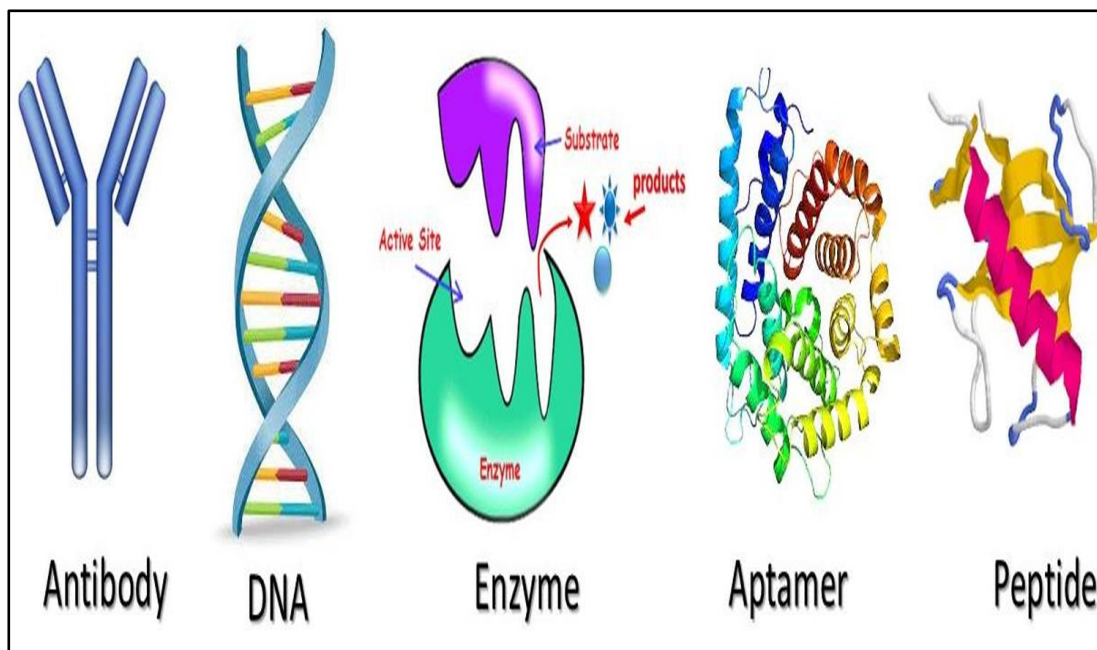


Figure 20: Types de biorécepteurs (Noori & Abdulameer, 2023)

II.2.4.1 Récepteur : élément de reconnaissance biologique

Les biorécepteurs sont obtenus à partir de systèmes naturels tels que les acides nucléiques, les anticorps, les organites, les enzymes et les cellules entières. Bien que les biorécepteurs soient abondants, certaines restrictions limitent leur utilisation, comme leur coût élevé, leurs mécanismes complexes, leur faible stabilité et parfois leur inadaptation. C'est pourquoi des méthodes alternatives sont utilisées pour éliminer ces limitations en synthétisant des biorécepteurs tels que les aptamères et les polymères à empreintes moléculaires. Les capteurs biologiques sont divisés en deux types : les capteurs catalytiques et les capteurs d'affinité (Noori & Abdulameer, 2023).

II.2.4.2 Type de biorécepteur

II.2.4.2.1 Élément de reconnaissance biocatalytique

Dans ce cas, le biocapteur est basé sur une réaction catalysée par des macromolécules qui sont présentes dans leur environnement biologique d'origine, qui ont été isolées précédemment ou qui ont été fabriquées. Ainsi, une consommation continue de substrat(s) est réalisée par le biocatalyseur immobilisé incorporé dans le capteur : les réponses transitoires ou à l'état stable sont surveillées par le détecteur intégré. Trois types de biocatalyseurs sont couramment utilisés :

- a. Les enzymes

Les biocapteurs enzymatiques (mono- ou multi-enzyme), le système de reconnaissance le plus courant et le plus développé reposent sur la conversion catalytique d'un substrat indétectable en un produit électrochimiquement mesurable ou inversement. Les réactions enzymatiques génèrent des signaux détectables, tels que O₂, CO₂ ou ions, mesurés via un transducteur couplé à l'enzyme immobilisée. Les principales enzymes utilisées sont les oxydoréductases et les hydrolases (**Alhadrami, 2018**).

b. Cellules entières

Les biocapteurs cellulaires utilisent des cellules vivantes comme éléments de détection biospécifiques (micro-organismes, tels que bactéries, champignons, cellules eucaryotes ou levures) ou organites ou particules cellulaires (mitochondries, parois cellulaires). Ces cellules réagissent aux conditions microenvironnementales intracellulaires et extracellulaires et produisent un signal. Les protéines cellulaires peuvent également servir de biorécepteurs pour reconnaître des analytes spécifiques. Ce type de capteur présente l'avantage d'une interaction biologique naturelle mais est limité par la sélectivité, la durée de vie cellulaire et la biocompatibilité (**Kaur et al., 2018**).

c. Les tissus végétaux ou animaux

Les tissus entiers peuvent servir de bioéléments avec un minimum de préparation. Ils contiennent de nombreuses enzymes et sont moins sensibles aux dommages que les enzymes purifiées, ce qui confère aux capteurs une longue durée de vie (**Noori & Abdulameer, 2023**).

d. Récepteurs membranaires

Les dispositifs utilisant des récepteurs membranaires font face à des défis techniques liés à l'immobilisation de membranes biologiques sans perte d'activité et à l'isolation électrique vis-à-vis du transducteur.

Les membranes lipidiques artificielles (BLM) ou phospholipidiques sont employées pour reconstituer les récepteurs naturels. Les obstacles incluent la stabilité à long terme, l'absence de défauts minimisant les fuites et la capacité de réservoir pour les ions et molécules (**Ziegler & Göpel, 1998**).

II.2.4.2.2 Élément de reconnaissance de biocomplexage ou de bioaffinité

Le biocapteur fonctionne par **interaction spécifique** entre l'analyte et des macromolécules ou assemblages moléculaires organisés, isolés de leur environnement biologique d'origine ou synthétisés artificiellement.

L'équilibre de cette interaction est généralement atteint sans consommation nette de l'analyte par le bioélément immobilisé. Les réponses à l'équilibre ou transitoires sont ensuite détectées et quantifiées par le **transducteur intégré**, et, dans certains cas, la réaction de biocomplexage peut être modulée par une réaction biocatalytique complémentaire. (Thévenot et *al.*, 2001).

a. Interaction anticorps-antigène (**immunocapteurs**)

Les immunocapteurs reposent sur la liaison spécifique d'un antigène (Ag) à un anticorps (Ac) particulier, souvent immobilisé sur un support solide. Cette interaction permet une détection hautement **sensible et sélective**. Des étiquettes enzymatiques peuvent être couplées aux Ac ou Ag pour augmenter la sensibilité. La conception d'anticorps recombinants permet également d'améliorer l'affinité et la spécificité (Thévenot et *al.*, 2001 ; Alhadrami, 2018 ; Naresh & Lee, 2021).

Les protéines sont les biocapteurs de protéines non catalytiques reposent sur la capacité des protéines, de la membrane cellulaire à agir comme des récepteurs. Ces récepteurs permettent la transduction du signal de liaison à travers la membrane, soit par des récepteurs métabotropiques (c'est-à-dire la sécrétion d'enzymes), soit par des récepteurs ionotropiques (Alhadrami, 2018) .

b. Aptamères ADN

Les biocapteurs à ADN utilisent l'hybridation de l'ADN simple brin pour reconnaître des séquences complémentaires. Les aptamères, petites séquences d'ADN ou d'ARN (~100 nucléotides), se replient en structures 3D distinctives et se lient sélectivement à diverses cibles, y compris protéines, bactéries, virus, petites molécules et ions.

Comparés aux anticorps, les aptamères offrent une grande stabilité, spécificité, affinité élevée et peuvent être modifiés chimiquement pour répondre aux besoins de détection spécifiques (Zhang et *al.*, 2000 ; Cottat et *al.*, 2015 ; Alhadrami, 2018 ; Naresh & Lee, 2021).

II.2.4.3 Transduction du signal

Les biocapteurs peuvent être classés selon les méthodes de transduction du signal en quatre catégories : les capteurs électrochimiques, les capteurs thermiques, les capteurs optiques et les capteurs sensibles à la masse. Les biocapteurs électrochimiques sont rentables, portables, très sensibles et compatibles avec les technologies modernes de microfabrication (Alhadrami, 2018)

II.2.4.3.1 Modes de transduction :

Le transducteur convertit les événements de biorecognition en signaux mesurables. Ces signaux peuvent être électrochimiques (potentiométrie, conductométrie, impédimétrie, ampérométrie, voltampérométrie), optiques (colorimétrie, fluorescence, luminescence, interférométrie), calorimétriques (thermistance), de masse (piézoélectrique, ondes acoustiques) ou magnétiques. Parmi eux, les transducteurs électrochimiques sont particulièrement utilisés pour les dispositifs de point de soins en raison de leur portabilité, simplicité, coût réduit et facilité d'utilisation, souvent avec des dispositifs jetables. (Karunakaran et *al.*, 2015).

Le choix du transducteur influence la technique de régénération d'un biocapteur. La silice (SiO_2), souvent sous forme de verre, est fréquemment utilisée en raison de sa robustesse chimique et de sa capacité à supporter des régénérations à pH élevé. Sa surface plane à l'échelle microscopique facilite le lavage des tampons de régénération, tandis que son inertie chimique empêche toute réaction indésirable avec le tampon, assurant ainsi une régénération efficace et répétée du capteur (Kaur et *al.*, 2018).

Dans cette étude, nous nous intéresserons spécifiquement aux biocapteurs électrochimiques.

II.2.4.3.2 Biocapteurs électrochimiques

Un biocapteur électrochimique est un dispositif autonome intégrant un élément de reconnaissance biologique en contact direct avec un transducteur électrochimique, généralement une électrode (Thévenot et *al.*, 2001 ; Karunakaran et *al.*, 2015). Ces biocapteurs détectent et mesurent les réactions d'oxydation-réduction, convertissant directement un événement biologique en signal électrique. Ils offrent une haute sensibilité, sélectivité et capacité de détection, ce qui les rend adaptés à l'analyse quantitative ou semi-quantitative d'analytes biologiques ou chimiques (Karunakaran et *al.*, 2015).

II.2.4.3.2.1 Principe des biocapteurs électrochimiques

Les biocapteurs électrochimiques mesurent le courant produit par les réactions d'oxydation et de réduction. Ce courant produit peut-être corrélé à la concentration de l'espèce électroactive présente ou à son taux de production/consommation. Le signal électrique qui en résulte est lié au processus de reconnaissance de la cible et de l'analyte et est proportionnel à la concentration de l'analyte. Selon la nature des changements électrochimiques détectés au cours d'un événement de biorecognition, les biocapteurs électrochimiques sont classés en cinq types : ampérométrie, potentiométrie, voltampérométrie, impédimétrie et conductométrie (**Karunakaran et al., 2015**).

❖ Les biocapteurs à base des liquides ioniques

Ces dernières années, la fabrication et l'application de couches de détection électrochimiques à base de liquide ionique ont fait l'objet d'un développement important, avec des applications potentiométriques (voltampérométriques, ampérométriques et par microbalance à quartz (**Shiddiky & Torriero, 2011**)).

Les liquides ioniques (LIs) peuvent être communément décrits comme des composés entièrement constitués d'ions qui sont liquides à une température inférieure à 100°C. Il s'agit toutefois d'une définition arbitraire utilisée pour distinguer les LIs des sels fondus classiquement bien connus. La distinction arbitraire entre les sels fondus et les LIs à une température de fusion de 100°C a été justifiée par l'amélioration soudaine de la gamme d'applications pour les sels liquides en dessous de cette température (**Shiddiky & Torriero, 2011**).

Les cations les plus couramment utilisés sont ceux qui contiennent de l'imidazolium, du pyridinium, du phosphonium, du pyrrolidinium, du tétraalkylphosphonium, du tétraalkylammonium et du trialkyl-sulfonium, qui peuvent se combiner avec des ions tels que l'hexafluorophosphate de tétrafluoroborate, le phosphate de trifluorotris(pentafluoroéthyle), le thiocyanate, le dicyanamide, le sulfate d'éthyle et l'amide de bis(trifluorométhylsulfonyl) (**Shiddiky & Torriero, 2011**).

Les LI et leurs matériaux composites ont été largement utilisés dans divers domaines. Grâce à leurs propriétés exceptionnelles, notamment leur stabilité thermique et chimique, leur volatilité négligeable, leur large fenêtre électrochimique et leur conductivité ionique élevée. Ces caractéristiques favorisent leur utilisation dans divers domaines électrochimiques, telles que l'électrocatalyse, l'électrosynthèse, l'électrodéposition, les dispositifs électrochimiques et les capteurs. Outre les applications dans les capteurs électrochimiques, les LI ont également été utilisés dans les biocapteurs en raison de leur biocompatibilité (Wang & Hao, 2016).

En tant qu'électrolytes, les LI présentent une conductivité ionique compétitive par rapport aux électrolytes organiques conventionnels, tout en offrant une très faible pression de vapeur, ce qui renforce leur attractivité pour les dispositifs électrochimiques (Shiddiky & Torriero, 2011).

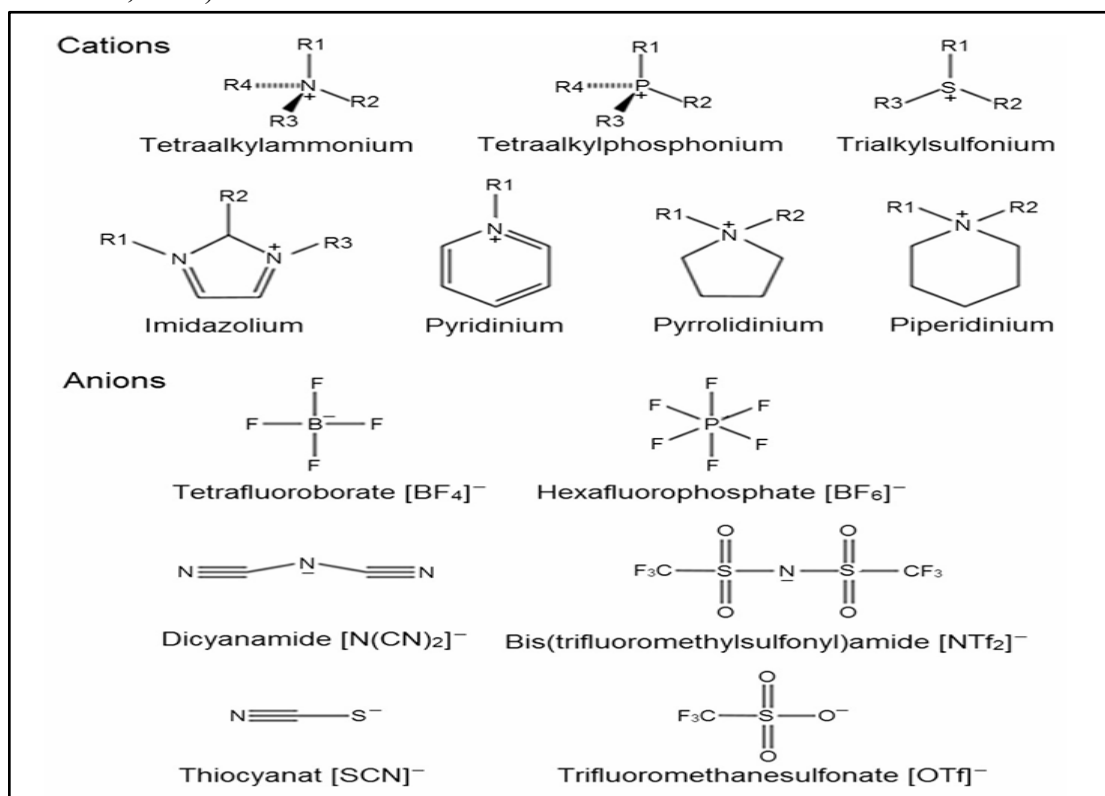


Figure 21: Structures et nomenclatures typiques des cations et anions utilisés pour les liquides ioniques (Wang & Hao, 2016)

Les liquides ioniques (LI) suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés électrochimiques remarquables, qui favorisent leur intégration dans la conception de dispositifs électrochimiques, notamment les capteurs et biocapteurs.

Dans le domaine électroanalytique, leurs applications se déclinent principalement selon deux approches : (i) leur utilisation directe en tant qu'électrolytes et (ii) leur incorporation dans des matériaux composites destinés à la modification de surface des électrodes (**Wang & Hao, 2016**).

L'un des atouts majeurs des LIs réside dans la possibilité d'ajuster leurs propriétés physicochimiques en modulant la nature des cations et des anions. Leur viscosité relativement élevée leur confère également un rôle de liant efficace à la surface des électrodes, permettant l'immobilisation stable de biomolécules sensibles. Toutefois, l'impact de cette viscosité sur les phénomènes de transport de masse doit être pris en considération lors de la conception des systèmes électrochimiques (**Shiddiky & Torriero, 2011**).

Par ailleurs, la biocompatibilité des LIs constitue un avantage déterminant pour les applications biosensorielles. Ils présentent une interaction favorable avec diverses biomolécules, notamment les enzymes, et peuvent même potentialiser leur activité catalytique, améliorant ainsi la sensibilité et les performances analytiques des dispositifs (**Wang & Hao, 2016**).

II.2.5 Techniques d'immobilisation dans les biocapteurs

Pour concevoir la partie bioreconnaissance d'un biocapteur, il est nécessaire d'immobiliser les éléments biologiques à la surface du transducteur. L'un des aspects essentiels de la préparation du capteur est la sélection de la technique d'immobilisation appropriée. En effet, après l'immobilisation, l'élément/molécule de bioreconnaissance risque d'être inactivé ou lessivé. Les biomolécules doivent être capables de préserver leur structure, leur fonction et leur activité biologique pendant l'utilisation du biocapteur. Les techniques d'immobilisation des enzymes dans les biocapteurs sont présentées dans la figure 22. Deux méthodes d'immobilisation importantes sont largement connues : la méthode physique (réversible) et la méthode chimique (irréversible). La sélection d'une technique appropriée dépend de l'élément de bioreconnaissance choisi, du transducteur, de l'environnement physico-chimique et des caractéristiques de l'analyte (**Naresh & Lee, 2021**).

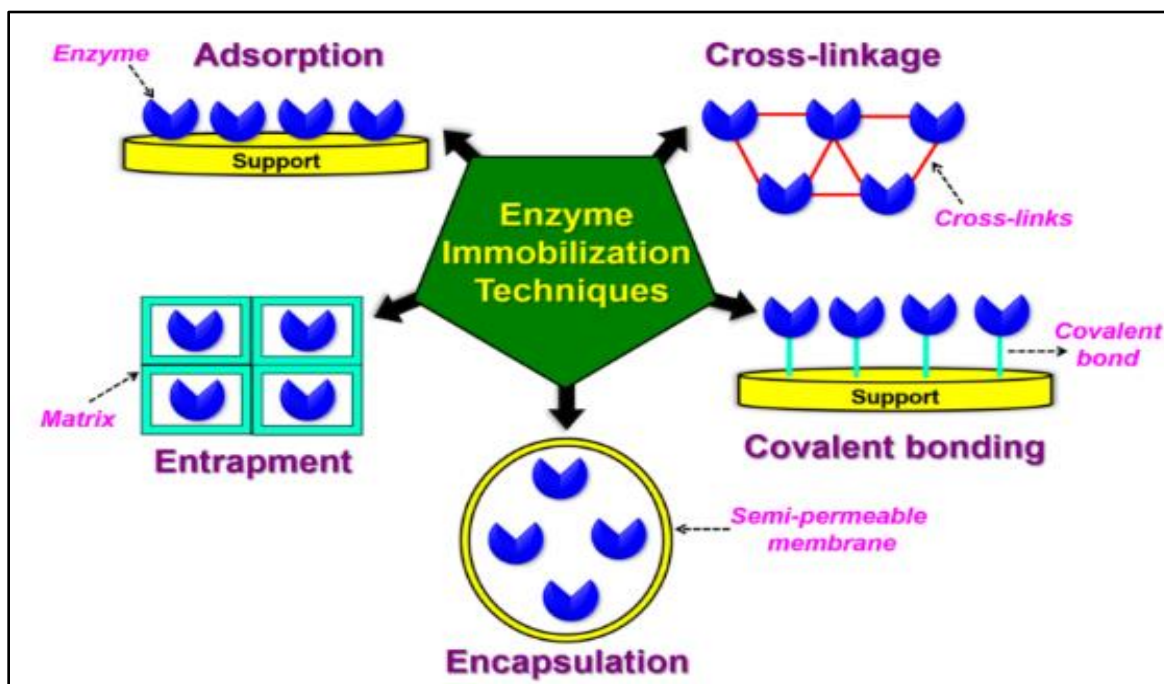


Figure 22: Techniques d'immobilisation des enzymes (Naresh & Lee, 2021)

II.2.6 Applications des biocapteurs

Les capteurs biologiques sont utilisés dans les laboratoires et les hôpitaux pour le diagnostic biomédical du patient et le suivi de l'évolution de la maladie. Ils sont également utilisés dans d'autres domaines tels que le contrôle de la sécurité alimentaire, la découverte de médicaments et la surveillance de l'environnement (Naresh & Lee, 2021) .

Compte tenu de l'importance du domaine biomédical mentionné, nous avons donc préféré en parler avec quelques explications et détails, que nous énumérerons ci-dessous.

II.2.6.1 Application des biocapteurs dans le domaine biomédical

Les biocapteurs jouent un rôle majeur dans les applications biomédicales, surpassant souvent les méthodes analytiques conventionnelles. Ils constituent un premier outil de dépistage efficace pour évaluer la mutagénicité, la cancérogénicité et la toxicité des médicaments ou composés chimiques. Leur intérêt réside dans leur capacité à mesurer précisément les fractions biodisponibles des substances potentiellement dangereuses, dans leur faible coût, ainsi que dans la stabilité des tests utilisant des micro-organismes vivants. Leur miniaturisation et leur aptitude à détecter simultanément plusieurs agents mutagènes ou toxiques renforcent également leur utilité pour l'analyse toxicologique (Alhadrami, 2018).

II.2.6.2 Biocapteur et stress oxydatif ; vers une méthode exploratrice aux avantages prometteuses

II.2.6.2.1 Stress oxydatif et méthode d'exploration

Par convention, les marqueurs du stress oxydatif ont été détectés à l'aide de techniques analytiques sophistiquées et spécialisées utilisant des instruments haut de gamme. Bien que les méthodes conventionnelles de détection soient très sensibles et sélectives, elles ne constituent toujours pas une option viable en raison du coût élevé des instruments et des tests à forte intensité de main-d'œuvre. D'où la nécessité de mettre au point des systèmes sélectifs, sensibles et rentables par rapport à ces méthodes (**Garg et al., 2021**).

II.2.6.2.2 Application des Biocapteurs dans le stress oxydatif

La méthodologie électrochimique est tout à fait adaptée à l'indication de stress oxydatif. Étant donné qu'une grande partie des oxydants et des espèces antioxydantes dans les systèmes biologiques sont électro-actifs, ils peuvent être déterminés à l'aide d'une variété de techniques électrochimiques. Ces techniques permettent de recevoir des informations importantes sur le pouvoir oxydant/réducteur d'un échantillon ce qui aide à caractériser la nature et le mécanisme d'action de ses différents composés (**Harfield et al., 2012**).

Les tests d'espèces antioxydantes électrochimiques sont basés sur des principes de détection directe et indirecte. Dans ces derniers cas, les réactions redox ont été simulées à l'aide d'une sonde artificielle, dont les changements structuraux sont mesurés par des techniques électrochimiques utilisant différents types d'électrodes. Des techniques d'évaluation de espèces antioxydantes utilisant des systèmes redox médiateurs ainsi que des systèmes ampérométriques à capacité de neutralisation des radicaux sont proposées (**Harfield et al., 2012**).

L'intégration de la nanotechnologie dans les méthodes de détection électrochimique a permis le développement de dispositifs alliant simplicité instrumentale, rapidité d'analyse, coûts opérationnels réduits, ainsi qu'une sensibilité et une spécificité remarquablement élevées. Grâce à leur potentiel de miniaturisation et de portabilité, ces approches représentent une avancée majeure pour la détection de biomarqueurs, notamment dans le contexte du stress oxydatif. Divers nanosystèmes, incluant des nanomatériaux métalliques (tels que les structures organométalliques, nanoparticules magnétiques et oxydes métalliques), carbonés (nanotubes de carbone, graphène, points quantiques) et biologiques (anticorps, aptamères), sont de plus en plus intégrés aux capteurs et biocapteurs électrochimiques (**Jamshidi et al., 2023**).

Leurs propriétés physiques, chimiques, mécaniques et magnétiques uniques améliorent significativement les performances analytiques des dispositifs. Enfin, la stabilité du couple redox, notamment la durée de vie et le potentiel de demi-onde des biomarqueurs, demeure un paramètre critique pour assurer une détection fiable en conditions biologiques réelles (Jamshidi *et al.*, 2023).

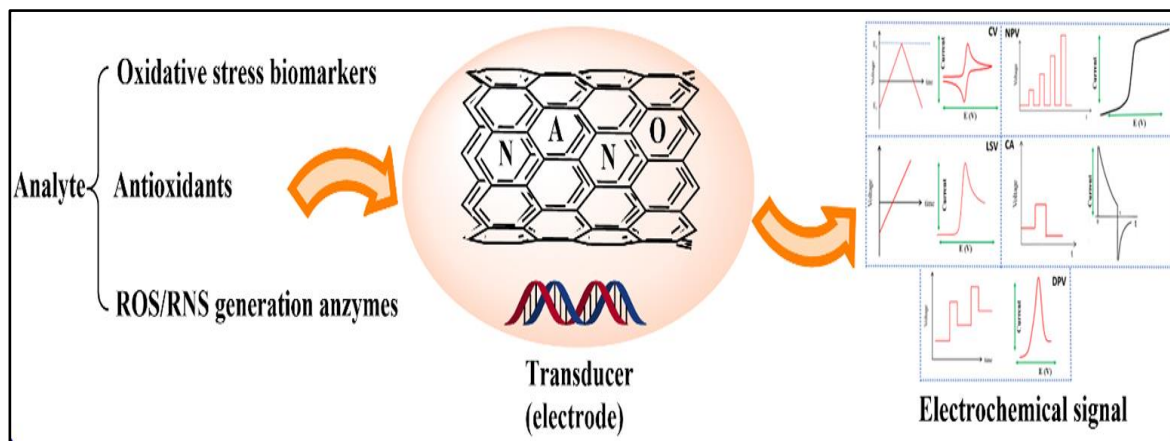


Figure 23 : Représentation schématique du principe de fonctionnement de l'appareil électrochimique (Jamshidi *et al.*, 2023).

❖ Détection des biomarqueurs de stress oxydatif

Des études complètes sont fournies pour la détermination électrochimique des enzymes de génération de ERO/ERN, des biomarqueurs et des antioxydants (Jamshidi *et al.*, 2023). Les marqueurs associés au stress oxydatif jouent un rôle important dans le métabolisme et les fonctions cellulaires. Fondamentalement, ces marqueurs peuvent être classés en trois catégories principales : les molécules modifiées par les espèces réactives de l'oxygène, les lipides détruits par l'oxydation et les marqueurs basés sur les antioxydants. Les peroxydes, les superoxydes, les radicaux hydroxyles, l'oxygène singulet et le radical alpha sont les espèces formées par l'interaction avec les ERO. Parmi les différents marqueurs réagissant avec les ERO, le peroxyde d'hydrogène. Les dommages causés par le peroxyde d'hydrogène comprennent la fuite de la membrane cellulaire, les dommages à l'ADN, Les marqueurs émergeant de l'oxydation de l'ADN/ARN, des lipides et des protéines comprennent la 8-hydroxydésoxyguanosine (8-OHdG), le malondialdéhyde (Garg *et al.*, 2021).

Les biocapteurs sont également très utilisés dans le domaine des antioxydants. D'une part, plusieurs biocapteurs ampérométriques pour la détection des mono et polyphénols (les principaux composés antioxydants dans les aliments) ont été développés sur la base d'enzymes telles que la tyrosinase, la Laccase ou la peroxydase. Ces configurations permettent d'évaluer la « teneur totale en phénols ». D'autre part, les biocapteurs pour l'évaluation de la capacité antioxydante sont basés sur l'activité de piégeage des radicaux libres (Munteanu & Apetrei, 2022).

L'aperçu détaillé de la recherche électrochimique sur le développement de capteurs/biocapteurs pour les biomarqueurs du stress oxydatif et obtenir des kits de dosage électrochimiques commerciaux est un défi à relever.

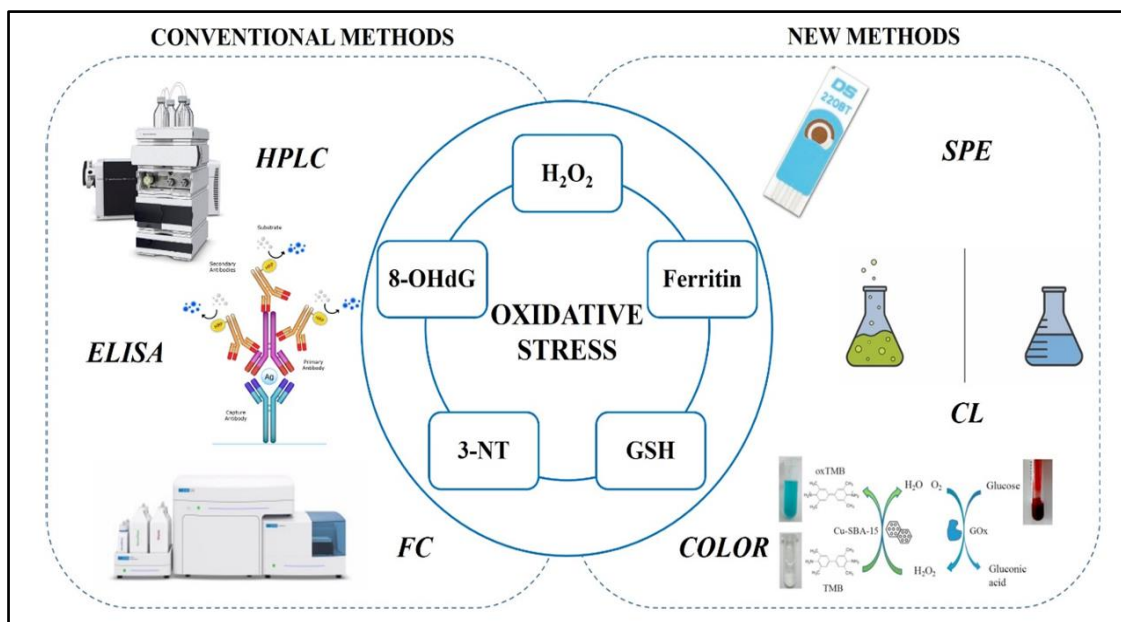


Figure 24 : Comparaison des méthodes conventionnelles et des nouvelles méthodes pour la détection de divers marqueurs du stress oxydatif (Garg et al., 2021).

II.2.7 L'intelligence artificielle et biocapteur

L'intelligence artificielle (IA) a connu un essor considérable ces dernières années, s'imposant rapidement dans de nombreux domaines de la société civile. Bien que le processus ait été plus lent, le domaine médical ne fait pas exception et les applications biomédicales d'IA se déploient de plus en plus rapidement, notamment depuis la généralisation des entrepôts de données. Cette progression offre des perspectives prometteuses pour l'avenir de domaine biomédicale (Barba et al., 2025).

II.2.7.1 Définition de l'intelligence artificielle

Depuis des décennies, le concept « d'intelligence artificielle » a nourri de nombreux fantasmes, et sa définition – un système capable d'effectuer une tâche habituellement réalisée par un humain est toute relative (**Barba et al., 2025**). Elle utilise des ordinateurs pour simuler les comportements intelligents de l'homme et forme les ordinateurs à apprendre les comportements humains tels que l'apprentissage, le jugement et la prise de décision (**Zhang & Lu, 2021**).

L'IA vise à acquérir, analyser et simuler la connaissance humaine en combinant informatique, logique, biologie, psychologie et autres disciplines, avec des applications remarquables dans la reconnaissance vocale, le traitement d'images et le langage naturel, la robotique et la démonstration automatique de théorèmes (**Zhang & Lu, 2021**).

Elle constitue aujourd'hui une alternative efficace aux modèles mathématiques traditionnels, particulièrement pour gérer des environnements dynamiques et incertains, et s'applique à des domaines tels que les assistants vocaux (Google Assistant, Alexa, Siri), la recherche en ligne (Google Search), les outils créatifs (ChatGPT, AI art), les véhicules autonomes (Waymo) et les jeux de stratégie (**Ranjan et al., 2025**). L'IA moderne se concentre principalement sur l'apprentissage automatique (Machine Learning, ML), qui permet aux algorithmes de résoudre des problèmes à partir des données, et sur l'apprentissage profond (Deep Learning, DL), sous-ensemble spécialisé du ML, essentiels pour développer des méthodes avancées adaptées aux défis réels (**Ranjan et al., 2025**).

II.2.7.2 Les moteurs et les technologies de l'intelligence artificielle

II.2.7.2.1 Machine Learning ML (L'apprentissage automatique)

L'apprentissage automatique (Machine Learning, ML) est une branche de l'intelligence artificielle qui permet aux systèmes informatiques d'apprendre et de s'adapter à partir de leurs expériences et de nouvelles données. Il consiste à créer des algorithmes capables d'optimiser leurs performances en analysant les informations passées et actuelles. (**Zhang et al., 2025**)

L'apprentissage profond (Deep Learning, DL) est un sous-domaine de l'apprentissage automatique et de l'intelligence artificielle, qui imite le fonctionnement du système nerveux humain en utilisant des réseaux neuronaux pour apprendre à partir de données et faire des prédictions basées sur l'expérience passée. (**Ranjan et al., 2025**)

II.2.7.2.2 Algorithmes Dans la reconnaissance traditionnelle des formes

Cette approche permet d'analyser automatiquement de grandes quantités de données et de faire des prédictions sur des événements réels. Les algorithmes d'IA ont permis des avancées significatives dans la reconnaissance d'images, la reconnaissance vocale, les moteurs de recherche, l'analyse sémantique et les systèmes de recommandation (**Zhang & Lu, 2021 ; Ranjan et al., 2025 ; Barba et al., 2025**).

II.2.7.3 Application de l'intelligence artificielle aux biocapteurs

Les biocapteurs sont confrontés à plusieurs défis majeurs, notamment la complexité des signaux, le bruit et les difficultés d'interprétation des données, ce qui limite leur sensibilité et leur sélectivité (**Akkaş et al., 2025 ; Ranjan et al., 2025**). L'intelligence artificielle (IA), à travers les approches d'apprentissage automatique et d'apprentissage profond, offre des solutions efficaces pour surmonter ces limitations. Grâce à sa capacité à traiter rapidement de vastes ensembles de données et à identifier des motifs complexes ou subtils, l'IA améliore significativement la précision prédictive et les performances diagnostiques des biocapteurs électrochimiques (**Akkaş et al., 2025**).

En outre, l'IA intervient à la fois dans le prétraitement des signaux — en réduisant le bruit et en optimisant la qualité des données — et dans leur post-traitement, facilitant l'extraction d'informations pertinentes et la prise de décision en temps réel. Cette intégration contribue à une détection précoce des maladies, à la personnalisation des traitements et à l'optimisation de la conception des capteurs, renforçant ainsi la fiabilité et l'efficacité des dispositifs de diagnostic électrochimique (**Ranjan et al., 2025**).

II.2.7.3.1 Algorithmes d'apprentissage automatique dans le diagnostic électrochimique

Les algorithmes d'apprentissage automatique peuvent être appliqués pour traiter et modéliser les données dans le diagnostic électrochimique. Toutefois, le prétraitement des données est une étape importante avant l'entraînement d'un modèle basé sur l'apprentissage automatique. Les données brutes doivent généralement être transformées dans un format facilement compréhensible pour être traitées efficacement par le modèle. Les techniques de prétraitement peuvent inclure de nombreuses caractéristiques telles que la normalisation ou la standardisation, l'extraction de caractéristiques, l'augmentation des données. Les algorithmes ML sont utilisés pour résoudre des problèmes complexes liés au regroupement, à la classification, à la régression et à la réduction de la dimensionnalité (**Ranjan et al., 2025**).

Parmi les types d'algorithmes d'apprentissage automatique les plus intéressants Les réseaux neuronaux artificiels (RNA)

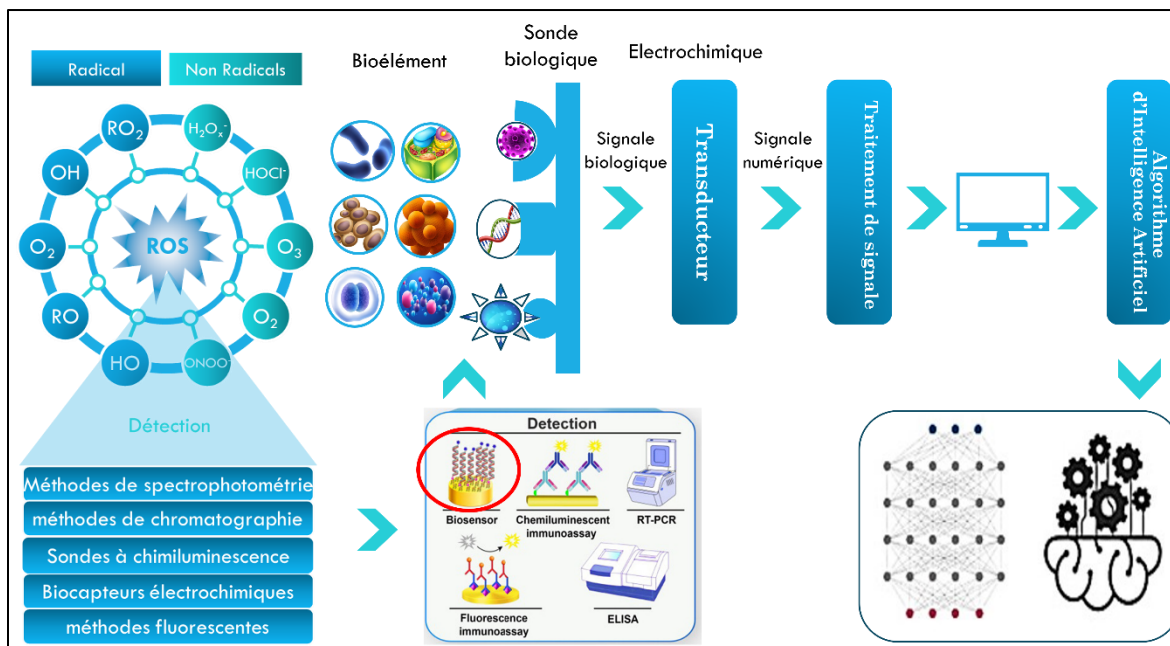


Figure 25: Progrès dans le diagnostic électrochimique grâce à l'intégration de l'intelligence artificielle

II.2.7.3.1.1 Les réseaux neuronaux artificiels (RNA)

Le réseau neuronal artificiel (RNA) constitue un domaine central de l'intelligence artificielle depuis les années 1980 (**Wu & Feng, 2018**). Inspiré du fonctionnement des réseaux neuronaux biologiques, il vise à reproduire des comportements intelligents en modélisant le traitement de l'information du cerveau humain (**Livingstone, 2008**). En pratique, un RNA est un modèle computationnel composé de nombreux neurones artificiels interconnectés, organisés selon différentes architectures en fonction des objectifs visés.

Chaque neurone correspond à une unité de calcul appliquant une fonction d'activation à ses entrées pondérées. Les connexions entre neurones sont associées à des poids, qui représentent les paramètres ajustables du modèle et constituent la mémoire du réseau. La sortie globale dépend ainsi de l'architecture, des valeurs des poids et des fonctions d'activation utilisées. De manière générale, un RNA permet d'approximer des fonctions complexes ou des relations non linéaires observées dans des systèmes naturels (**Livingstone, 2008 ; Ranjan et al., 2025**).

II.2.7.3.1.2 La composition de RNA

Un réseau neuronal artificiel (RNA) est constitué d'unités de traitement interconnectées organisées en trois couches principales : entrée, cachée et sortie. Les unités d'entrée reçoivent les données externes, les unités cachées assurent les transformations intermédiaires, et les unités de sortie produisent les résultats du modèle. Les connexions entre neurones sont pondérées, ces poids représentant les paramètres ajustables qui déterminent la transmission et le traitement de l'information.

Fondé sur un principe de traitement distribué et adaptatif, le RNA permet d'approximer des relations complexes et non linéaires en s'inspirant du fonctionnement du système nerveux. Cette approche est largement utilisée en intelligence artificielle et dans divers domaines interdisciplinaires (**Livingstone, 2008**).

II.2.7.3.1.3 Utilisation des ANN pour l'exploration de données et l'évaluation des biocapteurs

Les réseaux neuronaux artificiels (RNA) sont des modèles d'apprentissage automatique capables de traiter de manière parallèle et adaptative des données biomédicales complexes. Ils sont particulièrement adaptés aux tâches de classification, de régression et de reconnaissance de motifs dans des systèmes multicapteurs, notamment en analyse de biocapteurs (**Livingstone, 2008 ; Ranjan et al., 2025**).

Leur performance dépend de l'architecture choisie et de la stratégie d'apprentissage adoptée. Malgré certaines contraintes liées à la variabilité expérimentale, les RNA offrent une modélisation non linéaire efficace, même avec des ensembles de données de taille modérée, ce qui en fait des outils pertinents pour l'analyse des données associées aux maladies chroniques.

II.2.7.3.1.4 Défis et opportunités

La détection électrochimique associée à l'IA offre un fort potentiel, mais elle fait face à plusieurs défis : normalisation des protocoles, gestion et extraction de grandes quantités de données, validation clinique, obstacles réglementaires, ainsi que protection et sécurité des données des patients. D'autres limites concernent le risque de surajustement des modèles d'IA et la nécessité de rendre ces dispositifs accessibles et rentables pour le système de santé.

Malgré ces contraintes, ces défis favorisent la collaboration entre industrie, universités et organismes de réglementation pour établir des normes et bonnes pratiques. À l'avenir, les progrès en apprentissage automatique (ML) et en deep learning (DL), ainsi que l'intégration avec d'autres méthodes diagnostiques (biocapteurs magnétiques ou optiques), devraient améliorer la précision, l'évolutivité et les applications cliniques des dispositifs de diagnostic alimentés par l'IA (**Ranjan et al., 2025**).

PARTIE II
Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

Partie II. Partie expérimentale

Chapitre I. Matériel et méthodes

I.1 Matrices végétales

La plante médicinale utilisée au cours de cette étude, c'est la *Nigella Sativa* L. de la famille Renonculacées. Elle a été acquise en 2017 auprès d'un herboriste de la wilaya de Tiaret, sous forme de graines cette plante a été minutieusement identifiée au sein de la faculté de biologie de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret.

Les graines de NS ont été broyées dans un mixeur pour obtenir une poudre fine, cette poudre était utilisée pour l'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) et comme un complément dans un régime utilisée dans cette étude.

I.2 Identification des composées bioactives de poudre de NS par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR)

Afin d'identifier les différents composés bioactifs de NS, un spectromètre FT-IR ALPHA-p BRUKER a été utilisé pour l'analyse. Pour préparer les échantillons, 100 mg de KBr (bromure de potassium) dispersif ont été mélangés à 0,5 à 2 mg de matière afin de créer les pastilles finies, qui ont ensuite été placées dans le porte-échantillon. Pendant la mesure, les spectres FT-IR ont été obtenus dans la gamme de fréquences de 400 à 4000 cm.

I.3 Matériel biologique

I.3.1 Modèle expérimental animal

Les animaux utilisés au cours de cette expérimentation sont des souris blanches mâles adultes de souche NMRI d'un poids initial de (25 g ; 30 g), fournis par l'Institut Pasteur d'Alger- Des souris mâles ont été choisies préférentiellement afin d'éviter les variabilités intersexes et toutes perturbations du métabolisme induites par des changements hormonaux.

I.4 Effet de la poudre de *Nigella Sativa* L. sur le stress oxydatif induit par un régime hypergras enrichi en FeCl₃

I.4.1 Régime alimentaire administré aux souris

Afin d'évaluer l'effet préventif de NS sur le désordre métabolique associé à un stress oxydatif nutritionnellement induit, les souris ont été soumises durant cette expérimentation soit au régime standard, soit au régime hypergras élaboré et enrichi en 48 % (p/p) de graisse animale d'origine ovine (tableau 4) et associées au FeCl₃.

Au cours de cette période, la préparation des différents régimes a été réalisée une fois par semaine au sein du laboratoire d'amélioration et valorisation des productions animales locales de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret. Les ingrédients utilisés pour préparer chaque régime ont été fournis gracieusement par l'Office National d'Aliment de Bétail (ONAB). La composition des régimes figure dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3: Composition des régimes utilisés durant l'expérimentation selon (Garait, 2006) modifiée

Ingrédients	Régime standard (g / 100g de régime)	Régime hypergras (g/100 g de régime)
Amidon de maïs	42,1	2.6
Cellulose	11.8	9.4
Protéines	19	20
Matière grasse	0	48
Glucides	3.3	3.5
Vitamines et sels minéraux	10.8	10.33
Huile végétale	8.05	6.17
FeCl ₃	/	0.032
NSP	/	/
Valeur énergétique (Kcal/100g)	330,33	591,93

I.4.2 Concentration de FeCl₃ utilisée

Le but d'utiliser le FeCl₃ avec le régime hypergras, c'est d'accélérer le processus de l'installation du stress oxydatif. C'est pour cela qu'il a été incorporé au régime alimentaire hypergras à raison d'une concentration de 32 mg/100 g de régime hypergras. Cette concentration a été choisie en se basant sur une étude de **Hininger-Favier et ses collaborateurs (2016)**.

I.4.3 Concentration de poudre de la *Nigella Sativa* L utilisée

La poudre de NS a été incorporée au régime alimentaire hypergras à raison d'une concentration de 4 g par 100 g d'aliment. Cette concentration a été choisie en se basant sur une étude expérimentale préliminaire sur les souris NMRI et ce en utilisant deux doses 2% et 4%. Ces dernières ont été sélectionnées en se basant sur l'étude de **Kehili et ses collaborateurs (2018)**, qui ont étudié les effets préventifs de la poudre NS vis-à-vis un stress oxydatif induit par le chlorure de cadmium.

L'utilisation de la NS sous forme de poudre au cours de cette étude s'explique principalement par le fait de vouloir évaluer l'effet synergique de l'ensemble des molécules actives essentiellement les polyphénols et les flavonoïdes.

I.5 Suivre et traitement des animaux

Dès leur réception, les souris ont été réparties aléatoirement en 4 groupes (6 souris par groupe), installées dans des cages individuelles et hébergées au sein de l'animalerie du laboratoire d'autopsie clinique de l'Institut des sciences vétérinaires (université Ibn Khaldoun Tiaret), où règne une température constante ($24 \pm 2^\circ\text{C}$). Et un éclairage qui varie selon un rythme circadien (cycle de lumière/obscurité de 12 h/12 h). Ils ont eu accès ad Libitum à la nourriture et à l'eau. Les souris ont été élevées dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée chaque semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Après une semaine d'acclimatation, ces souris ont été nourries pendant 11 semaines avec un régime standard ou bien un régime hypergras enrichi en FeCl_3 , supplémenté ou non en NS.

I.5.1 Identification des différents lots expérimentaux

4 groupes ont été constitués comme suit :

- Groupe 1 : les animaux du premier groupe (ST) ont reçu un régime standard contenant 42 % d'amidon.
- Groupe 2 : les animaux du second groupe (ST+N) ont reçu 4 % de poudre de nigelle incorporée dans un régime standard.
- Groupe 3 : les animaux de troisième groupe (HG/Fe) ont reçu simultanément un régime hypergras (HG) contenant 48 % de graisse animale d'origine ovine enrichi en FeCl_3 .

- Groupe 4 : les animaux du quatrième groupe (HG/Fe+N) ont reçu simultanément un régime HG contenant 48 % de graisse animale d'origine ovine enrichi en FeCl₃ et 4 % de poudre de nigelle.

Durant les 11 semaines de traitement, le comportement des souris, la mesure de la prise de poids ainsi que la quantité de nourriture ingérée ont été observés. Le protocole expérimental du suivi et de l'entretien des souris a été réalisé selon les directives du comité institutionnel de protection des animaux de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique (Algérie) (numéro d'accord 45/DGLPAG /DVA.SDA.14).

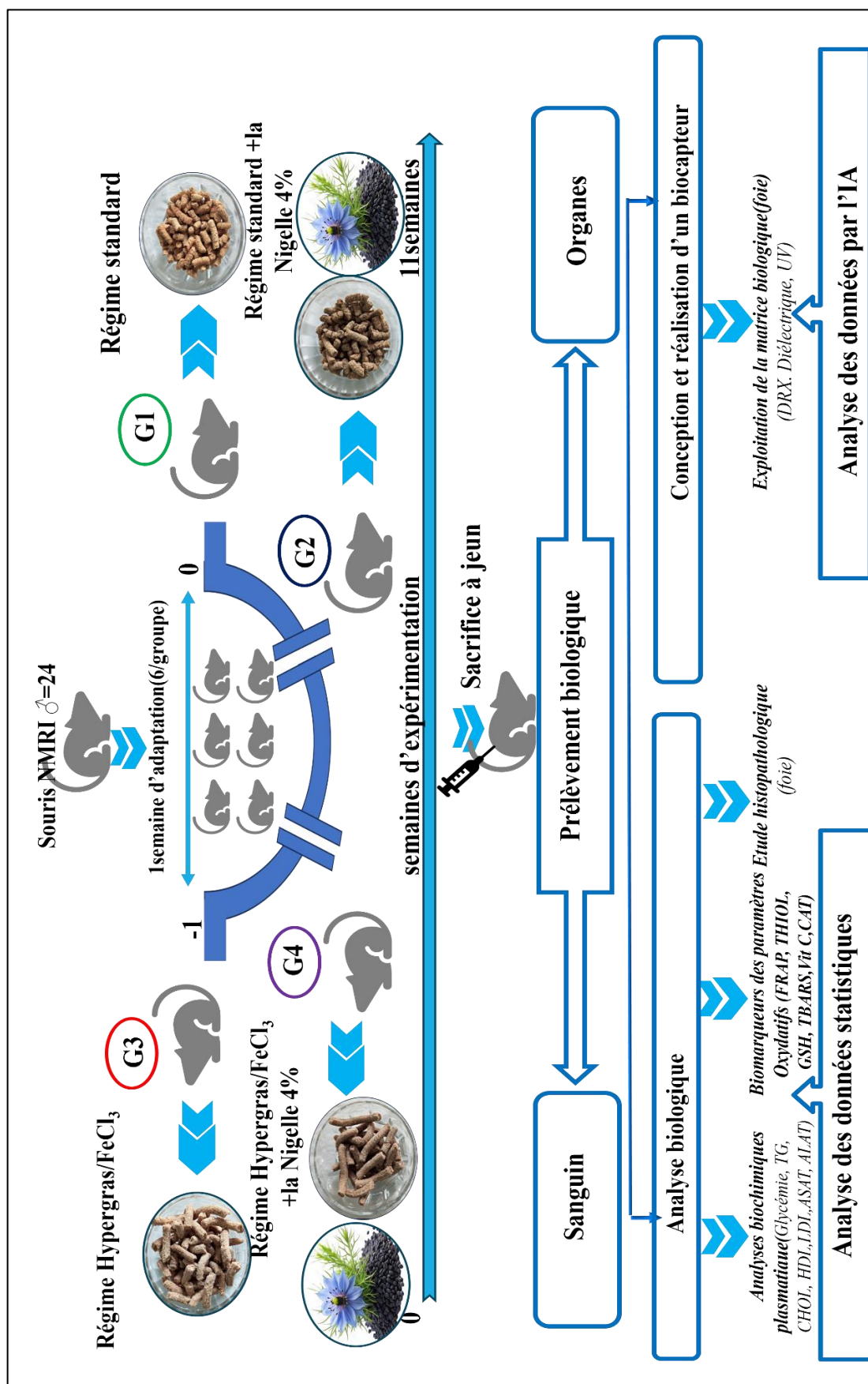


Figure 26 : Protocole du suivi des souris NMRI durant l'étude expérimentale

I.6 Prélèvement et préparation du matériel biologique

I.6.1 Prélèvement sanguin

A la fin d'expérimentation, les souris sont maintenues à jeun. La nuit de sacrifice, les 4 groupes ont été anesthésiés et sacrifiés. Le sang a été prélevé par ponction intracardiaque et recueilli dans des tubes contenant de l'héparine. Après une légère agitation, les tubes ont été centrifugés à 3000 tr/mn pendant 10 min. Le plasma obtenu a été récupéré, aliquoté dans des tubes et conservé à -20°C pour les analyses biologiques ultérieures (paramètres biochimique et oxydatifs).

I.6.2 Prélèvement d'organe

Après prélèvement sanguin, le foie, le cœur, les reins, les tissus adipeux, les testicules et le cerveau sont soigneusement prélevés et rincés avec l'eau physiologique 0,9 % 3 fois, ensuite séchés, pesés et conservés à -20 °C pour d'éventuelles explorations.

I.6.3 Prélèvement du foie pour l'étude histologique

Avant la conservation du foie à -20 °C, des morceaux de ce dernier ont été prélevés et directement fixés dans du formol à 10 %. La fixation a pour but essentiel d'assurer une immobilisation des constituants cellulaires ou tissulaires dans un état aussi voisin que possible de l'état vivant. Donc la fixation doit être immédiate après le prélèvement, pour empêcher une putréfaction (par altération microbienne) et une autolyse (destructions tissulaires par les enzymes qu'il contient). Les fragments du foie doivent être totalement immergés dans la solution du fixateur, aucun fragment ne doit flotter au-dessus de cette solution.

I.7 Préparation d'homogénat d'organe pour la détermination des paramètres oxydatifs

0,2 g d'organe (foie et cœur) a été placé dans 2 mL de PBS 1X PH de 7,4, puis broyé à l'Ultra-Turax (T25, IKA, Allemagne). L'ensemble a été centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min. Le surnageant, qui constitue l'homogénat d'organe, a été récupéré et incubé pendant 1 heure dans la glace et conservé à -20°C en vue des différents dosages.

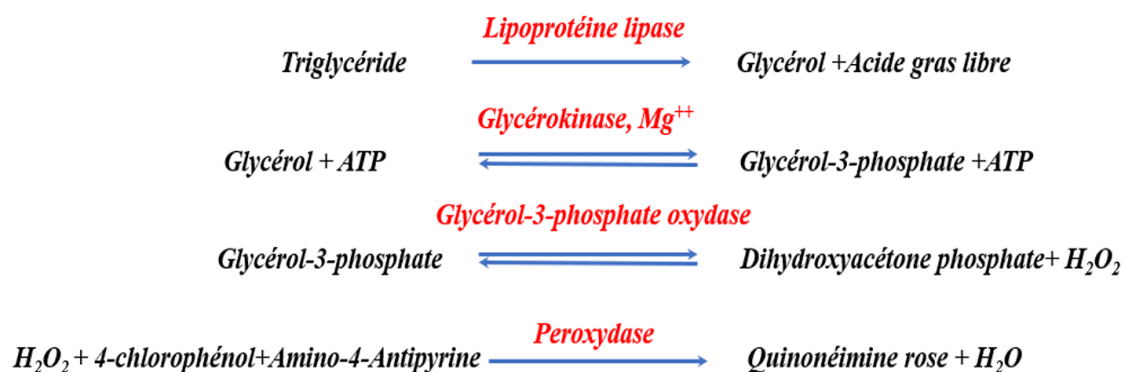
I.8 Etude des paramètres biochimiques

Tous les tests biochimiques sont réalisés par un automate de biochimie médicale mindray BS-180 le principe et le mode opératoire de chaque test sont mentionnés dans les fiches techniques (Annexe 4).

I.8.1 Détermination des teneurs en Triglycérides

❖ Principe

Le dosage des triglycérides sériques se fait par le biais d'une méthode colorimétrique enzymatique via le kit Biolabo. Les triglycérides sont hydrolysés en glycérol et en acides gras grâce à des lipases. Une suite de réactions a abouti à la formation du peroxyde d'hydrogène qui, en présence de la peroxydase et d'un chromogène, donne un composé coloré. La concentration en quinone est proportionnelle à la concentration totale en triglycérides présents dans l'échantillon. La concentration en triglycérides est déterminée à une longueur d'onde de $\lambda = 500$ nm (Trinder, 1969; Fossati & Prencipe, 1982).



❖ Mode opératoire

10 μL de chaque échantillon ou de l'étalon (concentration de 2g/L) ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1 ml de la solution de travail, préparée en mélangeant les réactifs 1 et 2 fournis par le kit Biolabo. Ensuite une homogénéisation a été appliquée à l'ensemble à l'aide d'un vortex, le mélange a subi une incubation de 10 minutes et à 37°C. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 500 nm contre un blanc, les résultats sont exprimés en g/L de triglycérides et calculés selon la formule suivante :

$$\text{Triglycérides (g/L)} = \left(\frac{\text{Densité optique de l'échantillon}}{\text{Densité optique de l'étalon}} \right) \times 2\text{g/L}.$$

I.8.2 Détermination des teneurs en glucose

❖ Principe

La teneur en glucose est déterminée par la méthode enzymatique et colorimétrique en présence du glucose oxydase (GOD). Le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène, ce dernier, en présence de peroxydase et de phénol, oxyde un chromogène (Le 4-amino-antipyrine) en couleur rose à structure quinone. La coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 500 nm, ce dosage a été réalisé à l'aide du kit Biosystems (Trinder, 1969).



❖ Mode opératoire

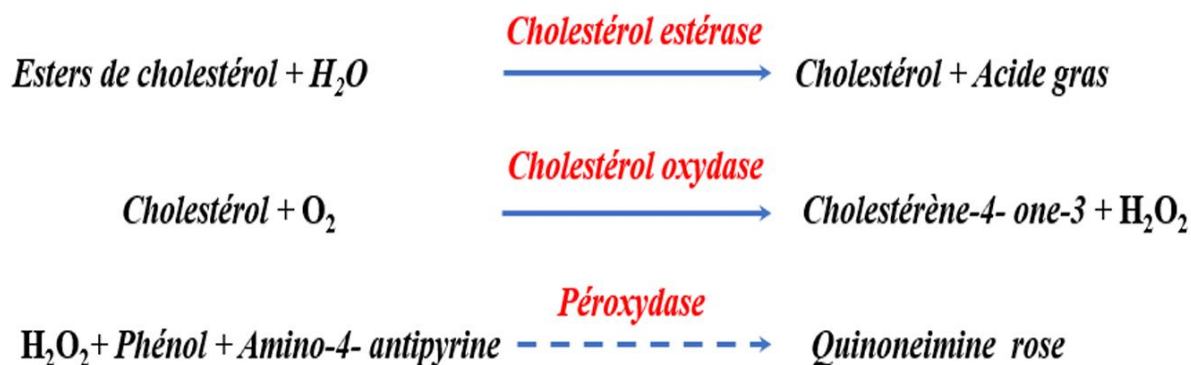
10 µL de chaque échantillon ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1 ml de la solution de travail, fournie par le kit Biosystems, ensuite l'ensemble a subi une homogénéisation à l'aide d'un vortex, le mélange ainsi obtenu a été incubé pendant 10 minutes à 37°C. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 500 nm contre un blanc sans glucose. Au cours de cette analyse, un étalon a subi le même traitement que l'échantillon afin d'être utilisé comme une référence pour la quantification des taux de glucose dans le plasma. Cet étalon a une concentration précise de glucose égale à (1 g/L). La concentration du glucose dans les échantillons est calculée selon la formule ci-après. Les résultats sont exprimés en g/L de glucose.

$$\text{Glucose (g/L)} = (\text{Densité optique de l'échantillon/densité optique de l'étalon}) \times 1 \text{ g/L}.$$

I.8.3 Détermination des teneurs en cholestérol total

❖ Principe

Le cholestérol total est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique en utilisant le kit Biomaghreb et ce au niveau du plasma. Les esters de cholestérol sont hydrolysés par le cholestérol estérase en cholestérol libre et en acides gras. Ce cholestérol libre produit et celui préexistant sont oxydés par une enzyme, la cholestérol oxydase, en Δ^4 -cholestéron et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase, oxyde le chromogène en un composé de couleur rouge. La densité optique du quinoneimine coloré mesurée à 505 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenue dans l'échantillon, et est exprimée en g/L (Fasce et al., 1982).



❖ Mode opératoire

La solution de travail a été préparée par le mélange des réactifs 1 et 2 fournis par le kit. Pour la réalisation de ce test, 10 μL de chaque échantillon et de l'étalon ont été prélevés ensuite ajoutés à 1 mL de la solution de travail, l'ensemble a subi une homogénéisation à l'aide d'un vortex, le mélange ainsi obtenu a été incubé pendant 10 minutes à 37°C. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 505 nm contre un blanc ne contenant que de l'eau distillée. Notons que l'étalon a été utilisé afin de quantifier le taux du cholestérol dans les échantillons, cet étalon contient une quantité précise de cholestérol qui est de 2 g/L, ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en g/L de cholestérol et calculés selon la formule suivante :

$$\text{Cholestérol (g/L)} = (\text{Densité optique de l'échantillon} / \text{Densité optique de l'étalon}) \times 2 \text{ g/L}.$$

I.8.4 Détermination des teneurs en HDL et LDL

❖ Principe

La lipoprotéine HDL du plasma est précipitée par le phosphotungstate en présence d'ions de magnésium après centrifugation à 4000 tr/min pendant 20 min, le surnageant récupéré correspond aux HDL. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 505 \text{ nm}$. Les concentrations en cholestérol des LDL plasmatiques sont déterminées selon la formule de (Friedewald et al., 1972 ; Burstein et al., 1970).

$$\text{Chol. LDL} = \text{Chol. Total} - (\text{Chol. HDL} + \text{TG}/5)$$

❖ Mode opératoire

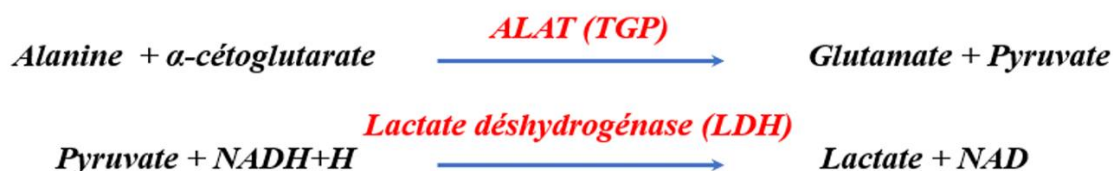
Le dosage des HDL a été réalisé grâce au kit Biomaghreb. 200 µL de l'échantillon plasmatique ont été ajoutés à 20 µL de réactif issu du mélange de deux réactifs (R1 et R2). Ensuite le mélange a été incubé pendant 10 min à température ambiante puis centrifugé à 4000 tr/min pendant 10 min, le surnageant obtenu a été traité par la même procédure décrite pour le cholestérol total. L'absorbance a été mesurée à 500 nm.

I.8.5 Détermination de l'activité des transaminases plasmatiques

A. Dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT)

❖ Principe

L'alanine aminotransférase (ALAT) est une transaminase connue sous le nom de glutamate-pyruvate- transaminase (GPT). L'ALAT catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine vers l' α -cétooglutarate pour donner du L-glutamate et pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) et NADH. La mesure du taux de diminution de NADH, est spectrophotométriquement proportionnelle à l'activité catalytique d'ASAT dans l'échantillon. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=505$ nm (Murray et al., 1984).



B. Dosage de l'activité de l'Aspartate aminotransférase (ASAT)

L'aspartate aminotransférase (ASAT) est une transaminase, également connue sous le nom de glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT). Elle catalyse le transfert du groupe aminé du L-aspartate vers l' α -cétooglutarate pour donner du L-glutamate et de l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit en Malate par la Malate déshydrogénase (MDH).

Le taux de diminution de NADH, mesuré spectrophotométriquement. Elle est proportionnelle à l'activité catalytique de l'ASAT catalysée dans l'échantillon. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda=505$ nm (Murray, Kaplan, & others, 1984).



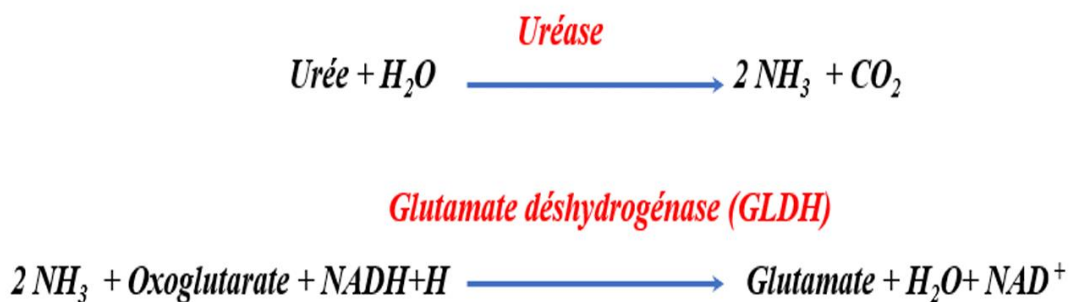
❖ Mode opératoire

50 μL de l'échantillon plasmatique ont été ajoutés à 500 μL de solution de travail, destinée soit pour le dosage des ALAT ou ASAT. Cette solution est issue d'un mélange de deux réactifs (R1 et R2) préparé selon le kit Biomaghreb. Le mélange réactionnel a été incubé dans une étuve à 37°C pendant 10 min. Après incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue chaque minute pendant 3 min à une longueur d'onde de $\lambda=505$ nm. Le résultat est exprimé par la dernière absorbance.

I.8.6 Détermination des teneurs en urée

❖ Principe

La concentration en urée a été déterminée selon la méthode enzymatique et colorimétrique décrite par Talk et al., (1967) en utilisant le kit Biolabo. L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ions ammonium (NH_3) et en anhydride carbonique (CO_2). Les ions ammonium forment ensuite avec l'oxoglutarate un complexe coloré bleu-vert par l'action de la glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH+H à la NAD^+ . L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon, et elle est mesurée à 600 nm.



❖ Mode opératoire

5 µL de l'échantillon ont été ajoutés à 1 mL de la solution de travail, cette solution est issue d'un mélange de deux réactifs (R1 et R2 fournis par le kit). Le mélange réactionnel a été incubé à 37 °C pendant 5 min. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 600 nm contre un blanc contenant uniquement de l'eau déminéralisée. Notons que l'étalon a été utilisé afin de quantifier le taux de l'urée dans les échantillons, cet étalon contient une quantité précise de l'urée qui est de 0.40 g/L, ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en g/L de l'urée et calculés selon la formule suivante :

Urée (g/L) = (Densité optique de l'échantillon/densité optique de l'étalon) X 0.40 g/L.

I.8.7 Détermination des teneurs en créatinine

❖ Principe

Le dosage de la créatinine a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique en utilisant le Kit Biolabo. La méthode repose sur le principe de Jaffé (Jaffé, 1886), selon lequel la créatinine réagit avec l'acide picrique en solution alcaline pour former un complexe moléculaire de couleur rouge, mesurable par absorbance à 490 nm. Les échantillons sont comparés à un étalon de créatinine afin d'en estimer la concentration (**Moore & Sharer, 2017**).

❖ Mode opératoire

100µL d'échantillons ou d'étalon (R3) cette solution est issue d'un mélange de deux réactifs (R1 et R2 fournis par le kit). Après homogénéisation immédiate, la cinétique de la réaction a été suivie par la mesure de l'absorbance à 30 secondes (A1) puis à 90 secondes (A2), à une longueur d'onde comprise entre 490 et 510 nm, en utilisant une cuve de 1 cm et un blanc à l'eau distillée.

La concentration de l'analyte est proportionnelle à la variation d'absorbance ($\Delta A = A2 - A1$). Les résultats sont exprimés en mg/L.

I.8.8 Détermination des teneurs en acide urique

❖ Principe

Le dosage de l'acide urique a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique en utilisant le Kit Biolabo. L'acide urique est oxydé par l'uricase en allantoïne, dioxyde de carbone et peroxyde d'hydrogène ($2\text{H}_2\text{O}_2$) qui, sous l'influence de la peroxydase, du 4-aminophénazone (4-AP) et du 2-4-dichlorophénol-sulfonate (DCPS), forme un composé rouge de quinonéimine donné par les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration rouge formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon (Bernard, 1989 ; Tietz, 1999).

❖ Mode opératoire

25 μL de chaque échantillon ou de l'étalon (R3) (concentration de 100 mg/L) ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1 mL de la solution de travail, fournie par le kit Biolabo. Ensuite une homogénéisation a été appliquée à l'ensemble à l'aide d'un vortex, le mélange a subi une incubation de 5 minutes à 25°C . L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 520 nm contre un blanc, les résultats sont exprimés en mg/L d'acide urique et calculés selon la formule suivante :

Acide urique (mg/L) = (Densité optique de l'échantillon/densité optique de l'étalon) X 100 mg/L.

I.8.9 Détermination des teneurs en protéines totales plasmatiques

❖ Principe

Les protéines totales ont été déterminées selon la méthode colorimétrique décrite par Gornall et al., (1949) en utilisant le kit Biolabo. Le réactif Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline.

Les ions cuivriques, dans un milieu alcalin, interagissent avec les liaisons peptidiques des protéines, formant un complexe bleu violet où l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité des protéines plasmatiques. L'absorption est mesurée à 550 nm.

❖ Mode opératoire

Pour la réalisation de ce test, 20 µL de chaque échantillon plasmatique et de l'étalon (R2) ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1 ml de la solution de travail (réactif de Biuret R1), l'ensemble a subi une homogénéisation à l'aide d'un vortex, le mélange ainsi obtenu a été incubé pendant 10 minutes à température ambiante.

L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 550 nm contre un blanc ne contenant que de l'eau déminéralisée et la solution de travail, Les résultats sont exprimés en g/L de protéines et calculés selon la formule suivante :

$$\text{Protéine totale (g/L)} = (\text{Densité optique de l'échantillon/densité optique de l'étalon}) \times 60 \text{ g/L.}$$

I.9 Etude des paramètres oxydatifs

I.9.1 Détermination du pouvoir antioxydant total par la technique FRAP

➤ Principe

La méthode FRAP développée par (Benzie & Strain, 1996) est basée sur la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique $[(\text{Fe (III)-TPTZ})_2]$ en un complexe tripyridyltriazine ferreux $[(\text{Fe (II)-TPTZ})_2]$ par un antioxydant (AH), à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer.

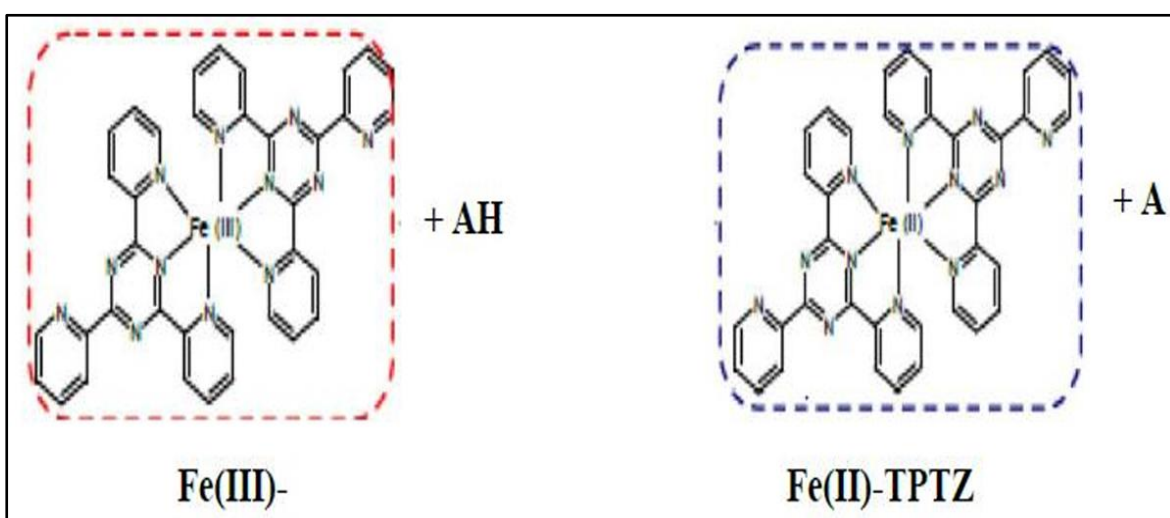


Figure 27: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH) (Benzie & Strain, 1996).

Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux, une coloration bleue intense apparaît très rapidement avec un maximum d'absorption à 593 nm (**Error! Reference source not found.**). Le pouvoir réducteur est proportionnel à la formation de la couleur bleue, plus la couleur bleue est intense : plus l'échantillon peut être considéré comme un bon réducteur.

➤ Mode opératoire

Ce test peut être utilisé comme un index du pouvoir antioxydant des défenses non enzymatiques. Il est basé sur la mesure de la réduction par le plasma ou l'homogénat d'organe et dans des conditions d'acidité (pH 3,6), d'une solution comprenant du tampon acétate, une solution à base de 2,4,6 -Tripyridyl-s-triazine (TPTZ), et un sel ferrique (FeCl_3 , $6\text{H}_2\text{O}$), ce qui provoque la formation du complexe TPTZ- Fe^{++} , de couleur bleue. Une gamme étalon est obtenue à partir d'une solution mère de FeSO_4 , $7\text{H}_2\text{O}$ à 1 mM (les courbes de la gamme d'étalonnage figurent en annexe 1).

La solution FRAP est préparée à partir des trois solutions initiales : tampon acétate ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}$, $3\text{H}_2\text{O}$ et $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) à pH 3,6, TPTZ à 10 mM et FeCl_3 , $6\text{H}_2\text{O}$ à 20 mM) et placée à 37°C pendant toute la durée de l'analyse. 100 μL d'échantillons ou de la solution-gamme sont ajoutés à 900 μL de la solution FRAP. La lecture des échantillons se fait après 30 minutes d'incubation par spectrométrie à 593 nm.

I.9.2 Détermination des teneurs en vitamine C

➤ Principe

Le dosage de la vitamine C, décrit par **Jagota et Dani (1982)**, est basé sur la réduction de la vitamine C présente dans le plasma ou dans les tissus par le réactif de Folin Ciocalteu, en donnant une coloration bleue dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en vitamine C. L'absorbance de la coloration est maximale à une longueur d'onde de 760 nm.

➤ Mode opératoire

Ce test peut être utilisé comme un index du pouvoir antioxydant des défenses non enzymatiques.

Afin de précipiter les protéines, 0,8 mL d'acide trichloroacétique à 10 % ont été ajoutés à 0,2 mL d'homogénat de tissu ou au plasma sanguin. Après agitation vigoureuse et une incubation de 5 minutes dans un bain de glace, les tubes ont été centrifugés à 3000 trs/min pendant 5 minutes, ensuite 0,5 mL du surnageant ont été incubés en présence de 0,2 mL de réactif de Folin Ciocalteu (1 M) pendant 10 min à 37°C. Après cette durée, la mesure de l'absorbance, de la couleur bleue développée, a été réalisée à une longueur d'onde de 769 nm. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la teneur en vitamine C présente dans l'échantillon. La concentration est exprimée en $\mu\text{g/mL}$ et a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage obtenue grâce à une solution mère d'acide ascorbique 100 $\mu\text{g/mL}$ (la courbe de la gamme d'étalonnage figure en annexe1).

I.9.3 Détermination des teneurs des groupements Thiols (protéines oxydées)

➤ Principe

Lors de l'oxydation des protéines, les groupements SH sont oxydés et forment des ponts disulfures S-S. En présence des groupements thiols de l'échantillon, le pont disulfure (S-S) contenu dans le réactif d'Ellman ou DTNB (5-5'- dithionitro benzoic acid) va être réduit et donner des dérivés thiols aromatiques [RNB (acide 5-thio -(2-nitrobenzoïque))] colorés et possédant une absorbance entre 412 et 415 nm (figure 40). La vitesse de la réaction sera différente selon que le DTNB se trouve en présence de SH protéiques ou non protéiques. Cette différence peut, dans certaines conditions de pH et de forme ionique, être accentuée et permettre ainsi la mesure des SH protéiques et celle des SH totaux (Ellman, 1959).

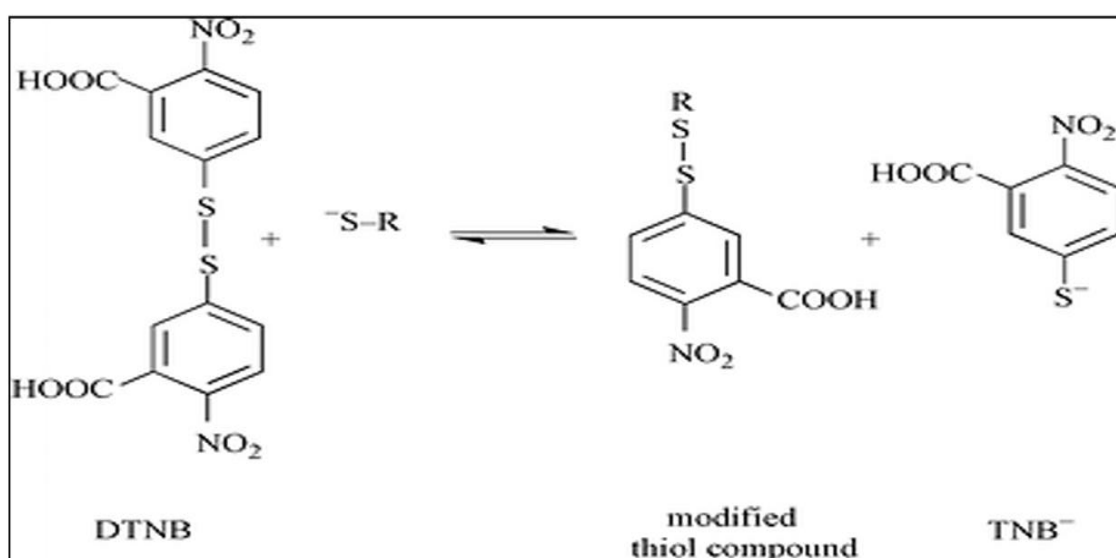


Figure 28: Mécanisme réactionnel entre le DTNB et un groupement thiol (SH).

➤ Mode opératoire

750 μL de tampon phosphate (0,05 M) ont été ajoutés 250 μL du point de gamme (préparée à partir d'une solution de N-acétyl-cystéine à 1 mM, ou d'échantillon, après une légère agitation 250 μL de réactif d'Ellman (4 %) ont été ajoutés, le mélange ainsi obtenu a été vortexé et incubé pendant 15 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture des absorbances a été effectuée à $\lambda=412$ nm.

I.9.4 Détermination des teneurs en glutathion réduit

➤ Principe

La concentration de glutathion réduit (GSH) dans les homogénats de tissus cérébraux a été déterminée à l'aide de la méthode colorimétrique décrite par (Ellman, 1959). Le GSH réagit avec le DTNB (5,5'-dithiobis (acide 2-nitrobenzoïque)) pour former le TNB^- , un chromophore jaune. Le taux de formation de TNB^- est mesuré par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 412 nm. Une courbe standard a été générée à l'aide d'une solution de GSH réduit (1 mM).

➤ Mode opératoire

750 μL de tampon phosphate (0,05 M) ont été ajoutés 250 μL du point de gamme (préparé à partir d'une solution de glutathion réduit à 1 mM, ou d'échantillon, après une légère agitation, 250 μL de réactif d'Ellman (4 %) ont été ajoutés, le mélange ainsi obtenu a été vortexé et incubé pendant 15 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture des absorbances a été effectuée à $\lambda=412$ nm.

I.9.5 Détermination des teneurs en lipides oxydés via le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique

➤ Principe

L'évaluation des teneurs en MDA repose sur une méthode de dosage indirecte de l'impact des radicaux libres. Elle mesure les substances issues de la lipopéroxydation réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBA) (figure 41). La réaction de dosage, décrite par Kohn et Liversedge en 1944, précisée par Patton et Kurtz (1951), repose sur la formation en milieu acide et à chaud entre le malondialdéhyde et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment absorbant à 532 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

La réaction colorée, observée avec l'acide thiobarbiturique, mesure non seulement le malondialdéhyde préexistant, mais aussi le malondialdéhyde formé de manière artéfactuelle par décomposition thermique des peroxydes, et de ceux générés au cours même de la réaction. Les méthodes utilisées actuellement dérivent de celle de **Yagi, (1976)**.

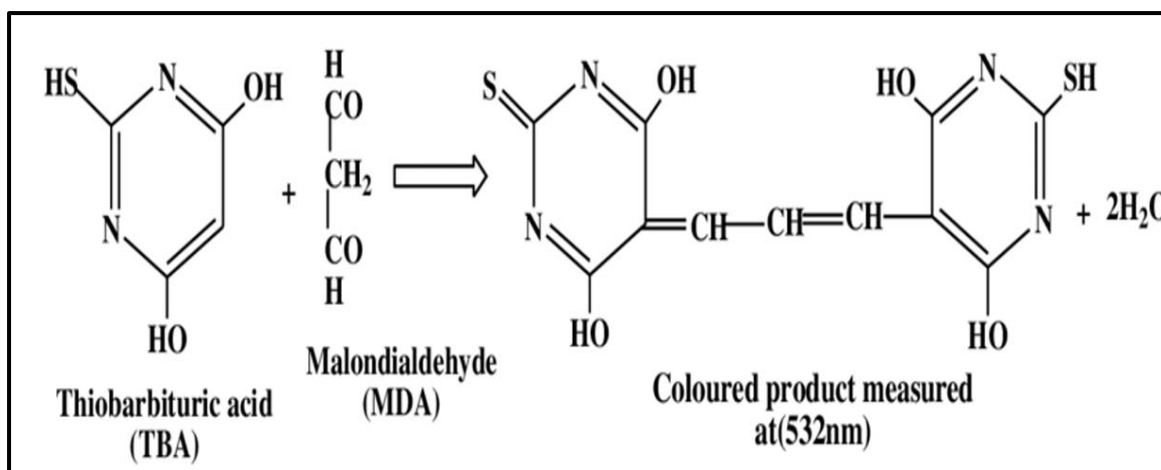


Figure 29: Figure : Formation du complexe malondialdéhyde/ acide thiobarbiturique de couleur

➤ Mode opératoire

Cette analyse a été réalisée sur plasma ou sur homogénat de tissus : 800 µL d'un mélange d'acide thiobarbiturique (TBA à 0,375 %) d'acide trichloracétique (TCA à 20 %), de 2,6-di-tert- butyl-4-méthylphénol (BHT à 0,01 %) et de chlorure d'hydrogène (HCl à 1 N) sont ajoutés à 200 µL d'échantillon. Après agitation de 2 min, le mélange est incubé au bain-marie à 100°C pendant 15 minutes. Durant cette étape, les fonctions aldéhydiques du dialdéhyde malonique (MDA) sont libérées par l'hydrolyse acide à 100°C. Elles réagissent avec le TBA en formant un complexe coloré en rose (MDA-TBA). Pour arrêter la réaction,

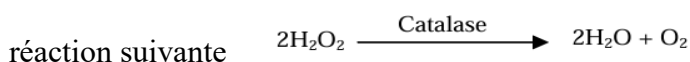
Les tubes sont placés dans la glace, le complexe ainsi formé est extrait par le butanol pendant 2 minutes. Après centrifugation, la quantification du complexe est effectuée sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration en MDA plasmatique ou tissulaire est calculée.

I.9.6 Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase

➤ Principe

L'évaluation de l'activité de la catalase permet l'analyse du statut oxydatif intracellulaire de l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection chez le globule rouge et dans l'homogénat du tissu.

L'activité de la catalase a été évaluée par la méthode de **Aebi, (1984)**. Le principe est basé sur la disparition de l'H₂O₂ en présence de la source enzymatique à 25 °C selon la



➤ Mode opératoire

Pour ce dosage, 20 μ l d'hémolysat ou d'homogénat ont été additionnés de 1255 μ l d'un tampon phosphate et la réaction a été déclenchée par l'ajout de 725 μ l de H_2O_2 (54 mM). Le blanc contient 20 μ l d'hémolysat et 1980 μ l d'un tampon phosphate (50 mM, pH 7.0). La diminution du H_2O_2 a été enregistrée à 240 nm, à 25 °C pendant 60 s. Une unité de l'activité de la catalase est définie comme l'activité nécessaire à la dégradation de 1 μ mol de peroxyde d'hydrogène pendant 60 s. L'activité de la catalase a été exprimée en termes de μ moles de H_2O_2 consommés/min/ml.

I.10 Etude histologique du foie

Cette étude a pour but d'évaluer l'accumulation des lipides sous forme de triglycérides au niveau hépatique en réponse à l'ingestion du régime hypergras. Les fragments du tissu hépatique ont été lavés à NaCl (0,9 %) pour éliminer l'acide picrique, puis une déshydratation a été obtenue par passage dans une série de bains d'alcool (éthanol) aux gradients ascendants : 70°, 96° et 100° avec une durée de 7 h, 17 h et 4 h respectivement.

Les échantillons ont été ensuite clarifiés par passage dans deux bains de chloroforme (1^{er} bain : 50 % chloroforme + 50 % alcool pendant 4 h, 2^e bain : chloroforme pur pendant 4 h). Cette clarification consiste en un remplacement du déshydratant par une substance miscible avec la paraffine ce qui rend les échantillons plus transparents.

Les spécimens ont été mis dans des cassettes pour être imprégnés à chaud par une paraffine de routine (dont le point de fusion est de l'ordre de 54 à 56 °C). Ensuite, la paraffine a été coulée au quart dans les moules en acier inoxydable chauffés à 60°C et les fragments de tissus y ont été déposés. Après solidification de la paraffine, les blocs formés ont été congelés à - 20° C pour être réduits en coupes microscopiques d'épaisseur de 5 μ m grâce à un microtome. Les coupes ont été ensuite étalées dans un bain- marie d'histologie (à 50°C) puis collées sur des lames et séchées à température ambiante jusqu'au moment de la coloration. La paraffine est hydrophobe tandis que les colorants sont hydrophiles.

C'est pourquoi la coloration des coupes comporte une étape de déparaffinage et de réhydratation. Cette étape a été assurée par une succession de bains, d'abord dans deux bains d'un solvant permettant l'élimination de la paraffine (toluène ou xylène) et ceci durant 15 minutes à chaque bain, puis une réhydratation par passage dans des bains d'alcools de titre décroissant, de 100° jusqu'à 70° durant 5 minutes pour chaque bain.

Après cette réhydratation, les coupes ont subi une coloration, le but est de renforcer le contraste et de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires. Au cours de cette coloration, on a fait agir successivement un colorant nucléaire, l'hématoxyline et un colorant.

Cytoplasmique l'éosine (la composition du colorant et leur préparation figure en annexe n° IX), le processus de la coloration a suivi les étapes suivantes :

- Coloration avec l'hématoxyline de Harris pendant 25 minutes ;
- Rinçage dans l'eau du robinet pendant 15 minutes ;
- Réduction de la coloration du noyau par trempage rapide (1-2 secondes) dans l'acide chlorhydrique à 1% ;
- Lavage rapide à l'eau pour éliminer l'excès d'acide ;
- Coloration à l'éosine pendant 15 minutes ;
- Lavage à l'eau pour éliminer l'excès de colorant ;
- Déshydratation dans l'alcool à 70% pendant 10 minutes puis dans l'alcool absolu pendant 3 minutes ;
- Séchage des lames dans du papier buvard ;
- Clarification dans le xylène pendant 15 minutes ;

Après la coloration, une goutte de résine de montage (Baume de Canada) a été déposée sur la coupe, une lamelle a été appliquée de façon à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. Lors de la manipulation, aucune bulle d'air ne doit s'insérer entre la lame et la lamelle. La lecture a été réalisée à l'aide d'un microscope photonique tri-oculaire (Zeiss Primo Star) couplé à une caméra de type AXIOCOMER C5S (Suvarna *et al.*, 2018).

I.11 Modèle Informatique d'apprentissage pour évaluer l'effet modulateur de NS sur le stress oxydatif.

I.11.1 Protocole expérimental

I.11.1.1 Synthèse de liquides ioniques : Synthèse de Chlorure de 1-(2-hydroxyéthyl)-3-méthylimidazolium [EtOHMIM⁺] [Cl⁻]

a. Réaction de quaternisation de l'atome d'azote

Un mélange équimolaire de 2-chloroéthanol (10 mmol, 0,67 ml) et de 1-méthylimidazole (10 mmol, 1,1 g) est chauffé à 120 °C pendant 24 heures sous agitation magnétique vigoureuse.

Après refroidissement à température ambiante, le produit obtenu (cristallin à température ambiante) est finement broyé, lavé avec de l'éther diéthylique (3 x 80 ml), puis filtré à travers une verre fritté de porosité n° 4. Le produit est enfin séché sous pression réduite pendant 10 heures afin d'éliminer toute trace de solvant (**Chaker et al,2016**). (**Figure 30**)

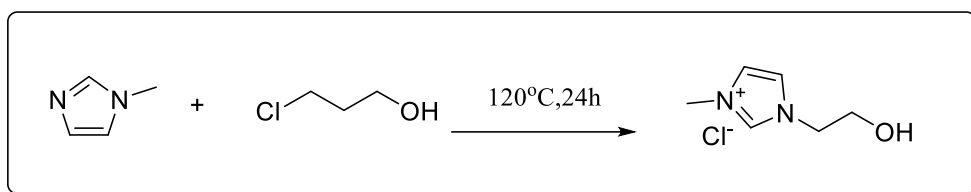


Figure 30: réaction de quaternisation

b. Réaction de métathèse anionique

Un mélange équimolaire de chlorure de 1-(2-hydroxyéthyl)-3-méthylimidazolium (9,1 g, 56 mmol) et d'hexafluorophosphate de potassium (10 g, 56 mmol) dans 370 ml d'acétonitrile est agité pendant 24 heures à température ambiante et protégé de l'air. Après filtration du mélange réactionnel brut à travers une fritte de verre contenant un lit de célite, le solvant du filtrat est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite. Le résidu d'évaporation est séché sous pression réduite pendant 3 heures à 25 °C, puis stocké sous atmosphère inerte (**Zaoui et al,2021**). (**Figure 31**)

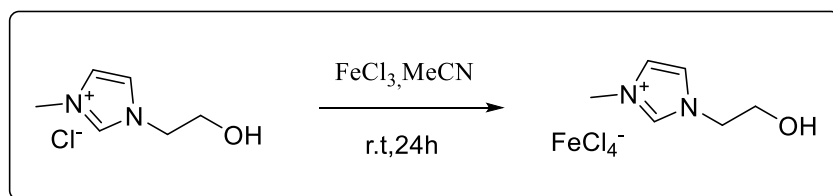


Figure 31: réaction de métathèse anionique (échange d'anion)

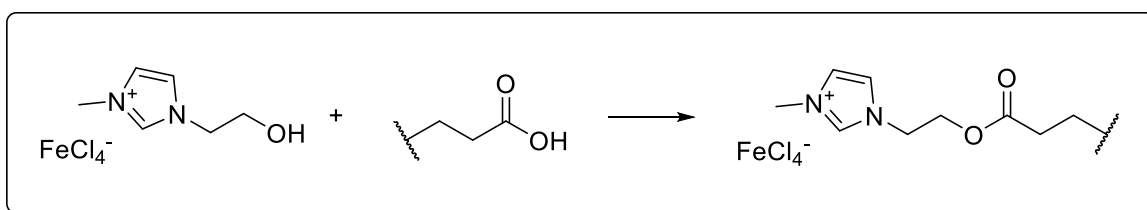


Figure 32: Interaction du liquide ionique avec l'acide gras présent dans la solution

La figure 32 **Figure 32** montre la possibilité d'une interaction entre le liquide ionique et les acides gras dans l'homogénat. Cette interaction se produit par une réaction d'estérification entre la fonction alcool du cation [EtOHmim]⁺ dans le liquide ionique et la fonction acide carboxylique de l'acide gras.

L'anion FeCl₄⁻ figure 33 **Figure 33** est formé par la réaction de l'acide de Lewis FeCl₃ et de l'ion Cl⁻ provenant du liquide ionique. Selon l'équation 1, l'acide de Lewis FeCl₃ réagit avec

l'ion chlorure pour former un mélange d'anions suivant un équilibre acide-base classique. Ces anions ont principalement été utilisés dans les réactions d'alkylation (**Koch et al, 1976**), d'acylation (**Valkenberg et al., 2001**) et de sulfonation (**Nara et al., 2001**) des systèmes aromatiques. Les chlorures ferriques sont considérés comme la première génération de liquides ioniques (anions polynucléaires à caractère « acide de Lewis »).

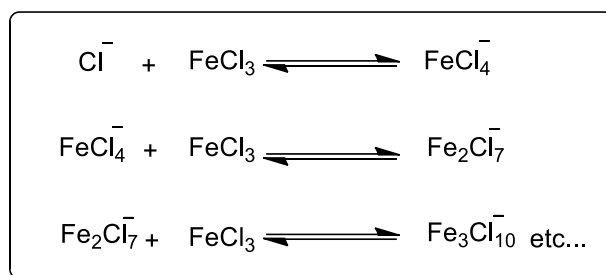


Figure 33: équation de réaction l'acide de Lewis FeCl_3 avec l'ion chlorure

I.11.1.2 Synthèses de nanoparticule du foie

Dans cette partie, nous allons utiliser l'homogénat de foie des différents groupes expérimentaux cités précédemment (RS : groupe standard, RSP : groupe standard + NS, RHG : groupe HG, RHGP : Groupe HG + NS).

Cet homogénat a été dopé avec le liquide ionique hydroxylé

Nous avons procédé à la cristallisation de l'homogénat de différents groupes en l'associant d'abord à un composé de cellulose. Cette étape visait à absorber l' H_2O présente dans l'homogénat. Nous avons ensuite créé un mélange avec le liquide ionique, qui a la propriété de fixer et de séparer l'homogénat en nanoparticules. Nous avons effectué des mesures diélectrique, DRX et UV- visible.

I.11.1.3 Mesure diélectrique

❖ Principe

Les propriétés diélectriques des matériaux sont obtenues à partir de leur permittivité relative complexe mesurée $\hat{\epsilon} = \epsilon' - j\epsilon''$

où ϵ' est la permittivité relative du matériau et ϵ'' le facteur de perte de déphasage qui lui est associé, de sorte que $\epsilon'' = \sigma / \epsilon_0 \omega$ est la conductivité totale du matériau qui, selon la nature de l'échantillon, peut inclure une contribution provenant d'une conductivité ionique indépendante de la fréquence, ϵ_0 , est la permittivité de l'espace libre et ω la fréquence angulaire du champ.

L'unité SI de conductivité est le siemens par mètre ($S\ m^{-1}$), ce qui suppose que dans l'expression ci-dessus, ϵ_0 est exprimé en farads par mètre ($F\ m^{-1}$) et ω en radians par seconde. Les propriétés diélectriques sont déterminées comme des valeurs ϵ' et ϵ'' , ou des valeurs ϵ' et σ , en fonction de la fréquence.

Les propriétés diélectriques d'un tissu biologique résultent de l'interaction du rayonnement électromagnétique avec ses constituants tant au niveau cellulaire que moléculaire. Les mécanismes sous-jacents à cette interaction sont bien établis et largement étudiés. Ces propriétés, ainsi que la conductivité du milieu biologique, varient en fonction de la fréquence. Toutefois, leur détermination expérimentale demeure complexe, principalement en raison du phénomène de polarisation, qui se manifeste à basse fréquence et engendre des erreurs dans la mesure de la bioimpédance. De plus, l'évaluation précise de ces paramètres requiert l'utilisation d'instruments de mesure à haute performance (**Gabriel et al.,1996**)

I.11.1.4 Mesure DRX (diffraction des rayons X)

❖ Principe

La diffraction des rayons X (DRX/XRD) permet de déterminer la structure cristalline à partir de l'interférence constructive de rayons X monochromatiques diffractés par les plans atomiques d'un cristal (**Epp,2016**)

I.11.1.5 Mesure UV-Visible

❖ Principe

Le principe de l'UV-visible, fondement de la spectroscopie, repose sur les spectres uniques produits lorsque des substances chimiques absorbent la lumière ultraviolette ou visible. La spectroscopie est basée sur l'interaction entre la lumière et la matière. Un spectre est créé lorsque la matière absorbe la lumière et traverse des phases d'excitation et de désexcitation. Le spectre observé montre comment différentes longueurs d'onde interagissent avec des entités discrètes telles que les atomes, les molécules et les macromolécules. Lorsque les états excités et fondamentaux d'une molécule ont des énergies différentes, l'absorption se produit parce que la fréquence de la lumière incidente correspond à cette différence (**Shabbir & Chauhan, 2024**).

I.11.1.6 Traitement informatique des données expérimentales

Ce travail vise à exploiter l'intelligence artificielle pour prédire les mesures DRX à partir de mesures diélectriques. En estimant l'angle θ à partir à la fois de l'épsilon et de l'énergie totale en eV, nous présentons une approche complète utilisant des réseaux neuronaux artificiels (RNA). Les données expérimentales ont été divisées en deux parties : 80 % pour l'entraînement et 20 % pour la vérification. Nous avons mené des expériences approfondies avec différentes configurations de réseau dans Matlab, en optimisant la marge d'erreur la plus faible.

I.11.1.6.1 Collecte et préparation des données

Les données expérimentales comprennent des mesures diélectriques, notamment les valeurs Epsilon et d'énergie totale. L'ensemble de données a été divisé en deux parties : 80 % pour l'entraînement du réseau neuronal artificiel et 20 % pour tester ses performances prédictives. Cette division garantit que le réseau apprend à partir d'une partie substantielle des données tout en conservant un ensemble de vérification distinct pour évaluer sa précision.

I.11.1.6.2 Configuration réseau et formation

À l'aide de Matlab, différentes configurations de réseaux neuronaux artificiels ont été testées en modifiant le nombre de couches, de neurones et de fonctions d'activation. Chaque configuration de réseau visait à optimiser la prédiction de l'angle θ .

Couches : différentes configurations ont été testées, allant de réseaux simples à deux couches à des architectures multicouches plus complexes.

- Neurones : nous avons testé différentes valeurs pour le nombre de neurones dans chaque couche afin de déterminer la taille optimale.

- Fonctions d'activation : différentes fonctions d'activation, telles que sigmoid, tanh et ReLU, ont été testées afin d'identifier la plus efficace pour notre problème spécifique.

➤ Évaluation des performances

Après l'entraînement, les performances du réseau ont été évaluées à l'aide des 20 % de données de vérification. Le principal indicateur de performance était la marge d'erreur entre les mesures DRX prédites et réelles. Nous avons cherché à minimiser cette erreur par des tests itératifs et des ajustements de configuration.

Après avoir testé plusieurs configurations, le réseau présentant la marge d'erreur la plus faible a été sélectionné. La configuration finale a démontré une capacité robuste à prédire les mesures DRX avec une marge d'erreur d'environ 7 degrés. Cette performance a été observée de manière constante dans l'ensemble de données de vérification.

I.12 Analyse statistique

Les Résultats obtenus sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ SEM (Standard error of the mean). L'analyse statistique des données a été conduite en utilisant le logiciel STATISTICA (version 6.1, Statsoft, Tulsa. OK). La comparaison des moyennes (comparaison entre les quatre groupes de souris) a été réalisée via le test ANOVA à un facteur. Ce dernier a été complété par le test LSD afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour un p value inférieur à 0,05 dans l'ensemble des analyses statistiques. Les constations suivantes ont été retenues :

- Pour un $P < 0,05$ la différence est significative (*)
- Pour un $p < 0,01$ la différence est très significative (**)
- Pour un $p < 0,001$ la différence est hautement significative (***)

Chapitre III

Résultats et discussions

Chapitre II. Résultats et discussions

II.1 Composés bioactifs et antioxydants dans NS

La spectroscopie FT-IR est reconnue comme une technique rapide et efficace pour identifier divers groupes fonctionnels dans un échantillon (Nivetha & Prasanna, 2016 ; Bruce *et al.*, 2021). Cette méthode est particulièrement avantageuse en raison de sa capacité à détecter les bandes associées aux molécules organiques, telles que les acides et les polyphénols (Nivetha & Prasanna, 2016 ; Bruce *et al.*, 2021). Dans cette étude, une analyse FT-IR a été réalisée sur la poudre de NS. Les résultats, y compris les valeurs maximales FT-IR et leurs groupes fonctionnels correspondants, sont présentés dans la figure 34 et le tableau 4. Un pic à 3282 cm^{-1} indique la présence d'un groupe fonctionnel phénolique. Les pics à 2917 cm^{-1} et 2849 cm^{-1} indiquent des vibrations d'étirement C-H, suggérant la présence de groupes alcane. Le pic d'absorption à 1644 cm^{-1} est associé à l'étirement aromatique C=C. Le pic à 1030 cm^{-1} suggère une flexion C-H, indicative de groupes alcool ou acide. De plus, la flexion C-H observée à cette fréquence confirme la présence d'un groupe aromatique.

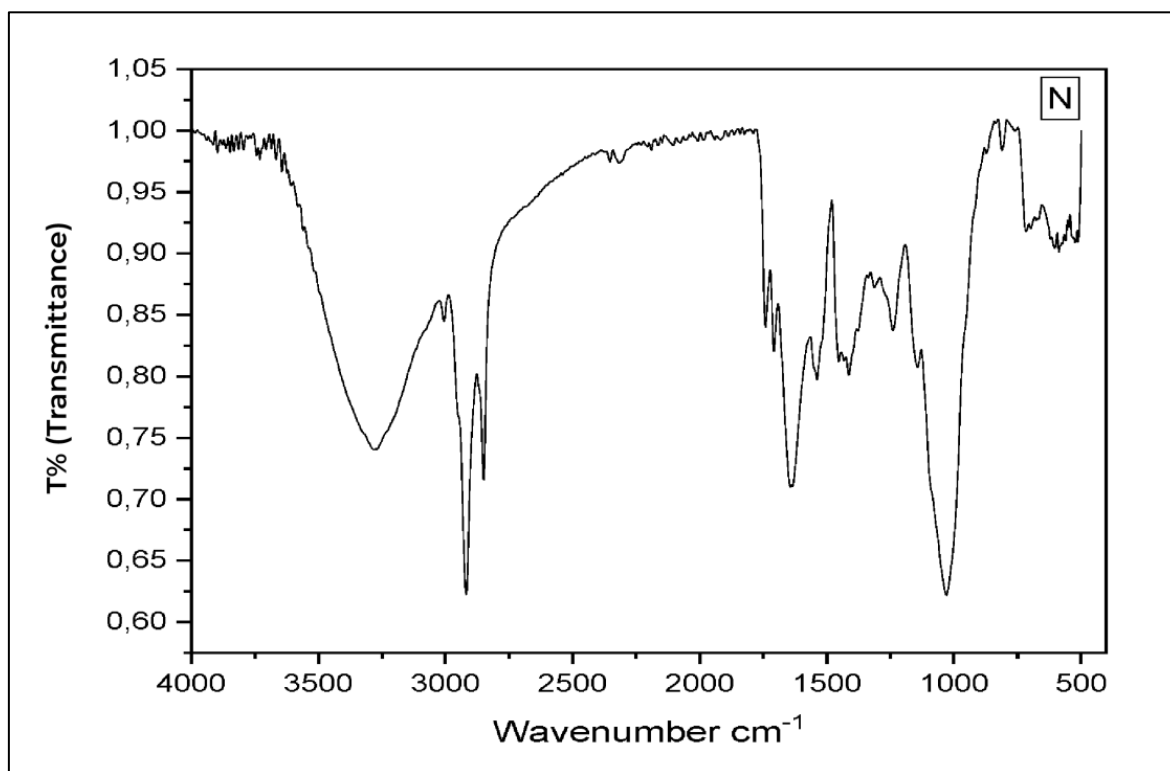


Figure 34: Spectres FT-IR de la poudre de NS

Tableau 4 : Principaux pics observés dans le spectre FT-IR de la poudre de NS

Bande	Groupes fonctionnels identifiés	Classe des composés
1	3282	O-H Vibration d'élongation/H- liaison
2	2917	C-H Vibration d'élongation
3	2849	C-H Vibration d'élongation
4	1644	C=C Vibration d'élongation des liaisons aromatiques
5	1030	C-O Vibration d'élongation
6	697	C-H Vibration de déformation

II.2 Effet préventif de NS vis-à-vis du stress oxydatif et de ses complications

Cette section d'étude se compose de deux volets distincts. Le premier volet vise à valider l'effet perturbateur d'un régime hypergras contenant 48 % de graisse selon la description de **Garait et al., (2005)** et enrichi en FeCl₃ selon l'étude de **Hininger-Favier et al., (2016)**. Il s'intéresse particulièrement à l'évaluation des impacts de ce régime sur les paramètres biochimiques et les variations des paramètres associés au stress oxydatif et ses conséquences sur les organes vitaux de l'organisme (cerveau, foie et cœur).

II.2.1 Impact de régime de HG /Fe et de NS sur l'évolution de la masse corporelle

Au début de l'expérimentation, les souris utilisées présentaient un poids initial homogène de 28,17± 0,01 g. Elles ont reçu pendant les 11 semaines d'expérimentation un régime standard pour le groupe ST et ST+N et un régime hypergras (48 %) enrichi en matière grasse et supplémenté en FeCl₃ pour les groupes HG/Fe et HG/F+N. A La fin de la période, les poids corporels finaux des 4 lots atteignaient respectivement une 39,6 ± 1,63 g et 43,2±1,95 g pour les groupes ST et ST+N ainsi que 45,2 ±1.11 g et 42,85±1,43g pour les groupes HG/Fe et HG/F + N. Les résultats obtenus concernant l'évolution du poids corporel des 4 groupes expérimentaux, ont permis d'établir les courbes représentées dans la **Figure 35**.

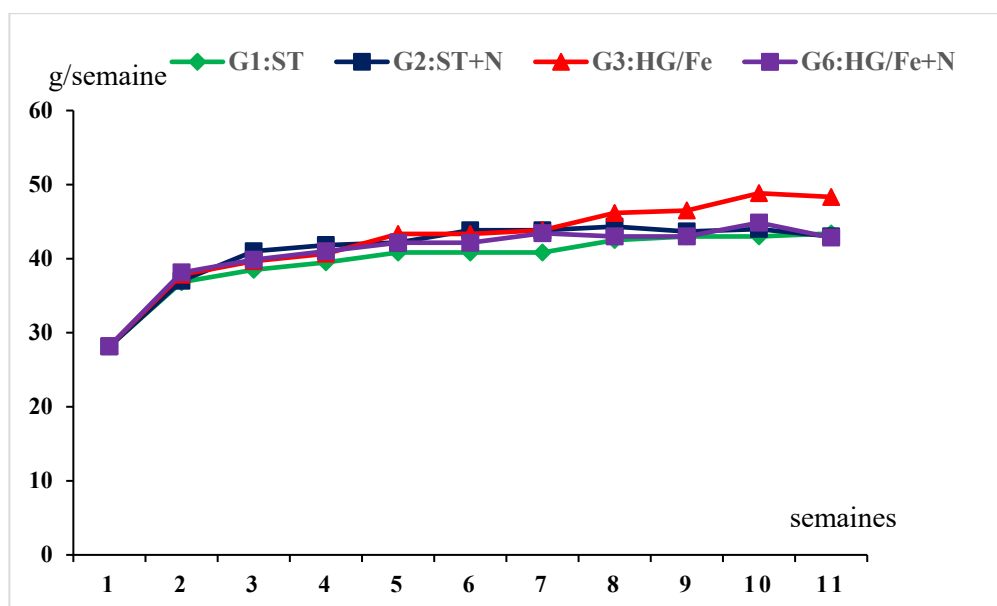


Figure 35: Evolution de la masse corporelle des souris durant les 11 semaines de traitement

II.2.2 Impact de régime HG/Fe associé ou non au NS sur le poids des organes après 11 semaines d'expérimentation

Le poids des organes chez quatre groupes est illustré dans le tableau 5, aucune variation significative n'a été observée dans le poids des organes entre les quatre groupes expérimentaux, à l'exception du tissu adipeux. En effet, les souris du groupe HG/Fe présentent une masse de tissu adipeux évaluée à $1,48 \pm 0,3$ g nettement supérieure à celle des souris du groupe ST ($0,40 \pm 0,12$ g) ainsi qu'à celle du groupe ST + N ($0,36 \pm 0,06$ g). Toutefois, l'incorporation de NS au régime HG induit une diminution non significative du poids de ce tissu par rapport au groupe HG/Fe. De plus, la masse de tissu adipeux du groupe HG/Fe + N reste toujours significativement supérieure à celle des deux groupes standards.

Tableau 5 : Poids des différents organes, des souris prélevés (g) après 11 semaines d'expérimentation

Organes (g)	Groupes expérimentaux			
	G1 :ST	G2 :ST + N	G3 : HG/Fe	G4 : HG/Fe + N
Cerveau	0,38±0,03	0,37±0,03	0,43±0,02	0,45±0,05
Cœur	0,18±0,01	0,21±0,01	0,21±0,01	0,20±0,03
Foie	1,70±0,16	2,09±0,11	1,72±0,07	1,97±0,12
Reins	0,66±0,04	0,67±0,12	0,68±0,03	0,79±0,05
T. adipeux	0,40±0,12 ^{***#}	0,36±0,06 ^{***#}	1,48±0,3	1,09±0,25
Testicule	0,17±0,05	0,23±0,03	0,24±0,02	0,24±0,01
Rate	0,15±0,01	0,24±0,08	0,17±0,01	0,14±0,03

*Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard ; avec (n=6) ; (*p<0,05 ; **p<0,001 ; ***p<0,001) différence significative par rapport au groupe HG/Fe ; (#p<0,05 ; ##p<0,001 ; ###p<0,001) différence significative par rapport au groupe HG/Fe+N.*

II.2.3 Impact de régime HG enrichi en fer associé ou non au NS sur les paramètres biochimiques plasmatiques

II.2.3.1 Effet sur les teneurs plasmatiques en glucose

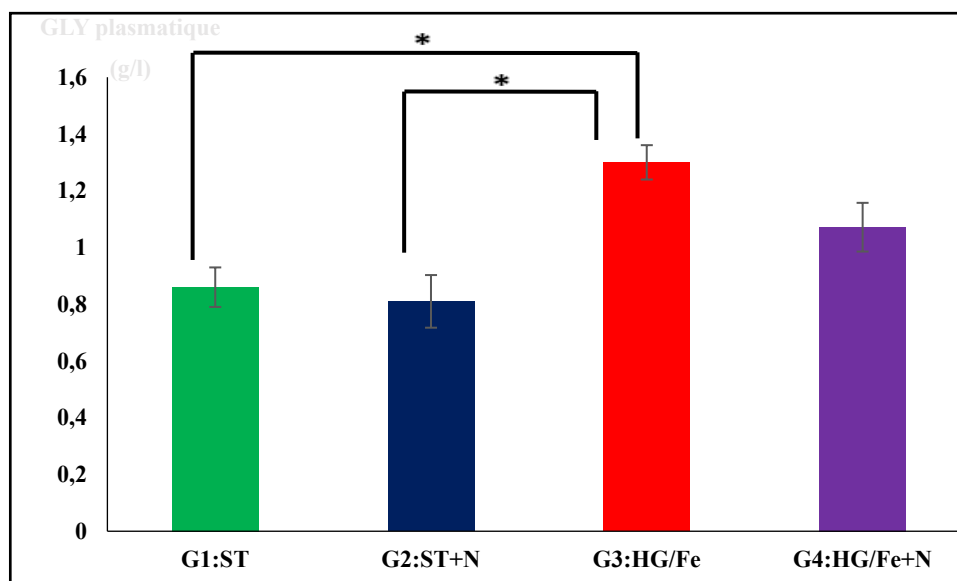


Figure 36: Teneur plasmatique en glucose (g/l) chez les différents groupes de souris après 11 semaines

(GLY : glucose). (Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ erreur standard ; avec $n=6$)

Après 11 semaines d'expérimentation, les souris soumises au régime hypergras enrichi en FeCl_3 provoquant une augmentation significative de la teneur plasmatique en glucose par rapport au groupe standard supplémenté ou non en poudre de NS ($1,3 \pm 0,06 \text{ g/L}$ *versus* $0,86 \pm 0,06 \text{ g/L}$; $0,81 \pm 0,09 \text{ g/L}$). La supplémentation en NS dans le régime HG/Fe réduit cette teneur mais cette diminution est non significative. (Figure 36)

II.2.3.2 Effet sur le profil lipidique plasmatique : triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL

La consommation quotidienne d'un régime riche en gras pendant 11 semaines entraîne une perturbation du profil lipidique des souris. Ceci se traduit par une élévation des taux plasmatiques du cholestérol total, des triglycérides et des fractions lipoprotéiques C-LDL ainsi que par une diminution hautement significative des taux plasmatiques des fractions lipoprotéiques en C-HDL. (Figure 37)

En effet, on note une augmentation hautement significative du cholestérol total chez le groupe HG/Fe supplémenté ou non en NS ($1,80 \pm 0,12 \text{ g/L}$; $1,68 \pm 0,06 \text{ g/L}$) comparé au groupe ST ($0,92 \pm 0,07 \text{ g/L}$) et au groupe ST + N ($1,07 \pm 0,12 \text{ g/L}$).

La même constatation est obtenue : une augmentation significative de triglycérides chez le groupe HG/Fe ($1,61 \pm 0,15$ g/l) par rapport au groupe ST ($0,85 \pm 0,09$ g/l) et au groupe ST+N ($0,85 \pm 0,09$ g/l). Par contre la supplémentation de HG/Fe en NS réduit de manière significative le taux de triglycérides.

Parallèlement, la supplémentation en NS dans le groupe ST augmente de manière hautement significative le taux du bon cholestérol (C-HDL) ($0,58 \pm 0,08$ g/L) en comparaison avec le groupe ST ($0,30 \pm 0,04$ g/L) et les groupes de souris nourries par le régime HG/Fe associé ou non au NS ($0,18 \pm 0,03$ g/L ; $0,30 \pm 0,07$ g/L). L'addition de NS dans le régime HG/Fe améliore le taux de HDL atteignant une valeur comparable à celle du groupe ST, cependant cette augmentation demeure non significative en comparaison avec le groupe HG/Fe.

Dans le même sens, les souris nourries un régime HG/Fe supplémenté ou non en NS ($1,29 \pm 0,13$ g/L ; $1,14 \pm 0,12$ g/L) présentent un taux de LDL plus élevé que celui observé chez le groupe standard supplémenté ou non en NS ($0,44 \pm 0,07$ g/L ; $0,32 \pm 0,13$ g/L) respectivement.

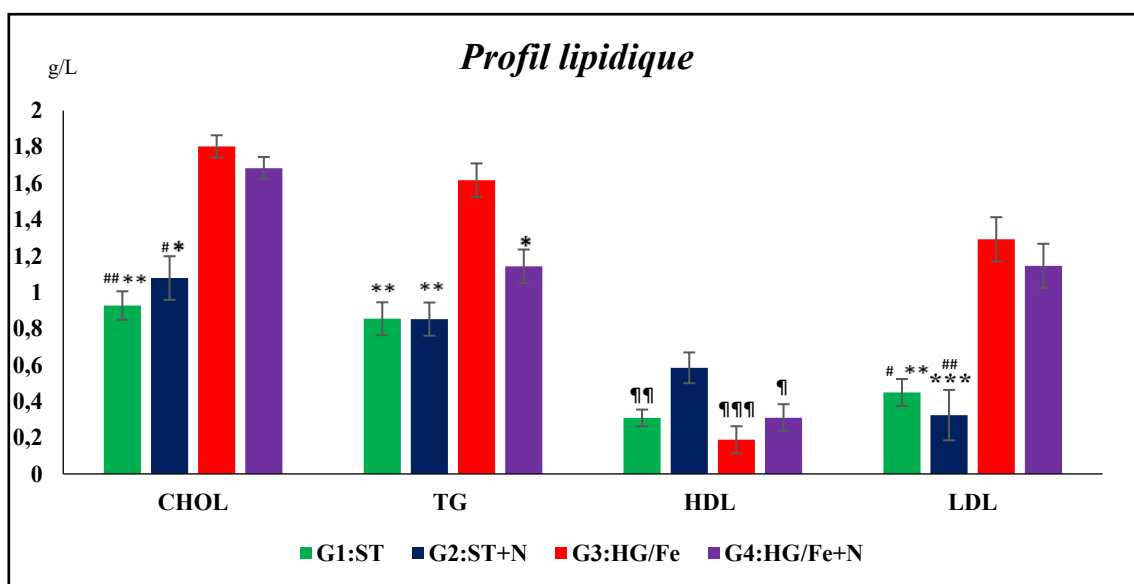


Figure 37: Profils lipidiques plasmatiques en cholestérol total, triglycéride, HDL et LDL (g/L) chez les différents groupes de souris après 11 semaines.

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ erreur standard ; avec $n=6$) (*) différence significative par rapport au groupe HG /Fe, (#) différence significative par rapport au groupe HG/Fe +N, (¶) différence significative par rapport au groupe ST+N)

II.2.3.3 Effet sur les lésions hépatiques évalués par les taux des transaminases (ASAT et ALAT)

Le régime hyperlipidique provoque des lésions hépatiques identifiées par des concentrations plasmatiques élevées des transaminases (ASAT et ALAT). En effet, des taux très élevés en ASAT et ALAT ont été constatés chez le groupe HG/Fe (on note $215 \pm 20,08$ UI/ml pour les ASAT et $43 \pm 1,82$ UI/ml pour les ALAT) comparé au groupe standard supplémenté ou non en poudre de NS (on note $136 \pm 6,96$ UI/ml ; $126 \pm 5,33$ UI/ml pour les ASAT et $31 \pm 2,44$ UI/ml ; $30 \pm 2,23$ pour les ALAT) respectivement. Néanmoins, l'incorporation de NS dans le régime hyperlipidique permet de restaurer les lésions hépatique en provoquant une diminution des taux de ces deux enzymes pour le groupe HG/Fe + N, qui sont évalués à $153,57 \pm 2,98$ UI/ml pour les ASAT et à $30 \pm 2,43$ UI/ml pour les ALAT, versus le groupe HG/Fe.

En revanche les niveaux plasmatiques d'acide urique, d'urée, de créatinine et de protéines totales ne montrent aucun résultat significatif entre les quatre groupes. Cela peut être expliqué par la courte durée de l'expérimentation animale pour l'installation des perturbations dans le bilan rénal. Néanmoins cette durée est suffisante pour provoquer des perturbations dans le profil lipidique et hépatique. (Voir tableau 6)

Tableau 6 : Impact d'un régime HG enrichi en fer associé ou non au NS sur les transaminases hépatiques (ASAT et ALAT) et sur les paramètres biochimiques rénaux après 11 semaines d'expérimentation.

Paramètres	Groupes expérimentaux			
biochimiques	G1 :ST	G2 :ST+N	G3 : HG/Fe	G4 : HG/Fe+ N
ASAT(UI/ml)	$136 \pm 6,96^*$	$126 \pm 5,33^{**}$	$215 \pm 20,08$	$153,57 \pm 2,98^*$
ALAT(UI/ml)	$31 \pm 2,44^*$	$30 \pm 2,23^*$	$43 \pm 1,82$	$30 \pm 2,43^{**}$
Acide urique (mg/l)	$23 \pm 1,37$	$24 \pm 5,09$	$31,66 \pm 6,54$	$37,14 \pm 8,65$
Urée (g/L)	$0,4 \pm 0,05$	$0,31 \pm 0,04$	$0,29 \pm 0,15$	$0,4 \pm 0,06$
Créatinine (mg/l)	$4,3 \pm 0,37$	$4,1 \pm 0,57$	$4,41 \pm 0,41$	$3,64 \pm 0,35$
Protéine totale (g/L)	$53,7 \pm 3,55$	$47,3 \pm 3,27$	$56,16 \pm 1,64$	$66,64 \pm 8,35$

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ erreur standard ; avec ($n=6$) ; (* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,001$) différence significative par rapport au groupe HG/Fe ;

II.2.4 Impact de régime HG enrichi en fer associé ou non au NS sur les paramètres de stress oxydatif

II.2.4.1 Evaluation du pouvoir réducteur total au niveau plasmatique et tissulaire

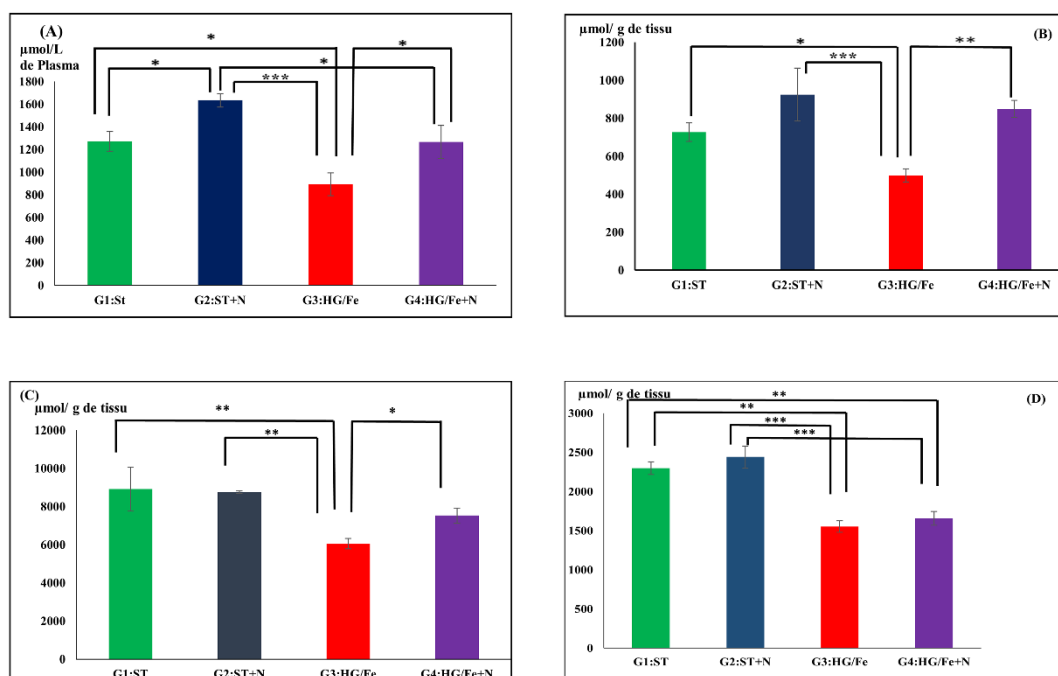


Figure 38: Le pouvoir réducteur A : plasmatique ($\mu\text{mol/L}$), B :cérébrale :hépatique et D :cardiaque($\mu\text{mol/g}$ de tissu), chez les différents groupes de souris après 11 semaines.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ erreur standard ; avec (n=6).

Les résultats des évaluations du pouvoir réducteur plasmatique (PRP), du pouvoir réducteur tissulaire (PRC : cérébral, PRH : hépatique et PRCa : cardiaque) sont présentés dans la figure 38. Ces résultats indiquent que le régime riche en graisses et supplémenté en fer (HG/Fe) affecte de manière significative le pouvoir réducteur (PR) évalué par la technique FRAP.

Plus précisément, les souris ayant reçu le régime HG/Fe ont présenté un PR significativement plus faible en comparaison avec le groupe ST. Ceci a été constaté au niveau plasmatique ($893,39 \pm 101,66 \mu\text{mol/l}$ versus $1271,2 \pm 86,94 \mu\text{mol/l}$), ($498,82 \pm 35,52 \mu\text{mol/g}$ de tissu versus $727,05 \pm 49,01 \mu\text{mol/g}$ de tissu) au niveau cérébral, ($6051,39 \pm 273,86 \mu\text{mol/g}$ de tissu versus $8920,54 \pm 1145,47 \mu\text{mol/g}$ de tissu) au niveau du foie et ($1553,04 \pm 74,73 \mu\text{mol/g}$ de tissu versus $2299,13 \pm 81,49 \mu\text{mol/g}$ de tissu) au niveau du cœur.

L'incorporation de poudre de NS dans le régime alimentaire standard a amélioré de manière significative l'activité antioxydante, à la fois au niveau plasmatique et au niveau tissulaire. En effet, le groupe ST+N a montré une augmentation hautement significative du PR par rapport au groupe HG/Fe : on note $1633,74 \pm 58,92 \mu\text{mol/l}$ versus $893,39 \pm 101,66 \mu\text{mol/l}$ au niveau plasmatique $924,70 \pm 139,82 \mu\text{mol/g}$ de tissu versus $498,82 \pm 35,52 \mu\text{mol/g}$ de tissu au niveau cérébral ; $8759,03 \pm 74,59 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $6051,39 \pm 273,86 \mu\text{mol/g}$ de tissu au niveau hépatique et $2441,73 \pm 141,59 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $1553,04 \pm 74,73 \mu\text{mol/g}$ de tissu au niveau cardiaque.

Cependant, l'incorporation de NS dans le régime HG/Fe a amélioré de manière significative le PRP, le PRC, et le PRH chez les souris. Cette amélioration est particulièrement évidente lorsqu'on compare le PRP, le PRC, et le PRH des souris traitées avec le HG/Fe supplémenté en NS à celles des souris traitées uniquement avec le HG/Fe : on note $1266,90 \pm 147,66 \mu\text{mol/l}$ *versus* $893,39 \pm 101,08 \mu\text{mol/l}$ au niveau plasmatique, $849,41 \pm 44,64 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $498,82 \pm 35,52 \mu\text{mol/g}$ de tissu au niveau cérébral et $7528,75 \pm 399,23 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $6051,39 \pm 273,86 \mu\text{mol/g}$ de tissu au niveau hépatique. Toutefois, aucune amélioration significative n'a été observée au niveau du cœur.

II.2.4.2 Effet sur la teneur en vitamine C tissulaire

Les résultats présentés dans le tableau 7, indiquent que le régime HG/Fe élaboré au cours de cette étude diminue significativement les concentrations tissulaires en vitamine C, cette diminution est estimée à $40,20 \pm 4,23 \mu\text{g/l}$; $34,80 \pm 2,22 \mu\text{g/l}$ pour le groupe HG/Fe dans le foie et le cœur en opposition aux souris de groupe ST ($63,50 \pm 5,17 \mu\text{g/l}$; $58,18 \pm 4,53 \mu\text{g/l}$) au niveau hépatique et cardiaque respectivement.

L'incorporation du NS au régime HG/Fe, améliore significativement les concentrations en vitamine C. en effet les concentrations en vitamine C au niveau hépatique chez le groupe de souris HG/Fe +N, sont significativement supérieures à celles des souris qui reçoivent uniquement le régime HG /Fe ($57,93 \pm 4,05 \mu\text{g/l}$ versus $40,20 \pm 4,23 \mu\text{g/l}$). Cependant cette augmentation de concentration n'est pas significative au niveau du cœur.

Tableau 7: Effet de NS sur le teneurs tissulaires ($\mu\text{g/g}$ de tissus) en vitamine C des souris nourries par le régime HG supplémenté de FeCl_3 après 11 semaines d'expérimentation

Paramètres	G1 :ST	G2 : ST+N	G3 : HF/Fe	G4 : HF/Fe +N
Teneur hépatique en Vit C ($\mu\text{g/ g}$ de tissus)	63,50$\pm$5,17	50,58$\pm$4,62	40,20$\pm$4,23 ****##	57,93 $\pm$ 4,05
Teneur Cardiaque en Vit C ($\mu\text{g/ g}$ de tissus)	58,18$\pm$4,53	46,88$\pm$4,30	34,80$\pm$2,22 **	40,96$\pm$3,94 **

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ erreur standard ; avec ($n=6$) ; (* $p<0,05$; ** $p<0,001$; *** $p<0,001$) différence significative par rapport au groupe ST ; (# $p<0,05$; ## $p<0,001$; ### $p<0,001$) différence significative par rapport au groupe HG/Fe+N.

II.2.4.3 Evaluation de l'oxydation des protéines (les groupements thiols) au niveau plasmatique et tissulaire

L'évaluation de l'oxydation des protéines dans le plasma et les tissus (figures 39) montre que le groupe HG/Fe présente des altérations significatives de l'oxydation des protéines. Ceci est mis en évidence par une réduction marquée de la teneur en groupes thiols évaluée à $366,31 \pm 15,54 \mu\text{mol/L}$ en comparaison avec le groupe ST ($683,29 \pm 23,93 \mu\text{mol/L}$) et le groupe ST supplémenté en NS ($828,95 \pm 64,99 \mu\text{mol/L}$) au niveau du plasma.

De même, les résultats concernant l'homogénat des tissus (cerveau, foie, cœur) corroborent ces conclusions, montrant des niveaux de thiols significativement plus faibles dans le groupe HG/Fe ($752,15 \pm 44,81 \mu\text{mol/ g}$ de tissu) par rapport au groupe ST ($1063,52 \pm 59,10 \mu\text{mol/ g}$ de tissu) et au groupe ST+N ($1371,76 \pm 162,97 \mu\text{mol/ g}$ de tissu) au niveau du cerveau, on note $2619,06 \pm 186,30 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $4133,48 \pm 404,44 \mu\text{mol/g}$ de tissu ; $3444,92 \pm 384,17 \mu\text{mol/g}$ de tissu) au niveau du foie. Le même résultat a été observé au niveau du cœur, pour le groupe HG/Fe ($1553,04 \pm 74,73 \mu\text{mol/ g}$ de tissu) lorsqu'on compare avec le groupe standard supplémentée ou non en NS ($2299,13 \pm 81,49 \mu\text{mol/g}$ de tissu, $2441,73 \pm 141,59 \mu\text{mol/ g}$ de tissu) respectivement.

L'incorporation de NS dans un régime alimentaire riche en graisses démontre un effet protecteur contre l'oxydation des protéines. Ceci est mis en évidence par une augmentation de la teneur en thiol dans le groupe recevant le régime HG/Fe +N par rapport au groupe HG/Fe estimée à $(526,84 \pm 25,64 \text{ } \mu\text{mol/L versus } 366,31 \pm 15,54 \text{ } \mu\text{mol/L})$ au niveau du plasmatique et $(1272,60 \pm 64,22 \text{ } \mu\text{mol/g de tissu versus } 752,15 \pm 44,81 \text{ } \mu\text{mol/g de tissu})$ au niveau cérébral.

Parallèlement, les résultats des dosages des groupements SH au niveau hépatique et cardiaque après l'incorporation de NS dans le régime HG, révèlent une augmentation hautement significative des teneurs hépatiques et cardiaques en groupements SH par rapport au groupe HG $(3611,59 \pm 308,45 \text{ } \mu\text{mol/g de tissu versus } 2619,06 \pm 186,3 \text{ } \mu\text{mol/g de tissu})$ au niveau du foie, et $(1657,39 \pm 88,37 \text{ } \mu\text{mol/g de tissu versus } 1553,04 \pm 74,73 \text{ } \mu\text{mol/g de tissu})$ au niveau du cœur.

Cependant, cet effet protecteur reste toujours inférieur à celui des groupes témoins. Plus précisément et au niveau plasmatique, une augmentation très significative de la teneur en thiols est observée à la fois dans le groupe ST et dans le groupe ST+N par rapport au groupe HG/Fe+N $(683,29 \pm 23,93 \text{ } \mu\text{mol/L ; } 828,95 \pm 64,99 \text{ } \mu\text{mol/l versus } 526,84 \pm 25,64 \text{ } \mu\text{mol/l})$. Une tendance similaire est observée au niveau cérébral, en particulier dans le groupe témoin supplémenté en NS, bien que cette augmentation ne soit pas statistiquement significative.

Un autre résultat intéressant a été observé dans le groupe ST+N, celui-ci montre une forte protection contre la peroxydation des protéines par rapport au groupe ST. Une augmentation significative de la teneur en thiols a été observée dans le groupe ST recevant de NS ($828,95 \pm 64,99 \mu\text{mol/L}$), par rapport au groupe ST ($683,29 \pm 23,93 \mu\text{mol/L}$) au niveau du plasma et ($1371,76 \pm 162,97 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $1063,52 \pm 59,10 \mu\text{mol/g}$ de tissu) au niveau du cerveau.

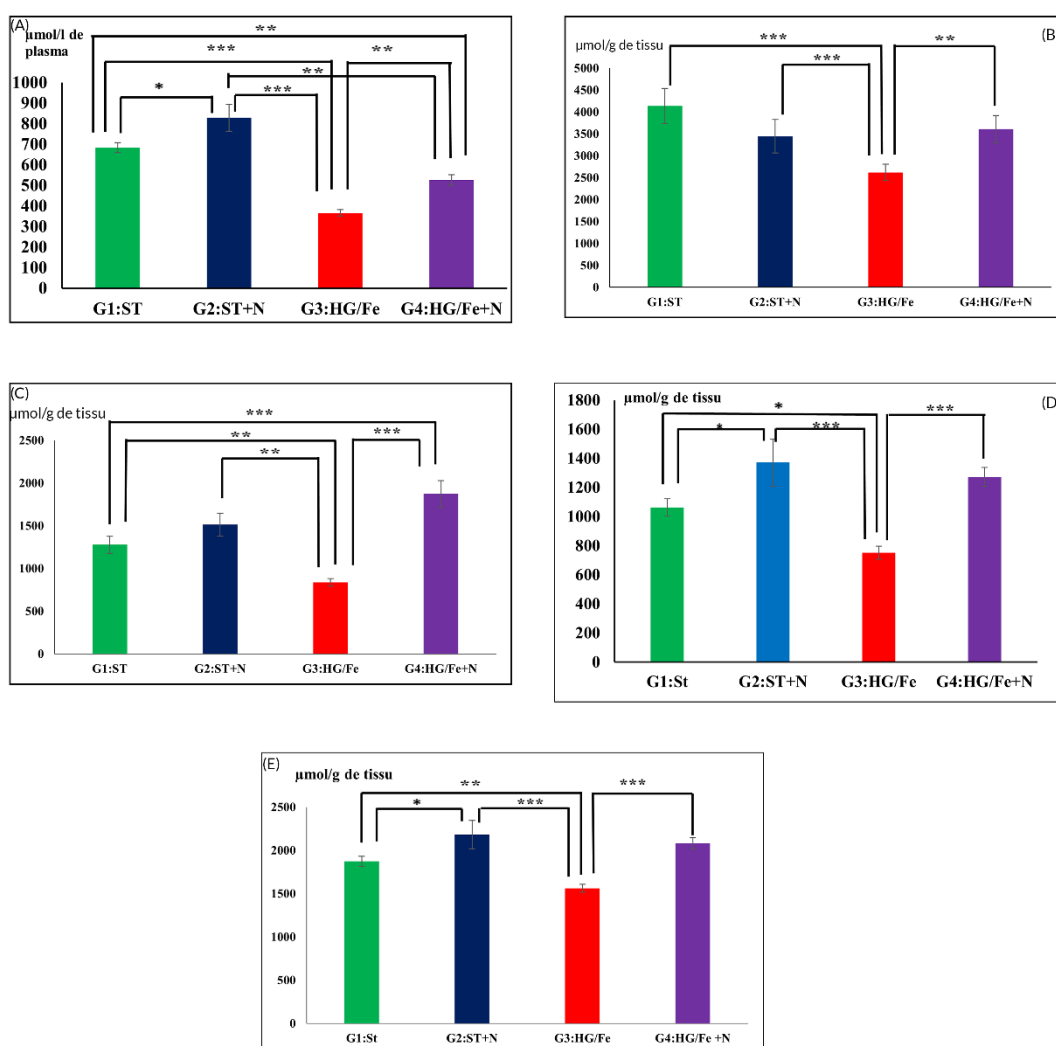


Figure 39 : la concentration des groupements thiols plasmatique ($\mu\text{mol/L}$), tissulaire et GSH réduit cérébral ($\mu\text{mol/g}$ de tissu) chez les différents groupes de souris après 11 semaines

A : plasmatique, B : Cerebrale, C : Hepatique et D : cardiaque, E : GSH réduit cérébral ($\mu\text{mol/g}$ de tissu) Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ erreur standard ; avec ($n=6$) .

Dans cette étude (figure 39 **Figure 39**), la concentration de GSH était réduite dans le tissu cérébral des souris nourries au HG/Fe par rapport aux souris témoins. Une augmentation très significative de la concentration de GSH a été observée dans le groupe témoin supplémenté ou non en NS ($1872,94 \pm 59,10 \mu\text{mol/g}$ de tissu) ; ($2181,17 \pm 162,67 \mu\text{mol/g}$ de tissu) compare au groupe HG/Fe ($1561,56 \pm 44,81 \mu\text{mol/g}$ de tissu).

La supplémentation en NS améliore de manière significative les niveaux du GSH réduit chez les animaux nourris au HG/Fe ($2082,01 \pm 64,22 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $1561,56 \pm 44,81 \mu\text{mol/g}$ de tissu).

II.2.4.4 Effet sur l'oxydation lipidique au niveau plasmatique et tissulaire

Le régime HG/Fe utilisé dans cette étude génère une oxydation des lipides, estimée par le dosage de MDA (tableau 8). Après 11 semaines de traitement, une augmentation très significative de la concentration de MDA a été observée dans le groupe HG/Fe ($7,05 \pm 0,51 \text{ mmol/L}$) par rapport au groupe ST supplémenté ou non en NS ($4,92 \pm 0,43 \text{ mmol/L}$) ; ($3,32 \pm 0,56 \text{ mmol/L}$) au niveau plasmatique.

Dans le même contexte, une augmentation très significative et très importante des niveaux de MDA est estimée dans le groupe HF/Fe par rapport aux deux groupes standard les quels ($29,98 \pm 2,82 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $16,15 \pm 1,00 \mu\text{mol/g}$ de tissu ; $20,13 \pm 2,21 \mu\text{mol/g}$ de tissu) au niveau du cerveau ; et ($100,98 \pm 5,89 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $35,26 \pm 6,38 \mu\text{mol/g}$ de tissu ; $65,08 \pm 9,22 \mu\text{mol/g}$ de tissu) au niveau du cœur. Une tendance similaire est observée au niveau du foie, en particulier dans le groupe témoin par rapport au groupe HG/Fe ($298,71 \pm 12,67 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $160,35 \pm 37,36 \mu\text{mol/g}$ de tissu).

L'incorporation de NS dans le régime HG enrichi en FeCl_3 montre un effet très remarquable sur le taux des MDA générés par le régime HG/Fe. En effet, une réduction très significative a été constatée dans le groupe HF/Fe + N ($2,33 \pm 0,64 \text{ mmol/L}$) par rapport au groupe HF/Fe ($7,05 \pm 0,51 \text{ mmol/L}$) au niveau du plasma. Une diminution similaire des niveaux de MDA a été observée dans le groupe HF/Fe+N par rapport au groupe HF/Fe, on note $18,24 \pm 2,82 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $29,98 \pm 2,82 \mu\text{mol/g}$ de tissu au niveau cérébral ; ($298,71 \pm 12,67 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $200,90 \pm 15,40 \mu\text{mol/g}$ de tissu) au niveau hépatique et ($100,98 \pm 5,89 \mu\text{mol/g}$ de tissu *versus* $43,78 \pm 10,21 \mu\text{mol/g}$ de tissu) au niveau cardiaque. Ces résultats suggèrent que la NS exerce un effet protecteur, même en présence de taux élevés de MDA induits par le régime riche en graisses associé au fer, offrant une meilleure protection que celle observée dans les groupes témoins, tant au niveau du plasma que des organes.

Tableau 8 : Oxydation lipidique (MDA) plasmatique ($\mu\text{mol/L}$) et tissulaire ($\mu\text{mol/g}$ de tissu) des souris sous le régime hypergras enrichi en fer, supplémenté de la poudre de NS après les 11 semaines d'expérimentation

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	G1 : ST	G2 : ST+N	G3 : HG/Fe	G4 : HG/Fe +N
MDA plasmatique	4,92±0,43**	3,32±0,56***	7,05±0,51	2,33±0,64***
MDA cérébrale	16,15±1,00***	20,13±2,21**	29,98±2,12	18,24±2,82**
MDA hépatique	160,35±37,36**	231,04±37,43	298,71±12,67	200,90±15,40*
MDA cardiaque	35,26±6,38***	65,08±9,22**	100,98±5,89	43,78±10,21***

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ erreur standard ; avec ($n=6$) ; (* $p<0,05$; ** $p<0,001$; *** $p<0,001$) différence significative par rapport au groupe HG /Fe.

II.2.4.5 Effet sur la catalase érythrocytaire et cérébrale

Tableau 9: Effet de NS sur la teneur en CAT au niveau érythrocytaire ($\mu\text{mol/min/ml}$) et cérébrale ($\mu\text{mol/min/g}$ de tissu) chez différents groupes de souris après 11 semaines.

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	G1 :ST	G2 : ST+N G2	G3 : HF/Fe	G4 : HF/Fe +N
Catalase érythrocytaire	1244,38±44,52	895,75±145,79	416,78 $\pm$ 104,66 *** ##	677,53±120,19**
Catalase cérébrale	50383,02±203,14 [#]	52887,61±1374,83	48423,54±383,80*####	49304,39±219,69###

*Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ erreur standard ; avec (n=6) ; (*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$) par rapport au groupe standard (R1 :ST) ; (### $p < 0.001$; ## $p < 0.01$; # $p < 0.05$) par rapport au groupe standard +NS R2 (ST+N).*

Le tableau 9 illustre l'impact du régime HG /Fe associé ou non au NS sur l'enzyme antioxydante la CAT dans les érythrocytes et les tissus cérébraux des souris après 11 semaines de traitement. Les résultats obtenus indiquent une diminution hautement significative de l'activité CAT dans le groupe HF/Fe par rapport au groupe témoin supplémenté ou non en NS, on note $416,78 \pm 104,66 \mu\text{mol/min/ml}$ *versus* $1244,38 \pm 44,52 \mu\text{mol/min/ml}$ au niveau et $895,75 \pm 145,79 \mu\text{mol/min/ml}$ au niveau érythrocytaire.

L'incorporation de NS dans le régime HG/Fe a augmenté l'activité de CAT ; cependant, cette augmentation n'était pas statistiquement significative par rapport au groupe HG/Fe. En outre, l'activité de la CAT dans ce groupe était inférieure à celle observée dans le groupe témoin on note $677,53 \pm 120,19 \mu\text{mol/min/ml}$ *versus* $1244,38 \pm 44,52 \mu\text{mol/min/ml}$.

Dans le même contexte, nous avons observé une diminution très significative de l'activité CAT dans le groupe HF/Fe ($48423,54 \pm 383,80 \mu\text{mol/min/g}$ de tissu) par rapport au groupe ST ($50383,02 \pm 203,14 \mu\text{mol/min/g}$ de tissu), ainsi qu'une diminution très significative par rapport au groupe ST+N ($52887,61 \pm 1374,83 \mu\text{mol/min/g}$ de tissu) au niveau du cerveau. De plus, l'activité de la catalase est restée constamment plus élevée dans le groupe ST+ N par rapport au groupe ST et au groupe HF/Fe+N.

Cependant, au niveau des érythrocytes, l'activité de la catalase a montré une tendance significative à la baisse dans le groupe HF/Fe par rapport au groupe HF/Fe traité avec NS, alors qu'aucune différence significative de ce type n'a été observée au niveau du cerveau.

II.2.5 Effet contre la stéatose hépatique

Après 11 semaines de traitement par NS, les foies des souris nourris aux différents régimes ont été analysés histologiquement. Les souris du groupe ST et ST+N montrent des coupes histologiques de foies normaux figure 40 (a et b). Par contre les foies des souris de groupe HG/Fe indiquent des nombreuses vacuoles lipidiques dans les hépatocytes (figure 40 **Figure 40** c). Ces inclusions lipidiques sont réduites en taille et en nombre chez le groupe HG/Fe+N.

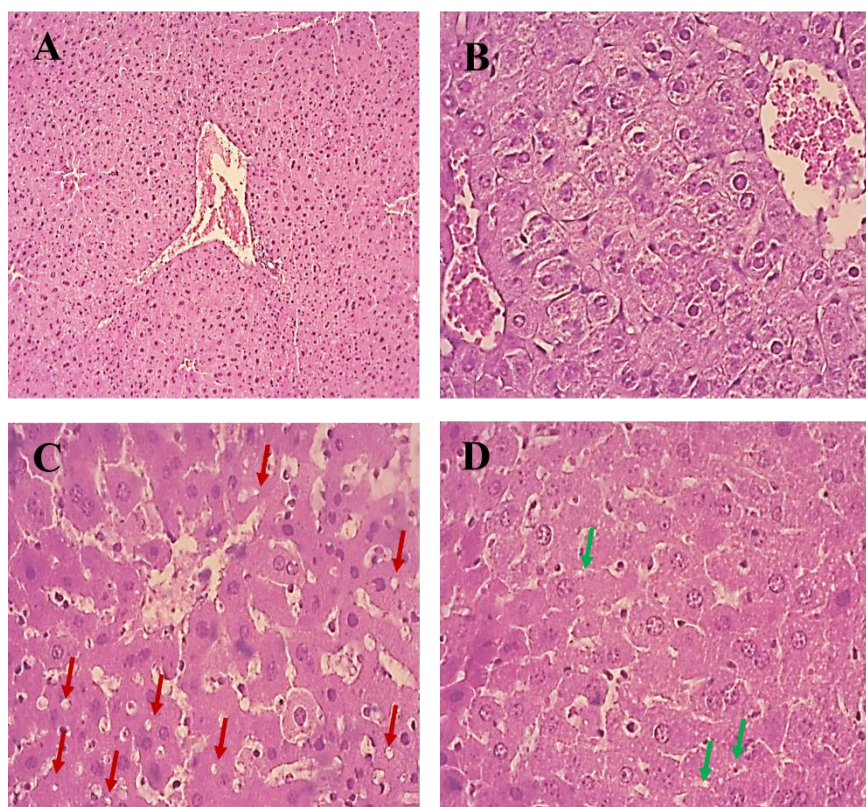


Figure 40: Observation microscopique (X40) des coupes histologiques de foie de souris de après 11 semaines de traitements.

A : groupe ST(X40), B : groupe ST+N (X10), C : groupe HG/Fe (X40) présence de vacuole lipidique (flèche rouge), D : groupe HG/Fe+N (X40) présence de vacuole lipidique (flèche verte).

II.3 Présentation des résultats de Modèle d'apprentissage pour évaluer l'effet modulateur de NS sur le stress oxydatif.

Ce travail vise à exploiter l'intelligence artificielle pour prédire les mesures DRX à partir de mesures diélectriques des homogénats de foie. En estimant l'angle θ à la fois par Epsilon et par l'énergie totale en eV, nous présentons une approche complète utilisant des réseaux neuronaux artificiels (RNA). Les données expérimentales ont été divisées en deux parties : 80 % pour l'entraînement et 20 % pour la vérification. Nous avons mené des expériences approfondies avec différentes configurations de réseau dans Matlab, en optimisant la marge d'erreur la plus faible. Nos résultats démontrent le potentiel des ANN dans la prédiction précise des mesures DRX avec un taux d'erreur observé d'environ 7 degrés.

II.3.1 Résultat des mesures diélectriques, mesure DRX et UV-visible

Nous avons effectué des mesures diélectriques (voir figure 42) et DRX (figure 43) et des mesures UV (Figure 44). La figure 41 fournit une représentation géométrique initiale du réseau de nanoparticules.

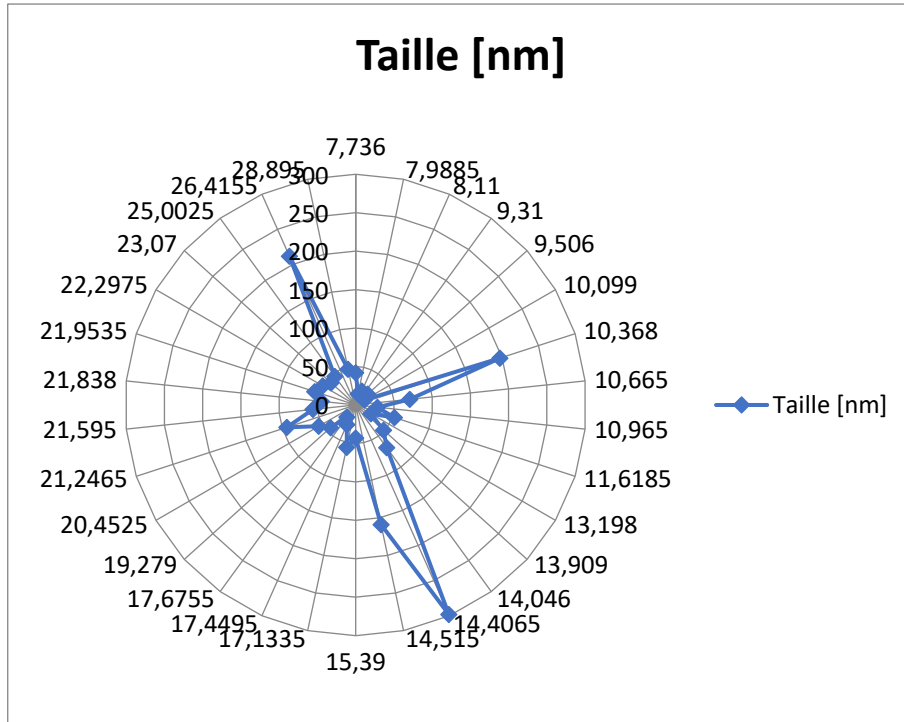


Figure 41 : Représentation du réseau de nanoparticules

Si l'on considère la cellule de mesure en plus de l'échantillon caractérisé comme un condensateur (C), la géométrie de ce système capacitif est représentée par la surface de la cathode (S) et le diamètre de l'échantillon (l) :

$$C = \varepsilon' \frac{S}{l}$$

L = 0,01 micromètre

Diamètre de l'électrode = 13 mm

L'énergie maximale de ce système est :

$$U_{max} = l E_0$$

Et l'énergie totale :

$$E_{tot} = \frac{1}{2} V \varepsilon' E_0^2 = \frac{1}{2} C U_{max}^2 = \frac{1}{2} \varepsilon' \frac{S}{l} l^2 E_0^2$$

$$\text{Enfin : } E_{tot} = \frac{1}{2} \varepsilon' S l E_0^2 = 6,256883925$$

La différence entre cette énergie calculée et le fossé énergétique :

$$\Delta E = 6.256883925 - 5.66 = 0.59 \text{ eV pour une longueur d'onde de } 207 \text{ nm}$$

$$\Delta E = 6.256883925 - 5.99 = 0.26 \text{ eV pour une longueur d'onde de } 219 \text{ nm}$$

La figure 42 présente deux courbes en fonction de la fréquence (kHz) : la conductivité électrique $\sigma(f)$ et la permittivité diélectrique $\varepsilon'(f)$, comparant plusieurs échantillons (RSP, RSP-L, RSP-H, RHPG-L, RHPG-H, substrat et échantillon sans liquide ionique). Cette analyse permet d'évaluer l'influence de la composition, du traitement et de la charge sur les propriétés électriques des matériaux étudiés.

Globalement, deux comportements principaux sont observés : (i) une augmentation de la conductivité avec la fréquence pour la majorité des échantillons, et (ii) un profil caractéristique des matériaux diélectriques hétérogènes ou composites, où la conduction dépend fortement de la dynamique des charges et des phénomènes de polarisation interfaciale.

La comparaison des échantillons révèle que RHPG présente une conductivité plus élevée, tandis que le substrat et l'échantillon dépourvu de liquide ionique montrent des valeurs plus faibles. Ces observations sont cohérentes avec le mécanisme réactionnel proposé entre le liquide ionique et l'acide gras (voir figure correspondante). Le liquide ionique, en raison de sa nature intrinsèquement conductrice, favorise le transport de charge. Par ailleurs, l'acide gras saturé, utilisé comme modèle de régime hypergras inducteur de stress oxydatif et de production d'espèces réactives de l'oxygène in vitro, semble également contribuer à l'augmentation de la conductivité, probablement par modification de la structure interfaciale et de la mobilité ionique.

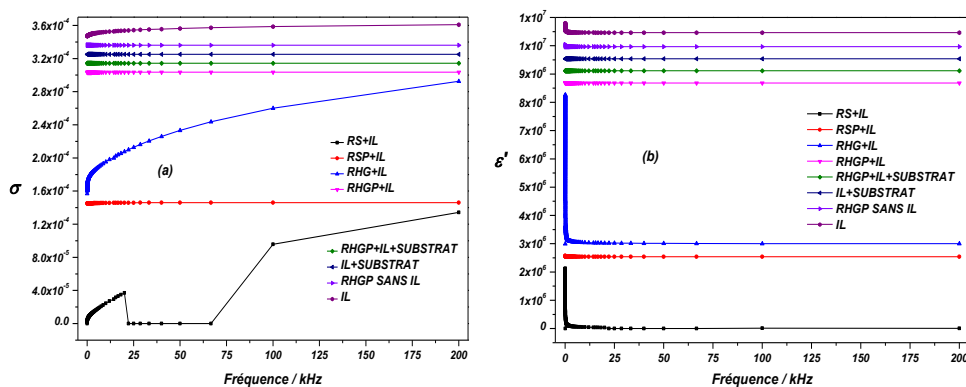


Figure 42: Conductivité (partie réelle) (a) et permittivité (partie réelle).

Le diffractogramme (figure 43) présente de nombreux pics nets indiquant la présence de phases cristallines. La matrice organique du foie étant majoritairement amorphe, les pics observés sont attribuables soit à la cristallisation du liquide ionique, soit à des sels minéraux biologiques recristallisés ou modifiés par interaction avec le liquide ionique.

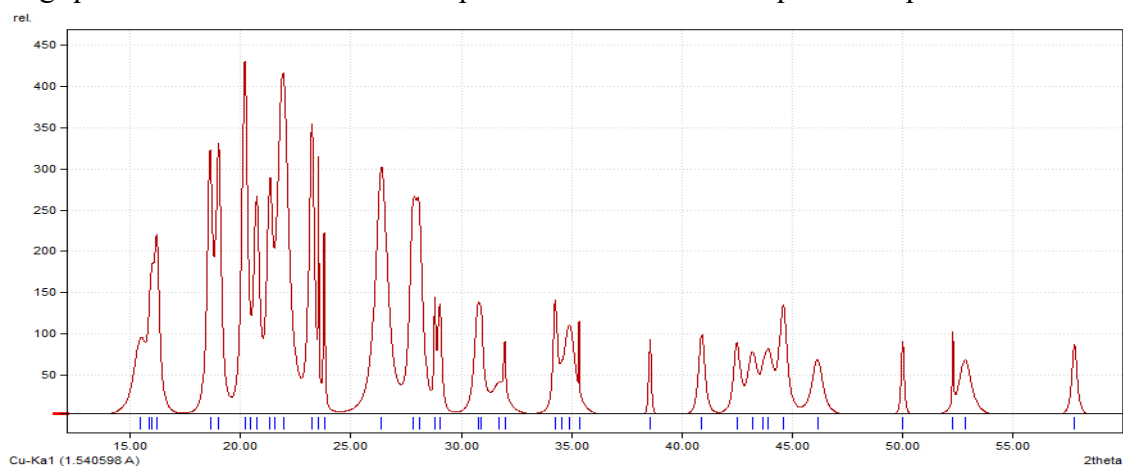


Figure 43 : Spectre DRX affiné de nanoparticule du foie

Le spectre UV-visible (figure 44) met en évidence deux pics d'absorption situés à 207 nm et 219 nm, correspondant à des transitions électroniques de haute énergie dans l'ultraviolet lointain. Les bandes observées dans la région 200–220 nm sont généralement attribuées à des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ associées aux doubles liaisons conjuguées ($C=C$, $C=O$) ou à des systèmes aromatiques présents à la surface des nanoparticules ou au sein des ligands et stabilisants.

L'absence de bande d'absorption dans le domaine visible indique qu'il ne s'agit pas de nanoparticules métalliques plasmoniques. Ce profil spectral peut suggérer soit des particules de très petite taille ($< 2-3$ nm), soit un matériau essentiellement organique. La proximité des deux pics (207 et 219 nm) pourrait également traduire l'existence de deux environnements électroniques légèrement distincts au sein du système étudié.

Ainsi, un spectre présentant uniquement ces deux bandes reflète principalement la présence de chromophores organiques ou de transitions électroniques fondamentales, plutôt qu'une signature plasmonique caractéristique. Dans notre cas, l'échantillon correspondant à un homogénat de foie lyophilisé traité par un liquide ionique, les absorptions observées s'expliquent principalement par les biomolécules hépatiques (notamment les liaisons peptidiques des protéines) et/ou par l'absorption propre du liquide ionique.

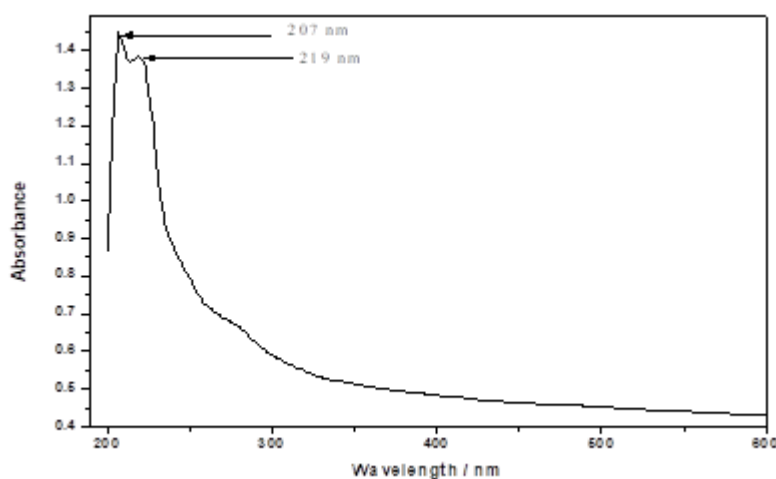


Figure 44 : spectre UV- visible nanoparticule du foie

II.3.2 Prédiction des mesures DRX et biologiques à l'aide de l'IA

II.3.2.1 Évaluation des performances

Après la formation, les performances du réseau neuronal artificiel ont été évaluées à l'aide des données de vérification à 20 %. Le principal indicateur de performance était la marge d'erreur entre les mesures DRX prévues et réelles. Nous avons cherché à minimiser cette erreur par des tests itératifs et des ajustements de configuration.

Après avoir testé plusieurs configurations, le réseau neuronal artificiel présentant la marge d'erreur la plus faible a été sélectionné. La configuration finale a démontré une capacité robuste à prédire les mesures DRX avec une marge d'erreur d'environ 7 degrés. Cette performance a été observée de manière constante dans l'ensemble de données de vérification.

La figure 45 **Figure 45** illustre la comparaison entre les prédictions du réseau neuronal artificiel et les données expérimentales réelles. L'alignement étroit entre les valeurs prédites et réelles souligne la capacité prédictive du réseau neuronal artificiel. Malgré des écarts mineurs, les prédictions du réseau neuronal artificiel se situaient généralement dans une plage d'erreur acceptable.

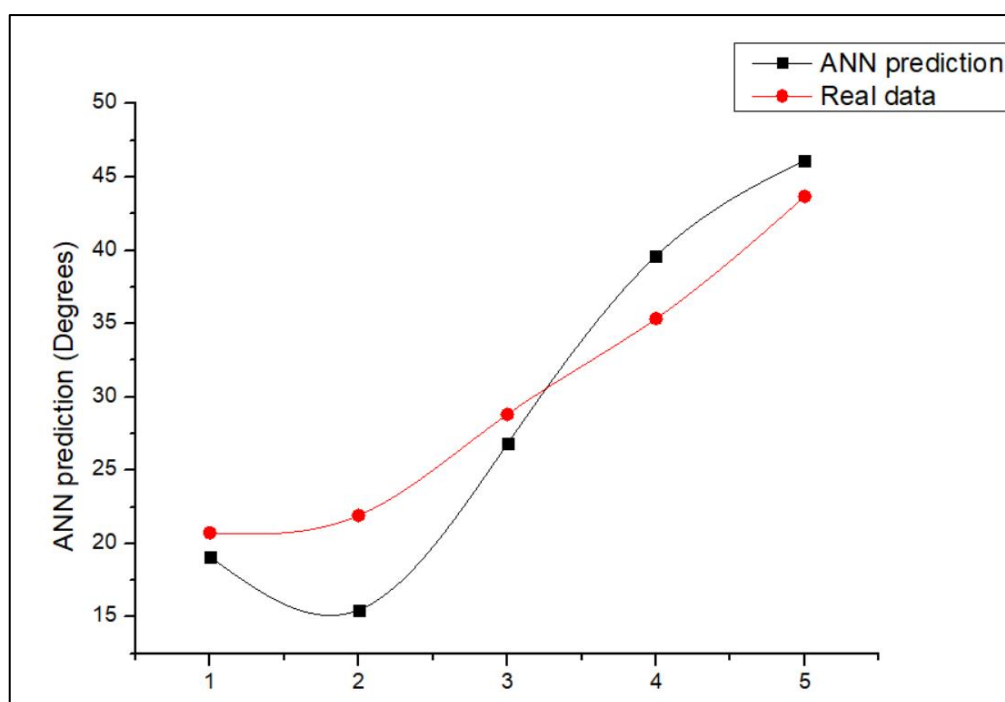


Figure 45 : comparaison entre les prédictions du réseau neuronal artificiel et les données expérimentales réelles de DRX

La figure 46 **Figure 46** illustre la comparaison entre les prédictions du réseau et les données expérimentales réelles (FRAP, Thiol, et TBARS hépatique). La concordance étroite entre les valeurs prédites et les valeurs réelles souligne la capacité prédictive du réseau.

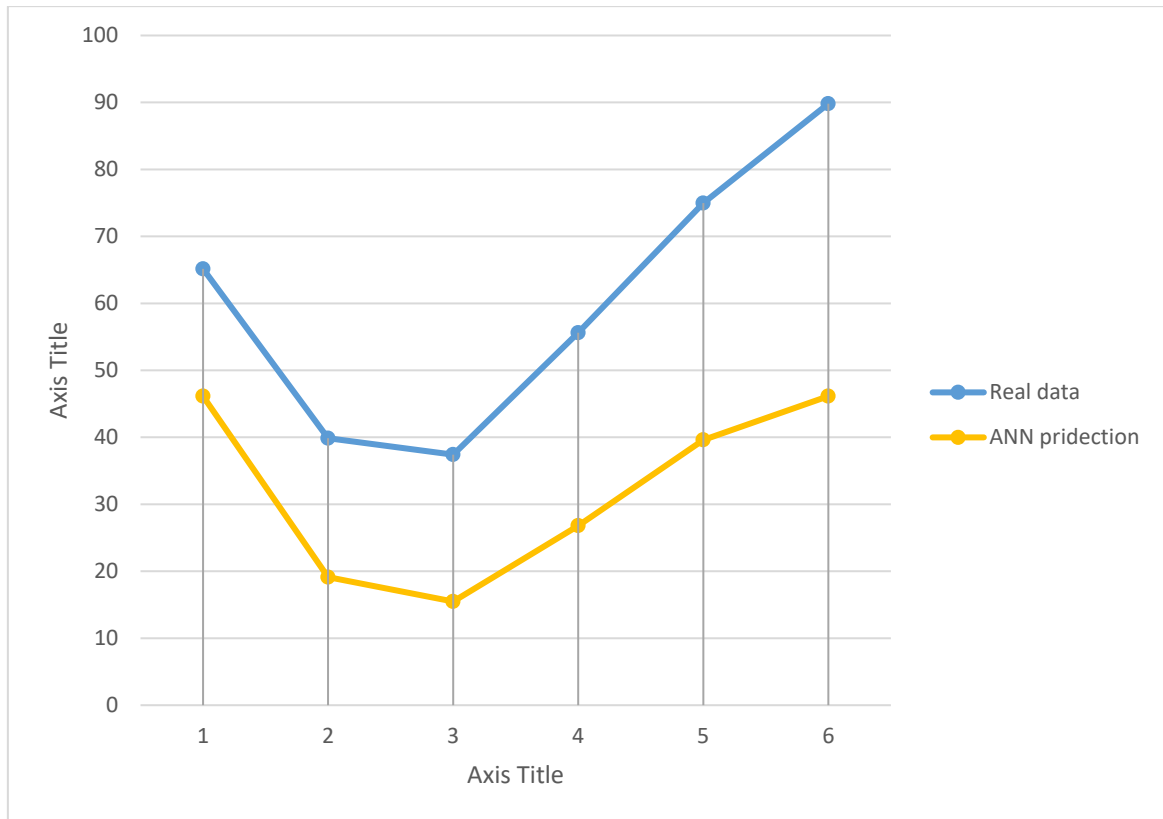


Figure 46: Comparaison entre les prédictions du réseau neuronal artificiel et les données expérimentales Biologique réelles

II.4 Discussion

II.4.1 Effet du régime HG/Fe sur l'induction de troubles métaboliques associés au stress oxydatif

Les résultats obtenus au cours de cette étude indiquent qu'une surcharge en fer potentialise l'effet pro-oxydant du régime riche en graisse. Ce qui laisse à suggérer qu'il existe une relation étroite entre le régime hyper-gras, la surcharge en fer et la production des ERO. Il est en effet largement admis qu'une alimentation riche en graisses saturées induit à long terme l'accumulation du fer au niveau du foie et favorise la production excessive des ERO via la réaction de Fenton (**Tsuchiya et al., 2013**), ce processus déclenche une cascade de réactions caractérisées par une surexpression de la NADPH oxydase, une diminution de l'expression des enzymes antioxydantes (**Kesh et al., 2016**), l'activation de protéines régulatrices du fer (IRP1) et la diminution de la ferritine.

L'ensemble de ces réactions amplifie la disponibilité du fer libre, accentuant ainsi les dommages oxydatifs cellulaires et tissulaires. Les troubles métaboliques et le stress oxydant engendrés par cette interaction favorisent la peroxydation lipidique ainsi que l'installation d'une inflammation chronique au niveau hépatique, exacerbant la stéatose hépatique, la résistance à l'insuline et les troubles du métabolisme lipidique (**Chung et al., 2018 ; Zhang et al., 2022**). Outre ces complications cette combinaison, peut également accentuer les effets pro-oxydants cérébraux (**Hininger-Favier et al., 2016**).

En effet la capacité du fer à accepter et donner des électrons favorise la formation des ERO à travers les réactions de Fenton et de Haber-Weiss. Plus précisément, les ions Fe^{3+} et Fe^{2+} interagissent avec le superoxyde et H_2O_2 , générant des radicaux hydroxyles hautement réactifs. Ces derniers contribuent significativement à la pathogenèse des maladies neurodégénératives en induisant des altérations oxydatives au niveau cellulaire (**Berg & Youdim, 2006 ; Chen et al., 2012 ; Li & Reichmann, 2016**). La perturbation de l'homéostasie du fer est donc à l'origine de l'altération de nombreuses voies chimiques et d'un stress oxydatif neurotoxique (**Gaeta & Hider, 2005 ; Long et al., 2023**).

II.4.2 Effet des régimes expérimentaux sur les paramètres biochimiques plasmatiques

II.4.2.1 Impact sur le profil lipidique plasmatique

L'ensemble des résultats présentés indique que le régime HG/Fe utilisé dans cette étude induit une altération du métabolisme lipidique, se traduisant par une dyslipidémie caractéristique. Celle-ci se manifeste par une triade métabolique comprenant une élévation des triglycérides plasmatiques, une diminution du HDL et une augmentation de la fraction LDL.

L'incorporation de NS à ce régime pendant 11 semaines d'expérimentation a diminué de manière significative les taux de cholestérol, de triglycérides et de LDL, tout en augmentant le HDL. Cette activité hypolipidémiante est attribuée à la synergie des composés bioactifs de la SN la thymoquinone, les stérols, les flavonoïdes et les acides gras polyinsaturés (Alu'datt et al., 2024). Ces résultats concordent avec ceux d'Alshali, (2019), Celui-ci montre que 8 semaines de traitement par NS, chez le rat, abaissent significativement les taux de cholestérol, de triglycérides et de LDL, tout en améliorant le taux du HDL. Un effet largement attribué à la TQ (Alshali, 2019). Le mécanisme d'action du NS impliqué dans la régulation du métabolisme lipidique repose principalement sur plusieurs processus synergiques, basé sur la réduction de l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire, la stimulation de la synthèse des acides biliaires et favorisation de leur excrétion fécale (Sadeghzadeh et al., 2023).

II.4.2.2 Impact sur les teneurs plasmatiques en glucose

Comme mentionné précédemment, les souris NMRI nourries avec un régime HG/Fe ont présenté des niveaux de glucose significativement plus élevés que ceux observés dans les deux groupes standards. Ces résultats sont en accord avec ceux d'Elkanawati et al., (2024) qui confirment que le régime riche en graisses peut augmenter le nombre des adipocytes, entraînant une accumulation de lipides dans le foie et une diminution de la sensibilité à l'insuline. Cette situation s'accompagne d'une production accrue d'acides gras libres (FFAs) liée à l'augmentation de la masse du tissu adipeux. En conséquence, les concentrations élevées de FFAs inhibent l'activité anti-lipolytique de l'insuline et amplifient leur libération dans la circulation sanguine. Par ailleurs, ce type de régime favorise la production des ERO et de cytokines pro-inflammatoires, contribuant ainsi au développement de la résistance à l'insuline.

De plus, il a été démontré qu'une augmentation des réserves totales de fer dans l'organisme est également associée à une diminution de la sécrétion d'insuline pancréatique ainsi qu'à une résistance accrue de celle-ci au niveau périphérique et hépatique, renforçant ainsi le lien entre le métabolisme lipidique, le stress oxydatif et la dysrégulation de la fonction insulinaire (**Hsu et al., 2022**).

Au cours de la présente étude, l'incorporation de NS dans le régime HG/Fe a exercé un effet hypoglycémiant significatif.

Nos résultats sont analogues aux études menées par **Abdelmeguid et son équipe., (2004)** et **Kanter et al., (2004)** qui ont évalué chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine (STZ), les effets de l'extrait aqueux et de l'huile de NS sur les concentrations sériques de glucose. Leurs résultats indiquent que ces traitements ont significativement atténué le taux du glucose sérique chez ces animaux. Cet effet hypoglycémiant est dû à la présence de thymoquinone également impliquée dans l'amélioration du niveau d'insuline, réduisant ainsi de manière significative la glycémie et l'hémoglobine glycosylée (**Tanwar et al., 2021**). De nombreuses études confirment le potentiel antidiabétique des graines de NS, notamment leur capacité à abaisser la glycémie par divers mécanismes d'action (**Tanwar et al., 2021**), impliquant la régénération des cellules β pancréatiques, la stimulation de la sécrétion de l'insuline et l'amélioration de l'absorption du glucose par les muscles squelettiques via l'activation de la voie AMPK (protéine kinase activée par l'adénosine monophosphate). En outre, la NS et sa molécule active principale, la TQ, inhibent la néoglucogénèse hépatique en ciblant spécifiquement les enzymes glucose-6-phosphatase et fructose-1,6-bisphosphatase, tout en ralentissant l'absorption intestinale du glucose ce qui renforce la tolérance au glucose (**Shaukat et al., 2023**).

II.4.2.3 Impact des régimes expérimentaux sur le foie troubles hépatiques, la stéatose et transaminases

Dans cette étude, l'administration d'un régime HG enrichi en fer pendant 11 semaines chez des souris NMRI a initié une stéatose hépatique et a augmenté le taux des transaminases hépatiques (ASAT et ALAT). Ceci est attribué en premier lieu à l'accumulation de graisse provenant du régime HG dans le foie (**Feillet-Coudray et al., 2009**). Également la surcharge en fer joue un rôle clé dans l'aggravation du stress oxydatif et des dommages hépatiques. Le foie orchestre l'homéostasie du fer en produisant et en sécrétant l'hépcidine (**Wang & Babitt, 2019**).

Cependant, en tant qu'organe principal de stockage de l'excès de fer, il est particulièrement vulnérable aux dommages induits par son accumulation (**Abbas et al., 2014**). Ce métal est un puissant agent peroxydant et fibrogène, il est impliqué dans la progression fibrotique de la maladie alcoolique et de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD). (**Kirsch et al., 2006**). Il est probable que la surcharge hépatique primaire en fer engage un mécanisme en plusieurs étapes, pour l'induction directe de la peroxydation lipidique, l'activation des cellules stellaires et l'augmentation de la production de collagène, (**Abbas et al., 2014**) ainsi que des dommages oxydatifs aux protéines et aux acides nucléiques.) (**Kirsch et al., 2006**). Donc il est clair que l'apparition d'une surcharge hépatique en fer est associée à une augmentation du stress oxydatif qui précède la résistance à l'insuline et la stéatose hépatique (**Tsuchiya et al., 2013**).

Cependant l'administration de NS chez les souris ayant reçu un régime HG enrichi en fer montre des effets bénéfiques sur le foie en diminuant les altérations précédemment citées. Ces effets bénéfiques pourraient être attribué aux propriétés médicinales des graines de nigelle, qui sont directement liées à leur teneur élevée en composés phénoliques Ces composés agissent non seulement comme des antioxydants (**Gueffai et al., 2022**), mais présentent également une capacité chélatrice significative du fer. Cette propriété est due à la présence de groupes fonctionnels hydroxyles et carbonyles capables de se lier aux ions ferreux (Fe^{2+}). Cette interaction permet de former des complexes stables avec le fer, réduisant ainsi sa disponibilité pour participer aux réactions de Fenton (**Perron & Brumaghim, 2009**).

NS joue donc un rôle crucial dans la régulation du fer, en particulier dans le cadre de la stéatohépatite non alcoolique induite par un régime alimentaire riche en graisses (**Abbas et al., 2014 ; Bashir et al., 2023**). Ces résultats vont de pair avec ceux de **Bashir et al., (2023)** et ses collaborateurs qui ont étudié l'effet protecteur des extraits aqueux de NS (400, 200, and 100 mg/kg) contre la stéatohépatite. Cet effet a été évalué dans un modèle de syndrome métabolique induit chez des souris soumises à un régime alimentaire hypergras.

Selon leurs résultats, l'administration de cet extrait a entraîné une amélioration significative de l'ensemble des paramètres biochimiques, notamment une réduction du dysfonctionnement hépatique, comme en témoigne la diminution de l'activité de l'AST et de l'ALT. De plus, cette action s'accompagne d'une diminution du stress oxydatif et d'une meilleure régulation du métabolisme lipidique hépatique. Ainsi, l'extrait de NS contribue efficacement à préserver la structure et la fonction du foie face aux atteintes induites par la surcharge lipidique.

Parallèlement **Esmail et ses collaborateurs., (2021)** montrent qu'après 6 semaines d'alimentation des rats en régime HG, l'activité de l'AST sérique a augmenté de manière significative. L'incorporation de 300 mg/ kg/jour de poudre de NS pendant 6 semaines supplémentaires a corrigé l'activité des transaminases hépatiques.

II.4.3 Impact des régimes expérimentaux sur les paramètres oxydatifs aux niveaux plasmatique et tissulaire chez les différents lots de souris NMRI

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antioxydante de NS dans le plasma ainsi que dans trois organes vitaux : le cerveau, le cœur et le foie. L'objectif était de prévenir la maladie métabolique associée au stress oxydatif qui touche principalement ces organes, notamment les maladies neurodégénératives, les maladies cardiovasculaires et la stéatose hépatique, qui comptent parmi les conséquences du stress oxydatif.

Comme cité précédemment un régime riche en graisses induit une dysfonction métabolique susceptible de modifier l'homéostasie rédox. Des études ont montré que la consommation excessive de graisses alimentaires et un excès de fer peuvent, à eux seuls, provoquer des dommages oxydatifs graves (**Aguree et al., 2020**).

Le HG/Fe exerce une influence majeure dans la genèse du stress oxydatif, en favorisant une surproduction excessive des ERO et en altérant l'efficacité des systèmes de défense antioxydants. (**Tsuchiya et al., 2013 ; Di Majo et al., 2022**). Cette perturbation du rapport entre les processus pro-oxydants et antioxydants se traduit par une rupture de l'homéostasie rédox, favorisant des effets délétères à l'échelle cellulaire et moléculaires. Parmi les conséquences notables figurent une intensification de la peroxydation lipidique, une oxydation accrue des protéines et une augmentation des lésions oxydatives de l'ADN. **Di Majo et al., (2022)**, ont ainsi démontré qu'après huit semaines d'un régime hypergras, l'analyse du statut rédox plasmatique indiquait une activation antioxydante endogène insuffisante pour compenser le déséquilibre oxydatif induit par ce régime, contribuant ainsi à la progression du syndrome métabolique.

D'autre part, l'évaluation du statut antioxydant a mis en évidence une diminution significative des groupements thiols et une altération marquée de la défense antioxydante, qu'elle soit d'origine endogène ou exogène, ces dernières sont fortement altérées dans le syndrome métabolique.

Une étude récente a démontré qu'au niveau du cardiomyocyte, le fer labile peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène pour générer des radicaux hydroxyles toxiques, entraînant une peroxydation lipidique et déclenchant un processus de ferroptose. Ce mécanisme de mort cellulaire programmée est susceptible de contribuer directement au développement de la cardiomyopathie (Sawicki et *al.*, 2023).

Dans cette étude, la supplémentation en poudre de NS a significativement réduit la formation de radicaux libres générés par un régime HG et enrichi en Fer. Cette activité antioxydante est attribuée à la richesse en molécules bioactives antioxydantes, comme les polyphénols et les flavonoïdes, agissant de manière complémentaire et synergique pour fournir une meilleure protection contre les ERO. En effet, les polyphénols et les flavonoïdes contenus dans NS, agissent comme de puissants antioxydants naturels en piégeant les radicaux libres grâce à leurs multiples groupes hydroxyles (Alu'datt et *al.*, 2024). Aussi, des travaux récents ont mis en évidence que d'autres composés bioactifs de la NS, tels que la TQ, le carvacrol, le trans-anéthole, le 4-terpinéol, ainsi que les tanins et alcaloïdes, participent également à cette activité de piégeage des radicaux libres, la TQ et la nigellone apparaissent comme les principaux contributeurs de l'effet protecteur antioxydant (Shaukat et *al.*, 2023).

Cependant, pour exercer efficacement leur action contre les dommages oxydatifs, ces molécules bioactives doivent atteindre leur site d'action en traversant le tube digestif sans subir d'altération par les enzymes digestives. À cet égard, plusieurs études ont montré que l'ajout de NS au régime alimentaire peut moduler l'activité de ces enzymes digestives. De plus, les composés bioactifs de la NS, notamment les polyphénols, sont capables non seulement de franchir la barrière intestinale, mais également d'en améliorer la fonction (Elmowalid et *al.*, 2022; Jarmakiewicz-Czaja et *al.*, 2023).

La TQ exerce notamment son influence sur l'équilibre pro-oxydant et antioxydant en activant la voie de signalisation Nrf2. Cette voie joue un rôle essentiel dans la régulation des défenses antioxydantes cellulaires, contribuant ainsi aux effets protecteurs et thérapeutiques observés dans les troubles cardiovasculaires. (Aslani et *al.*, 2024).

Parallèlement, dans les troubles du système nerveux central et périphérique, la NS et la TQ ont également été rapportées pour leur capacité à restaurer l'équilibre prooxydant/antioxydant. Ces troubles sont en effet associés à des lésions oxydatives du tissu nerveux, susceptibles d'altérer la fonction neuronale et de compromettre la santé neurologique globale.

Ce potentiel neuroprotecteur s'explique en partie par la capacité des composés bioactifs de NS, principalement la TQ, à traverser la BHE. Cette propriété confère à la TQ la possibilité d'exercer ses effets au sein du système nerveux, en améliorant notamment les scores neurologiques et la perméabilité de la BHE (**Jakaria et al., 2018**). Diverses études menées sur des modèles cellulaires et animaux convergent pour démontrer que le rôle neuroprotecteur des SN implique la modulation des niveaux de neurotransmetteurs, de l'expression des récepteurs, des médiateurs cellulaires ainsi que la régulation des voies de signalisation neuronale.

Il est par ailleurs suggéré que les composants de la NS interagissent avec les systèmes cholinergique, GABAergique, opioïde et d'oxyde nitrique (NO) (**Jakaria et al., 2018**). Les graines de NS et leurs principes actifs contribueraient ainsi à l'amélioration des troubles du système nerveux en inhibant l'activité cérébrale de l'acétylcholinestérase (AChE), en augmentant le tonus GABAergique, en bloquant la surproduction de NO, en stimulant les récepteurs opioïdes et, surtout, en exerçant une action antioxydant (**Javidi et al., 2016 ; Fanoudi et al., 2019 ; Tavakkoli & Hosseinzadeh, 2020**). Par ailleurs il a été démontré que les composés de NS sont impliqués également dans l'amélioration du bien-être neuronal en favorisant une augmentation des concentrations cérébrales de neurotransmetteurs clés tels que la dopamine, la sérotonine et la noradrénaline (**Grabska-Kobylecka et al., 2023**).

Dans la continuité de ces effets neuromodulateurs, l'action neuroprotectrice de NS pourrait également s'expliquer par son action contre la peroxydation lipidique. Cette dernière est une conséquence majeure de l'action des radicaux hydroxyles et d'autres oxydants puissants, menant à des altérations de fluidité membranaire et de l'intégrité structurelle des cellules neuronales avec des répercussions fonctionnelles importantes sur l'activité cérébrale (**Juurink & Paterson, 1998**). Ceci va de pair avec les travaux de, **Mehri et al., (2014)**, ces derniers ont démontré que la TQ exerce un effet neuroprotecteur contre la neurotoxicité induite par l'acrylamide (ACR) chez les rats Wistar. Cette action protectrice est due principalement à la réduction de la peroxydation lipidique dans le cortex cérébral.

Il a également été mis en évidence au niveau hépatique une corrélation entre les taux de lipides et le degré de peroxydation lipidique dans des modèles expérimentaux de stéatose hépatique. Il a été suggéré que la simple accumulation de graisses dans le foie est susceptible d'induire une peroxydation lipidique hépatique. (**Kirsch et al., 2006**)

Bien que des études récentes soulignent l'importance de cibler des composants bioactifs tels que la thymoquinone et ses dérivés, l'utilisation de la NS entière permet d'obtenir un effet antioxydant remarquable. Cette hypothèse est soutenue par **Tavakkoli et Hosseinzadeh., (2020)**, qui ont constaté que les extraits de NS contenant de la TQ étaient trois fois plus puissants que la TQ seule, ce qui suggère un effet synergique des différents composants présents dans l'extrait.

Kanter et al., (2006) ont étudié les effets de NS sur les enzymes antioxydantes et les enzymes hépatiques chez des rats exposés au tétrachlorure de carbone (CCl₄). Leurs résultats ont révélé que la NS stimule l'activité du système de défense antioxydant et augmente la concentration de vitamine C hépatique chez des rats exposés au CCl₄. Par ailleurs, **Akhtar, et al., (2020)** ont mené une étude pertinente sur le potentiel antioxydant de l'huile de NS (NSO) face au stress oxydatif chez des lapins diabétiques induits par l'alloxane. Ils ont observé que NSO atténuait les lésions hépatiques en favorisant une élévation des niveaux de vitamine C, un antioxydant reconnu pour sa capacité à donner des électrons.

Les thiols sont souvent la première ligne de défense contre l'oxydation, car ils peuvent être oxydés de façon réversible pour former des ponts disulfures ou des mélanges disulfures avec le glutathion, protégeant ainsi les protéines et autres biomolécules d'une oxydation irréversible (**Adwas et al., 2019**). Dans cette étude, le régime HG/Fe favorise la génération de ERO en réduisant l'activité des enzymes antioxydantes et en épuisant les concentrations intracellulaires de GSH dans les tissus hépatique, cardiaque et cérébrale. La supplémentation en poudre de NS agit comme un piègeur de radicaux libres, augmentant les niveaux de GSH non enzymatique et les groupes thiols totaux à la fois dans le plasma et les tissus.

Plusieurs études soulignent le rôle du NS dans l'augmentation de la teneur totale en thiols du sérum et des tissus. En effet la liaison non enzymatique de la TQ avec des antioxydants intracellulaires non enzymatiques tels que le GSH, le NADH et le NADPH conduit à la formation de complexes antioxydants dont la capacité de neutralisation des radicaux libres est nettement supérieure à celle de la TQ seule, cette activité est comparable à celle du Trolox, un antioxydant puissant analogue de la vitamine E (**Shaukat et al., 2023**).

Par ailleurs, **Ali et ses collaborateurs., (2017)** ont rapporté que la supplémentation alimentaire avec 2 % de graines de NS permet de prévenir, voire d'atténuer, les lésions hépatiques oxydatives induites par une exposition subchronique à l'acétate de plomb (PbAc) chez des lapins mâles néo-zélandais. Selon leurs observations, la toxicité hépatique provoquée par le PbAc a été atténuée grâce aux effets protecteurs du NS. Cette supplémentation a notamment entraîné une baisse significative du taux des MDA, un marqueur clé du stress oxydatif. Ces effets antioxydants ont également été observés au niveau cardiaque. En effet, une étude intéressante menée par **Hassan et al., (2017)** a évalué l'effet cardioprotecteur de l'extrait éthanolique de NS (800 mg/kg) sur l'infarctus du myocarde induit par l'isoprotérénol chez des rats Wistar. Les résultats ont montré une réduction significative du taux de MDA cardiaque.

La catalase est une enzyme puissante qui transforme le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire, ce qui en fait un acteur important dans la protection contre le stress oxydatif (**Juurlink & Paterson, 1998**).

Dans cette étude, l'administration de poudre de NS dans un régime riche en graisses enrichi en fer a permis d'améliorer l'activité de la catalase tant au niveau sanguin que cérébral. Ce résultat est corroboré par d'autres études portant sur NS, associée à la vitamine C, montrant que cette combinaison peut contrer l'inhibition de l'activité de la catalase après une lésion expérimentale de la moelle épinière chez le rat. Par ailleurs, une augmentation de l'activité de la catalase a été observée comme un indicateur des effets antioxydants de NS (**Javidi et al., 2016**). De plus, l'administration de TQ a permis de rétablir les niveaux normaux d'activité de la catalase dans le cerveau de rats (**Leong et al., 2013**). Parallèlement **Mahmoud et ses collaborateurs., (2021)** ont démontré que la supplémentation alimentaire en NS entraînait une augmentation significative de l'activité de la catalase. Ces résultats suggèrent que la consommation de graines de NS contribue à la protection cellulaire, en fournissant des molécules antioxydantes et en stimulant indirectement l'activité des enzymes de défense. D'après eux Les principaux composés actifs des graines incluent l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide chlorogénique, la catéchine et l'acide sinapique.

Enfin, l'étude de **Rasoli et al., (2018)**, menée sur des rats adultes Wistar soumis à un stress et traités avec un extrait de NS, indique que cet extrait possède les propriétés chimiques nécessaires pour renforcer la capacité antioxydante, augmenter l'activité de la catalase et réduire la peroxydation lipidique.

II.4.4 Utilisation d'approches d'apprentissage automatique appliquées à l'analyse de données électrochimiques et biologiques en vue de la conception d'un biocapteur

Le domaine des biocapteurs s'est considérablement développé et s'étend désormais à presque tous les domaines de la recherche, allant des applications médicales à la surveillance environnementale. L'une des propriétés essentielles des biocapteurs réside dans leur spécificité et leur sensibilité. Ces propriétés découlent principalement de la présence de biocapteurs moléculaires (ou biorecepteurs), sélectionnés pour leurs spécificités intrinsèques, telles que celles des enzymes, des anticorps et des aptamères (**Schackart & Yoon, 2021**).

Cette étude a pour objectif le développement d'un biocapteur innovant reposant sur l'utilisation d'un homogénat hépatique comme matrice biologique ou biorecepteur, combiné à un liquide ionique. Ce dernier est choisi pour ses propriétés diélectriques ainsi que pour sa capacité à fixer, stabiliser et favoriser la transformation de l'homogénat en nanoparticules.

En effet les homogénats tissulaires ont déjà été employés comme récepteurs biologiques dans des biosenseurs. Ils conservent une activité enzymatique et des réponses métaboliques utiles (**Rajendra et al,2021**). Ainsi que Les liquides ioniques sont reconnus pour stabiliser les protéines/enzymes, améliorer l'électrochimie des électrodes, et favoriser la dispersion/fonctionnalisation de nanomatériaux, ce qui peut prolonger la durée de vie et améliorer la sensibilité du capteur (**Verissimo et al., 2022**). Ces liquides sont des substances constituées uniquement d'ions asymétriques présentant une faible énergie réticulaire, ce qui leur confère des points de fusion bas. En raison de leur nature ionique, ils possèdent des propriétés exceptionnelles. Par exemple, ils peuvent facilement être modulés par la modification de la paire cation-anion, et peuvent ainsi être conçus pour présenter des caractéristiques adaptées aux applications pharmaceutiques, telles qu'une biocompatibilité cellulaire, une biodégradabilité, une stabilité thermique élevée, une capacité de solvation d'un large éventail de composés, ainsi qu'une bonne solubilité dans l'eau. De plus, selon leur structure chimique intrinsèque, les ILs présentent d'autres caractéristiques avantageuses pour les procédés industriels, notamment une faible viscosité, une pression de vapeur négligeable, une grande stabilité thermique et chimique, ainsi qu'une conductivité électrique appréciable (**Verissimo et al., 2022**).

Compte tenu du rôle joué par les différents marqueurs du stress oxydatif dans de nombreuses maladies, la détection de ces marqueurs revêt une importance majeure. Actuellement, les marqueurs du stress oxydatif sont détectés à l'aide de techniques faisant appel à des équipements sophistiqués, souvent coûteuses et exigeant des protocoles expérimentaux complexes. En raison des limites des méthodes conventionnelles, les biocapteurs apparaissent comme une alternative prometteuse et efficace pour la détection des marqueurs du stress oxydatif. Leur performance repose principalement sur les interactions entre l'analyte et les éléments de biorecognition, qui constituent un paramètre déterminant dans l'évaluation de l'efficacité du dispositif **(Bencivenga et al., 2023)**.

Des mesures telles que l'UV, la DRX et les analyses diélectriques sont nécessaires à la fabrication de capteurs précis. Cependant, La réalisation expérimentale de ces mesures nécessite encore un investissement considérable en temps et en ressources. L'IA offre une alternative prometteuse, permettant de réduire le temps requis pour les mesures expérimentales en laboratoire. **(Ghazi et al,2023)** en effet Ces dernières années, l'IA a profondément transformé notre vie quotidienne, tout en créant d'importantes opportunités et de nouveaux défis pour le système de santé traditionnel. L'IA accélère la recherche biomédicale et la découverte de médicaments, facilite le dépistage clinique et le diagnostic, et contribue à la prise en charge des patients. Ces applications permettent aux scientifiques, aux cliniciens et aux institutions de santé d'offrir des soins plus précis, efficaces et personnalisés, soulignant ainsi le rôle transformateur de l'IA dans le progrès de la médecine moderne et de la médecine de précision **(Bencivenga et al., 2023)**.

Dans cette étude les réseaux neuronaux artificiels l'une des branches de l'IA montrent une capacité prédictive robuste dans les mesures DRX et les tests biologiques de stress oxydatif (FRAP, Thiol, BARS). Les ANN s'imposent comme des outils performants pour la prédiction de résultats biologiques. De plus, ils ont été utilisés pour analyser les données électrochimiques et améliorer la sensibilité ainsi que la spécificité de la détection. Par exemple, dans le domaine des maladies métaboliques Un algorithme d'apprentissage automatique (ML) a été utilisé pour améliorer la précision de la prédiction des biomarqueurs du diabète **(Bencivenga et al., 2023)**. De plus un ANN a permis de prédire les valeurs dans différent domaines biologiques en démontrant une précision supérieure aux méthodes statistiques classiques grâce à sa capacité à modéliser des relations complexes et non linéaires **(Ching et al., 2018)**.

Offrant ainsi une représentation plus réaliste des processus biologiques. Ces réseaux ont été utilisés avec succès dans de nombreux domaines, notamment pour la prédiction de la valeur génétique des caractères quantitatifs, la modélisation des interactions protéine-protéine, la détection des biomarqueurs, ou encore l'analyse des données omiques (génomique, transcriptomique, métabolomique), cela démonte leur potentiel à transformer la recherche biologique et biomédicale. (Eetemadi & Tagkopoulos, 2019 ; Reel et *al.*, 2021).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

De nos jours, la notion de « stress oxydant » est de plus en plus souvent utilisée pour expliquer différentes atteintes pathologiques et leurs approches thérapeutiques. Ce phénomène chronique, multifactoriel et complexe résulte à la fois de facteurs génétiques et environnementaux. Il constitue un dénominateur commun majeur reliant l'excès de fer et le régime hypercalorique, tel que le régime hyperlipidique, à la genèse des pathologies métaboliques. En effet, l'accumulation du fer au niveau des différents organes joue un rôle clé dans les réactions oxydatives telles que la réaction de Fenton, conduisant à la génération des ERO. En parallèle, une accumulation excessive de graisses contribue également à l'augmentation de la production d'ERO.

Ces derniers peuvent induire une peroxydation lipidique, des modifications post-traductionnelles anormales des protéines ainsi que des dommages à l'ADN. Actuellement, la stratégie la plus convoitée pour la protection contre les attaques radicalaires repose sur la modulation du stress oxydatif en utilisant des substances naturelles issues des plantes médicinales. Cependant cette approche, bien que pertinente, demeure à elle seule insuffisante. Dans cette optique, l'objectif de cette présente étude vise à associer des stratégies préventives basées sur l'utilisation de plantes médicinales et un diagnostic rapide, réalisé à l'aide des biocapteurs, des altérations oxydatives induites par un régime alimentaire hyperlipidique enrichi en fer, ainsi que des désordres biochimiques qui en résultent, et ce chez les souris NMRI.

Après 11 semaines d'expérimentation, les résultats obtenus indiquent que les souris soumises au régime HG/Fe présentent une augmentation significative de la glycémie plasmatique, par rapport au groupe ST + N et au groupe ST. Par ailleurs, une perturbation du profil lipidique est constatée chez ces souris, se traduisant par une élévation des taux plasmatiques du cholestérol total et des triglycérides en comparaison avec le groupe ST supplémenté ou non en NS. Par contre la supplémentation du régime HG/Fe en NS induit une diminution significative du taux de triglycérides par rapport au groupe HG.

Parallèlement, la supplémentation en NS dans le groupe ST s'accompagne d'une augmentation hautement significative du taux du C-HDL par rapport au groupe HG/Fe. En revanche le groupe HG/Fe présente une élévation de C-LDL.

Le régime hyperlipidique enrichi en fer provoque ainsi des lésions hépatiques traduites par un taux élevé des transaminases chez le groupe HG/Fe en comparaison avec les deux groupes standards.

La supplémentation en NS dans le groupe HG/Fe diminue ces lésions, en suggérant un effet protecteur sur la cytolyse hépatocytaire.

Le traitement à base de NS rétablit les dommages oxydatifs induits par le régime HG, on constate une augmentation du pouvoir réducteur plasmatique et tissulaire cardiaque, hépatique et cérébrale. Parallèlement, l'évaluation des taux des groupements thiols, au niveau plasmatique et tissulaire, indique que le groupe HG/Fe présente des altérations oxydatives protéiques significatives marquées par une réduction des groupements SH. L'ajout de la NS au régime HG/Fe améliore significativement le taux de groupement thiols. De plus, L'évaluation de GSH au niveau cérébral indique des résultats concordants. Une tendance similaire est observée pour l'enzyme antioxydante la catalase au niveau cérébral et érythrocytaire.

Le groupe HG/Fe présente une diminution hautement significative de l'activité catalase, au niveau cérébral et ce en comparaison avec les groupes ST et ST+N respectivement. Le régime HG/Fe utilisé dans cette étude génère une oxydation lipidique, estimée par le dosage de MDA comparé aux groupes ST et ST+N respectivement. L'incorporation de la NS dans le régime HG/Fe réduit d'une manière très significative le taux de MDA au niveau du plasma, cerveau, foie et cœur. L'analyse globale de ces résultats nous amène à suggérer que la supplémentation en NS a des répercussions bénéfiques en limitant le développement excessif du stress oxydant. Il est fort probable que la NS est composée de biomolécules essentielles capables de traverser non seulement la barrière intestinale mais aussi la barrière hémato-encéphalique et d'exercer ainsi un effet protecteur contre le déséquilibre oxydatif et la peroxydation lipidique engendrés par un régime hyperlipidique enrichi en fer.

Cette approche pourrait constituer une stratégie nutritionnelle préventive intéressante à exploiter contre les maladies liées au stress oxydatif. Mais le plus important aussi, c'est de développer des techniques de diagnostic rapide afin de minimiser les dégâts liés aux stress oxydatifs. Ce problème représente une véritable préoccupation qui nous a amenés à exploiter la matrice biologique (homogénat du foie) comme une première phase pour établir notre modèle de biocapteur. Dans cette, étude l'association de l'homogénat du foie et des liquides ioniques a montré des caractéristiques intéressantes.

En effet, les caractérisations DRX, UV et diélectriques offrent une vision complémentaire des propriétés moléculaires et structurales de l'homogénat. Ces mesures représentent une alternative prometteuse et complémentaire, permettant de réduire le temps requis pour les mesures expérimentales.

Puis nous avons exploité en deuxième phase les approches d'apprentissage automatique pour l'analyse de données de caractérisation et les résultats biologiques (réseaux neuronaux artificiels ANN). Après avoir testé plusieurs configurations, le réseau neuronal artificiel présentant la marge d'erreur la plus faible. La configuration finale a démontré une capacité robuste à prédire les mesures DRX, UV et diélectriques croisées avec les mesures biologiques. Cette performance a été observée de manière constante dans l'ensemble de données de vérification. La concordance étroite entre les valeurs prédites et les valeurs réelles souligne la capacité prédictive de ce réseau.

Il est clair que des tests supplémentaires et des investigations plus profondes sont nécessaires à entreprendre afin de compléter et consolider ces résultats. Ainsi, dans la continuité de ce présent travail, plusieurs perspectives peuvent être envisagées. Il est fort intéressant de :

- Évaluer les enzymes antioxydantes (GPX, SOD...).
- Mesurer la concentration en fer tissulaire essentiellement cérébrale.
- Caractériser les molécules bioactives susceptibles de franchir la barrière hémato-encéphalique,
- Évaluer le potentiel anti-inflammatoire de la NS et des molécules bioactives et leur éventuelle utilisation comme traitement alternatif visant à prévenir les dommages cérébraux induits par le stress oxydatif.
- Utiliser la transcriptomique, la protéomique pour étudier le mécanisme moléculaire de la NS dans la modulation des voies de signalisation redox : NF κ B, MAPK, Ferroapoptose ...
- Évaluer l'effet de NS et ses biomolécules actives sur l'induction des gènes de la défense antioxydante (catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase...).
- Évaluer l'effet de la NS comme complément alimentaire chez les sujets avec une surcharge martiale ou recevant une supplémentation prolongée en fer, afin de prévenir ou d'atténuer le stress oxydatif et de limiter ainsi les désordres métaboliques associés : étude clinique pilote.
- Développer un biocapteur de stress oxydant et de déséquilibre du métabolisme du fer pour un suivi précoce et de l'effet préventif de NS

-
- Exploiter d'autres matrices biologiques (plasma, cerveaux, cœur...) dans la consolidation des résultats obtenus avec l'homogénat du foie pour établir le modèle de biocapteur comme entées des réseaux neuronaux artificiels pour construire une base de données lors de la réalisation de biocapteur.
 - Signaler au passage que le tissu biologique reste un milieu complexe de point de vue chimique qui nécessitent des caractérisations supplémentaires notamment les réactions d'oxydoréduction.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abbas, A. S., Abbasi, M. H., Malik, I. A., & Sheikh, N. (2014). Non-alcoholic fatty liver disease and associated changes in serum hepcidin, iron, ferritin-r levels and total iron binding capacity in weaning wistar rats (rattus norvegicus). *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 24.
- Abdelmeguid, N. E., Fakhoury, R., Kamal, S. M., & Al Wafai, R. J. (2010). Effects of Nigella sativa and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β -cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of diabetes*, 2, 256–266.
- Adwas, A. A., Elsayed, A., Azab, A. E., & Quwaydir, F. A. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J. Appl. Biotechnol. Bioeng*, 6, 43–47.
- Aguree, S., Guo, L., & Reddy, M. B. (2020). Phytic acid protects from oxidative stress induced by iron-overload and high-fat diets in β 2-microglobulin knockout mice. *Molecules*, 25, 5331.
- Akkaş, T., Reshadsedghi, M., Şen, M., Kılıç, V., & Horzum, N. (2025). The Role of Artificial Intelligence in Advancing Biosensor Technology: Past, Present, and Future Perspectives. *Advanced Materials*, 2504796.
- Alagawany, M., Elnesr, S. S., Farag, M. R., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Sharun, K., . . . Dhama, K. (2021). Health-promoting activities of Nigella sativa essential oil. *Black cumin (Nigella sativa) seeds: Chemistry, Technology, Functionality, and Applications*, 457–478.
- Albakry, Z., Karrar, E., Ahmed, I. A., Oz, E., Proestos, C., El Sheikha, A. F., . . . Wang, X. (2022). Nutritional composition and volatile compounds of black cumin (Nigella sativa L.) seed, fatty acid composition and tocopherols, polyphenols, and antioxidant activity of its essential oil. *Horticulturae*, 8, 575.
- Aldini, G., Altomare, A., Baron, G., Vistoli, G., Carini, M., Borsani, L., & Sergio, F. (2018). N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free radical research*, 52, 751–762.
- Aleman, M. (2024). The metabolic syndrome, a human disease. *International journal of molecular sciences*, 25, 2251.
- Alhadrami, H. A. (2018). Biosensors: Classifications, medical applications, and future prospective. *Biotechnology and applied biochemistry*, 65, 497–508.
- Ali, H., Korshom, M. A., Mandour, A. A., El-Bessoumy, A. A., & El-Sayed, Y. S. (2017). Hepatoprotective efficacy of Nigella sativa seeds dietary supplementation against lead acetate-induced oxidative damage in rabbit—purification and characterization of glutathione peroxidase. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 711–718.

- Alshali, R. A. (2019). New Insights on Nigella Sativa's Protective Effect against High Fat Diet Induced Alteration in Small Intestine and Liver of Rats: a Biochemical and Histological Study. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, 8, 172–183.
- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Al-u'datt, D. G., Gammoh, S., Alkandari, S., Allafi, A., . . . Al-Rashdan, H. K. (2024). Designing novel industrial and functional foods using the bioactive compounds from Nigella sativa L.(black cumin): Biochemical and biological prospects toward health implications. *Journal of Food Science*, 89, 1865–1893.
- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Al-u'datt, D. G., Gammoh, S., Alkandari, S., Allafi, A., . . . Al-Rashdan, H. K. (2024). Designing novel industrial and functional foods using the bioactive compounds from Nigella sativa L.(black cumin): Biochemical and biological prospects toward health implications. *Journal of Food Science*, 89, 1865–1893.
- Alvarez-Paguay, J., Fernández, L., Bolaños-Méndez, D., González, G., & Espinoza-Montero, P. J. (2022). Evaluation of an electrochemical biosensor based on carbon nanotubes, hydroxyapatite and horseradish peroxidase for the detection of hydrogen peroxide. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 37, 100514.
- Alzarea, E. A., Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Alexiou, A., Papadakis, M., Beshay, O. N., & Batiha, G. E. S. (2025). The Conceivable Role of Metabolic Syndrome in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease: Cellular and Subcellular Alterations in Underpinning a Tale of Two. *Neuromolecular medicine*, 27(1), 35.
- Aslani, M. R., Saadat, S., & Boskabady, M. H. (2024). Comprehensive and updated review on anti-oxidant effects of Nigella sativa and its constituent, thymoquinone, in various disorders. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 27, 923.
- Aslani, M. R., Saadat, S., & Boskabady, M. H. (2024). Comprehensive and updated review on anti-oxidant effects of Nigella sativa and its constituent, thymoquinone, in various disorders. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 27, 923.
- Aslani, M. R., Saadat, S., & Boskabady, M. H. (2024). Comprehensive and updated review on anti-oxidant effects of Nigella sativa and its constituent, thymoquinone, in various disorders. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 27, 923.
- Bai, Y., & Li, S. (2023). Oxidative stress sensing system for 8-OHdG detection based on plasma coupled electrochemistry by transparent ITO/AuNTAs/PtNPs electrode. *Biosensors*, 13, 643.
- Balan, A. I., Halațiu, V. B., & Scridon, A. (2024). Oxidative stress, inflammation, and mitochondrial dysfunction: a link between obesity and atrial fibrillation. *Antioxidants*, 13, 117.
- Barba, T., Robert, M., & Hot, A. (2025). IA en santé: guide pour l'interniste averti. *La Revue de Médecine Interne*.

- Bashir, K. M., Kim, J. W., Kim, J.-K., Chun, Y.-S., Choi, J.-S., & Ku, S.-K. (2023). Efficacy confirmation test of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds extract using a high-fat diet mouse model. *Metabolites*, *13*, 501.
- Baudin, B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt cardio*, *2*, 43–52.
- Beaudeau, J.-L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., & Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, *21*, 144–150.
- Bencivenga, D., Arcadio, F., Piccirillo, A., Annunziata, M., Della Ragione, F., Cennamo, N., . . . Guida, L. (2023). Plasmonic optical fiber biosensor development for point-of-care detection of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, *199*, 177–188.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, *239*, 70–76.
- Berg, D., & Youdim, M. B. (2006). Role of iron in neurodegenerative disorders. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, *17*, 5–17.
- Bonnefont-Rousselot, D. (2014). Obésité et stress oxydant. *Obésité*, *9*, 8–13.
- Brainina, K. Z., & Shpigun, L. K. (2023). State-of-the-art electrochemistry for the assessment of oxidative stress and integral antioxidant activity of biological environments. *Electrochemical Science Advances*, *3*, e2100219.
- Bruce, S. O., Nwafor, O. I., Omoirri, M. A., Adione, N. M., Onyeka, I. P., & Ezeoru, V. C. (2021). GC-MS, FTIR and antiulcer screening of aqueous seed extract and oil of *Nigella sativa* in Wistar rats. *J. Drug Deliv. Ther*, *11*, 48–60.
- Burstein, M. S., Scholnick, H. R., & Morfin, R. (1970). Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Journal of lipid research*, *11*, 583–595.
- Butterfield, D. A., Reed, T., Newman, S. F., & Sultana, R. (2007). Roles of amyloid β -peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Free Radical Biology and Medicine*, *43*, 658–677.
- Calas-Blanchard, C., Catanante, G., & Noguer, T. (2014). Electrochemical sensor and biosensor strategies for ROS/RNS detection in biological systems. *Electroanalysis*, *26*, 1277–1286.
- Carillon, J., Del Rio, D., Teissèdre, P.-L., Cristol, J.-P., Lacan, D., & Rouanet, J.-M. (2012). Antioxidant capacity and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of a melon concentrate rich in superoxide dismutase. *Food chemistry*, *135*, 1298–1302.
- Cascella, M., Bimonte, S., Barbieri, A., & others. (2018). Dissecting the potential roles of *Nigella sativa* and its constituent Thymoquinone on the prevention and on the progression of Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*. 2018; 10: 16. *Dissecting the potential roles of Nigella sativa and its constituent*

- Thymoquinone on the prevention and on the progression of Alzheimer's disease. Front Aging Neurosci.* 2018; 10: 16.
- Caturano, A., D'Angelo, M., Mormone, A., Russo, V., Mollica, M. P., Salvatore, T., . . . others. (2023). Oxidative stress in type 2 diabetes: impacts from pathogenesis to lifestyle modifications. *Current Issues in Molecular Biology*, 45, 6651–6666.
- Chaker, Y., Ilikti, H., Debdab, M., Moumene, T., Belarbi, E. H., Wadouachi, A., ... & Bresson, S. (2016). Synthesis and characterization of 1-(hydroxyethyl)-3-methylimidazolium sulfate and chloride ionic liquids. *Journal of Molecular Structure*, 1113, 182-190.
- Chatterjee, S. (2016). Oxidative stress, inflammation, and disease. Dans *Oxidative stress and biomaterials* (pp. 35–58). Elsevier.
- Chen, W., Ren, Q.-Q., Yang, Q., Wen, W., & Zhao, Y.-D. (2012). In vivo electrochemical biosensors for reactive oxygen species detection: a mini-review. *Analytical letters*, 45, 156–167.
- Chen, W., Ren, Q.-Q., Yang, Q., Wen, W., & Zhao, Y.-D. (2012). In vivo electrochemical biosensors for reactive oxygen species detection: a mini-review. *Analytical letters*, 45, 156–167.
- Ching, T., Zhu, X., & Garmire, L. X. (2018). Cox-nnet: an artificial neural network method for prognosis prediction of high-throughput omics data. *PLoS computational biology*, 14, e1006076.
- Chung, A. P., Gurtu, S., Chakravarthi, S., Moorthy, M., & Palanisamy, U. D. (2018). Geraniin protects high-fat diet-induced oxidative stress in Sprague Dawley rats. *Frontiers in nutrition*, 5, 17.
- CK, R. O. (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sci*, 84, 705–712.
- Cottat, M., D'Andrea, C., Yasukuni, R., Malashikhina, N., Grinyte, R., Lidgi-Guigui, N., . . . Gucciardi, P. (2015). High Sensitivity, High Selectivity SERS Detection of MnSOD Using Optical Nanoantennas Functionalized with Aptamers. *J. Phys. Chem. C*, 119(27), 15532-15540. doi:10.1021/acs.jpcc.5b03681
- Cottat, M., D'andrea, C., Yasukuni, R., Malashikhina, N., Grinyte, R., Lidgi-Guigui, N., . . . others. (2015). High sensitivity, high selectivity SERS detection of MnSOD using optical nanoantennas functionalized with aptamers. *The Journal of Physical Chemistry C*, 119, 15532–15540.
- D'Mello, S. R., & Kindy, M. C. (2020). Overdosing on iron: Elevated iron and degenerative brain disorders. *Experimental Biology and Medicine*, 245, 1444–1473.
- D'Mello, S. R., & Kindy, M. C. (2020). Overdosing on iron: Elevated iron and degenerative brain disorders. *Experimental Biology and Medicine*, 245, 1444–1473.
- Dahle, L. K., Hill, E. G., & Holman, R. T. (1962). The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Archives of biochemistry and biophysics*, 98, 253–261.

- Darenskaya, M. A., Kolesnikova, L. I., & Kolesnikov, S. I. (2021). Oxidative stress: pathogenetic role in diabetes mellitus and its complications and therapeutic approaches to correction. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 171, 179–189.
- Davies, K. J. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB life*, 50, 279–289.
- Desai, S. D., Saheb, S. H., Das, K. K., & Haseena, S. (2015). Effect of Nigella sativa seed powder on MDA and SOD levels in streptozotocine induced diabetes albino rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7, 206.
- Di Majo, D., Sardo, P., Giglia, G., Di Liberto, V., Zummo, F. P., Zizzo, M. G., . . . others. (2022). Correlation of metabolic syndrome with redox homeostasis biomarkers: evidence from high-fat diet model in wistar rats. *Antioxidants*, 12, 89.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, 82, 70–77.
- Elmowalid, G. A., Ahmad, A. A., El-Hamid, M. I., Ibrahim, D., Wahdan, A., El Oksh, A. S., . . . others. (2022). Nigella sativa extract potentially inhibited methicillin resistant Staphylococcus aureus induced infection in rabbits: potential immunomodulatory and growth promoting properties. *Animals*, 12, 2635.
- Epp, J. (2016). X-ray diffraction (XRD) techniques for materials characterization. In *Materials characterization using nondestructive evaluation (NDE) methods* (pp. 81-124). Woodhead Publishing.
- Fanoudi, S., Alavi, M. S., Hosseini, M., & Sadeghnia, H. R. (2019). Nigella sativa and thymoquinone attenuate oxidative stress and cognitive impairment following cerebral hypoperfusion in rats. *Metabolic Brain Disease*, 34, 1001–1010.
- Feillet-Coudray, C., Fouret, G., Vigor, C., Bonafos, B., Jover, B., Blachnio-Zabielska, A., . . . others. (2019). Long-term measures of dyslipidemia, inflammation, and oxidative stress in rats fed a high-fat/high-fructose diet. *Lipids*, 54, 81–97.
- Feillet-Coudray, C., Sutra, T., Fouret, G., Ramos, J., Wrutniak-Cabello, C., Cabello, G., . . . Coudray, C. (2009). Oxidative stress in rats fed a high-fat high-sucrose diet and preventive effect of polyphenols: Involvement of mitochondrial and NAD (P) H oxidase systems. *Free Radical Biology and Medicine*, 46, 624–632.
- Finkler, M., Lichtenberg, D., & Pinchuk, I. (2014). The relationship between oxidative stress and exercise. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 25, 1–11.
- Fossati, P., & Prencipe, L. (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical chemistry*, 28, 2077–2080.

- Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, 18, 499–502.
- Gaeta, A., & Hider, R. C. (2005). The crucial role of metal ions in neurodegeneration: the basis for a promising therapeutic strategy. *British journal of pharmacology*, 146, 1041–1059.
- Garait, B. (2006). *Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®*. Ph.D. dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
- Garg, M., Gupta, A., Sharma, A. L., & Singh, S. (2021). Advancements in 2D materials based biosensors for oxidative stress biomarkers. *ACS Applied Bio Materials*, 4, 5944–5960.
- Gensluckner, S., Wernly, B., Datz, C., & Aigner, E. (2024). Iron, oxidative stress, and metabolic dysfunction—Associated steatotic liver disease. *Antioxidants*, 13, 208.
- Ghedira, K. (2006). Cultivated black cumin: *Nigella sativa* L.(Ranunculaceae). *Phytothérapie*, 4, 220–226.
- Goode, J. A., Rushworth, J. V., & Millner, P. A. (2015). Biosensor regeneration: a review of common techniques and outcomes. *Langmuir*, 31, 6267–6276.
- Grabska-Kobylecka, I., Szpakowski, P., Król, A., Książek-Winiarek, D., Kobylecki, A., Głąbiński, A., & Nowak, D. (2023). Polyphenols and their impact on the prevention of neurodegenerative diseases and development. *Nutrients*, 15, 3454.
- Gueffai, A., Gonzalez-Serrano, D. J., Christodoulou, M. C., Orellana-Palacios, J. C., Ortega, M. L., Ouldoumna, A., . . . others. (2022). Phenolics from defatted black cumin seeds (*Nigella sativa* L.): ultrasound-assisted extraction optimization, comparison, and antioxidant activity. *Biomolecules*, 12, 1311.
- Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. *Archives of Toxicology*, 1–105.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Oxidative stress. *Revue médicale de liege*, 62, 628–638.
- Han, T. S., & Lean, M. E. (2015). Metabolic syndrome. *Medicine*, 43, 80–87.
- Harfield, J. C., Batchelor-McAuley, C., & Compton, R. G. (2012). Electrochemical determination of glutathione: a review. *Analyst*, 137, 2285–2296.
- Harrison, A. V., Lorenzo, F. R., & McClain, D. A. (2023). Iron and the pathophysiology of diabetes. *Annual review of physiology*, 85, 339–362.
- Hassoun, S., Jefferson, F., Shi, X., Stucky, B., Wang, J., & Rosa Jr, E. (2021). Artificial intelligence for biology. *Integrative and Comparative Biology*, 61, 2267–2275.
- Hayes, J. D., Dinkova-Kostova, A. T., & Tew, K. D. (2020). Oxidative stress in cancer. *Cancer cell*, 38, 167–197.

- Hepel, M., & Andreescu, S. (2015). Oxidative stress and human health. Dans *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy Volume 2* (pp. 1–33). ACS Publications.
- Hepel, M., & Andreescu, S. (2015). Oxidative stress and human health. In *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy Volume 2* (pp. 1–33). ACS Publications.
- Hininger-Favier, I., Osman, M., Roussel, A. M., Intes, L., & Montanari, B. (2016). Positive effects of an oral supplementation by Glisodin, a gliadin-combined SOD-rich melon extract, in an animal model of dietary-induced oxidative stress. *Phytothérapie, 14*, 29–34.
- Hininger-Favier, I., Osman, M., Roussel, A. M., Intes, L., & Montanari, B. (2016). Positive effects of an oral supplementation by Glisodin, a gliadin-combined SOD-rich melon extract, in an animal model of dietary-induced oxidative stress. *Phytothérapie, 14*, 29–34.
- Hosseinzadeh, H., Parvardeh, S., Asl, M. N., Sadeghnia, H. R., & Ziace, T. (2007). Effect of thymoquinone and Nigella sativa seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomedicine, 14*, 621–627.
- Houldsworth, A. (2024). Role of oxidative stress in neurodegenerative disorders: a review of reactive oxygen species and prevention by antioxidants. *Brain Communications, 6*, fcad356.
- Hsu, C. C., Senussi, N. H., Fertrin, K. Y., & Kowdley, K. V. (2022). Iron overload disorders. *Hepatology communications, 6*, 1842–1854.
- Islam, M. S., Wei, P., Suzaiddula, M., Nime, I., Feroz, F., Acharjee, M., & Pan, F. (2024). The interplay of factors in metabolic syndrome: understanding its roots and complexity. *Molecular Medicine, 30*, 279.
- Jakaria, M., Cho, D.-Y., Ezazul Haque, M., Karthivashan, G., Kim, I.-S., Ganesan, P., & Choi, D.-K. (2018). Neuropharmacological potential and delivery prospects of thymoquinone for neurological disorders. *Oxidative medicine and cellular longevity, 2018*, 1209801.
- Jakubiak, G. K., Osadnik, K., Lejawa, M., Osadnik, T., Goławski, M., Lewandowski, P., & Pawlas, N. (2021). “Obesity and insulin resistance” is the component of the metabolic syndrome most strongly associated with oxidative stress. *Antioxidants, 11*, 79.
- Jamshidi, M., Walcarius, A., Thangamuthu, M., Mehrgardi, M., & Ranjbar, A. (2023). Electrochemical approaches based on micro-and nanomaterials for diagnosing oxidative stress. *Microchimica Acta, 190*, 117.
- Jarmakiewicz-Czaja, S., Zielińska, M., Helma, K., Sokal, A., & Filip, R. (2023). Effect of Nigella sativa on selected gastrointestinal diseases. *Current Issues in Molecular Biology, 45*, 3016–3034.
- Jarmakiewicz-Czaja, S., Zielińska, M., Helma, K., Sokal, A., & Filip, R. (2023). Effect of Nigella sativa on selected gastrointestinal diseases. *Current Issues in Molecular Biology, 45*, 3016–3034.
- Javidi, S., Razavi, B. M., & Hosseinzadeh, H. (2016). A review of neuropharmacology effects of Nigella sativa and its main component, thymoquinone. *Phytotherapy research, 30*, 1219–1229.

- Jiang, S., Liu, H., & Li, C. (2021). Dietary regulation of oxidative stress in chronic metabolic diseases. *Foods*, *10*, 1854.
- Jomova, K., & Valko, M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, *283*, 65–87.
- Juurlink, B. H., & Paterson, P. G. (1998). Review of oxidative stress in brain and spinal cord injury: suggestions for pharmacological and nutritional management strategies. *The journal of spinal cord medicine*, *21*, 309–334.
- Juurlink, B. H., & Paterson, P. G. (1998). Review of oxidative stress in brain and spinal cord injury: suggestions for pharmacological and nutritional management strategies. *The journal of spinal cord medicine*, *21*, 309–334.
- Kamat, P. K., Kalani, A., Rai, S., Swarnkar, S., Tota, S., Nath, C., & Tyagi, N. (2016). Mechanism of oxidative stress and synapse dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: understanding the therapeutics strategies. *Molecular neurobiology*, *53*, 648–661.
- Kanter, M., Coskun, O., Korkmaz, A., & Oter, S. (2004). Effects of Nigella sativa on oxidative stress and β -cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, *279*, 685–691.
- Karunakaran, C., Rajkumar, R., & Bhargava, K. (2015). Introduction to biosensors. Dans *Biosensors and bioelectronics* (pp. 1–68). Elsevier.
- Kaur, H., Bhosale, A., & Shrivastav, S. (2018). Biosensors: classification, fundamental characterization and new trends: a review. *Int J Health Sci Res*, *8*, 315–333.
- Kesh, S. B., Sarkar, D. E., & Manna, K. R. (2016). High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome: a review. *Asian J Pharm Clin Res*, *9*, 47–52.
- Kesh, S. B., Sarkar, D. E., & Manna, K. R. (2016). High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome: a review. *Asian J Pharm Clin Res*, *9*, 47–52.
- Khazdair, M. R. (2015). The protective effects of Nigella sativa and its constituents on induced neurotoxicity. *Journal of toxicology*, *2015*, 841823.
- Kirsch, R., Sijtsma, H. P., Tlali, M., Marais, A. D., & Hall, P. d. (2006). Effects of iron overload in a rat nutritional model of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International*, *26*, 1258–1267.
- Klaunig, J. E. (2018). Oxidative stress and cancer. *Current pharmaceutical design*, *24*, 4771–4778.
- Kobi, J. B., Matias, A. M., Gasparini, P. V., Torezani-Sales, S., Madureira, A. R., da Silva, D. S., . . . others. (2023). High-fat, high-sucrose, and combined high-fat/high-sucrose diets effects in oxidative stress and inflammation in male rats under presence or absence of obesity. *Physiological Reports*, *11*, e15635.

- Leong, X.-F., Rais Mustafa, M., & Jaarin, K. (2013). Nigella sativa and its protective role in oxidative stress and hypertension. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 120732.
- Leyane, T. S., Jere, S. W., & Houreld, N. N. (2022). Oxidative stress in ageing and chronic degenerative pathologies: molecular mechanisms involved in counteracting oxidative stress and chronic inflammation. *International journal of molecular sciences*, 23, 7273.
- Leyane, T. S., Jere, S. W., & Houreld, N. N. (2022). Oxidative stress in ageing and chronic degenerative pathologies: molecular mechanisms involved in counteracting oxidative stress and chronic inflammation. *International journal of molecular sciences*, 23, 7273.
- Li, K., & Reichmann, H. (2016). Role of iron in neurodegenerative diseases. *Journal of Neural Transmission*, 123, 389–399.
- Livingstone, D. J. (2008). *Artificial neural networks: methods and applications* (Vol. 458). Springer.
- Long, H., Zhu, W., Wei, L., & Zhao, J. (2023). Iron homeostasis imbalance and ferroptosis in brain diseases. *MedComm*, 4, e298.
- Marino, A., Battaglini, M., Moles, N., & Ciofani, G. (2022). Natural antioxidant compounds as potential pharmaceutical tools against neurodegenerative diseases. *ACS omega*, 7, 25974–25990.
- Masenga, S. K., Kabwe, L. S., Chakulya, M., & Kirabo, A. (2023). Mechanisms of oxidative stress in metabolic syndrome. *International journal of molecular sciences*, 24, 7898.
- Massaad, C. A., & Klann, E. (2011). Reactive oxygen species in the regulation of synaptic plasticity and memory. *Antioxidants & redox signaling*, 14, 2013–2054.
- Mattson, M. P., & Liu, D. (2002). Energetics and oxidative stress in synaptic plasticity and neurodegenerative disorders. *Neuromolecular medicine*, 2, 215–231.
- Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Draï, J., & Thérond, P. (2008). Biomarqueurs de la peroxydation lipidique: aspects analytiques. *Ann Biol Clin*, 66, 605–20.
- Milton, V. J., & Sweeney, S. T. (2012). Oxidative stress in synapse development and function. *Developmental neurobiology*, 72, 100–110.
- Mollazadeh, H., & Hosseinzadeh, H. (2014). The protective effect of Nigella sativa against liver injury: a review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 17, 958.
- Moore, J. F., & Sharer, J. D. (2017). Methods for quantitative creatinine determination. *Current protocols in human genetics*, 93(1), A-30.
- Moreno-García, A., Kun, A., Calero, M., & Calero, O. (2021). The neuromelanin paradox and its dual role in oxidative stress and neurodegeneration. *Antioxidants*, 10, 124.
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2022). A review on electrochemical sensors and biosensors used in assessing antioxidant activity. *Antioxidants*, 11, 584.

- Murray, R., Kaplan, A., & others. (1984). Aspartate aminotransferase. *Clinical Chemistry. Theory, analysis and correlation*. Kaplan LA, Pesce AJ (Ed), CV Mosby Company, 1105–8.
- Nara, S. J., Harjani, J. R., & Salunkhe, M. M. (2001). Friedel–Crafts Sulfonation in 1-Butyl-3-methylimidazolium Chloroaluminate Ionic Liquids. *The Journal of Organic Chemistry*, 66(25), 8616–8620.
- Naresh, V., & Lee, N. (2021). A review on biosensors and recent development of nanostructured materials-enabled biosensors. *Sensors*, 21, 1109.
- Ngo, V., & Duennwald, M. L. (2022). Nrf2 and oxidative stress: a general overview of mechanisms and implications in human disease. *Antioxidants*, 11, 2345.
- Nivetha, K., & Prasanna, G. (2016). GC-MS and FT-IR analysis of Nigella sativa L. seeds. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*, 3, 45–54.
- Noori, H. N., & Abdulameer, A. F. (2023). A review of biosensors; definition, classification, properties, and applications. *Iraqi Journal of Science*, 5665–5690.
- Nwozo, O. S., Effiong, E. M., Aja, P. M., & Awuchi, C. G. (2023). Antioxidant, phytochemical, and therapeutic properties of medicinal plants: A review. *International Journal of Food Properties*, 26, 359–388.
- Oskoueï, Z., Akaberi, M., & Hosseinzadeh, H. (2018). A glance at black cumin (Nigella sativa) and its active constituent, thymoquinone, in ischemia: a review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 21, 1200.
- Pashkow, F. J. (2011). Oxidative stress and inflammation in heart disease: do antioxidants have a role in treatment and/or prevention? *International journal of inflammation*, 2011, 514623.
- Pérez-Bermejo, M., Barrezueta-Aguilar, C., Pérez-Murillo, J., Ventura, I., Legidos-García, M. E., Tomás-Aguirre, F., . . . Murillo-Llorente, M. T. (2024). Impact of endocrine disrupting pesticide use on obesity: a systematic review. *Biomedicines*, 12, 2677.
- Perron, N. R., & Brumaghim, J. L. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell biochemistry and biophysics*, 53, 75–100.
- Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F., Limet, R., & Defraigne, J. O. (2001). Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Actualité Médicale Internationale. Métabolismes-Hormones–Nutrition*, 5, 158–164.
- Prieto-Simón, B., Cortina, M., Campas, M., & Calas-Blanchard, C. (2008). Electrochemical biosensors as a tool for antioxidant capacity assessment. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 129, 459–466.
- Ramassamy, C. (2006). Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *European journal of pharmacology*, 545, 51–64.
- Ranjan, K., Barar, B., Prasad, M., & Prasad, G. (2025). Application of artificial intelligence in electrochemical diagnostics for human health. *Discover Electrochemistry*, 2, 1–35.

- Raoux, F. (2006). Syndrome métabolique: définitions et épidémiologie. *MT cardio*, 2, 174–182.
- Ré, D. B., Nafia, I., Nieoullon, A., Le Goff, L. K., & Had-Aissouni, L. (2005). Stress oxydatif cérébral: les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate? Implications sur la survie neuronale. *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation*, 24, pp. 502–509.
- Reel, P. S., Reel, S., Pearson, E., Trucco, E., & Jefferson, E. (2021). Using machine learning approaches for multi-omics data analysis: A review. *Biotechnology advances*, 49, 107739.
- Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y., & Vergely, C. (2014). Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840, 2709–2729.
- Roychoudhury, S., Chakraborty, S., Choudhury, A. P., Das, A., Jha, N. K., Slama, P., . . . Kesari, K. K. (2021). Environmental factors-induced oxidative stress: Hormonal and molecular pathway disruptions in hypogonadism and erectile dysfunction. *Antioxidants*, 10, 837.
- Sadeghzadeh, Z., Ostadrahimi, A., Ranjbar, M., & Farshbaf-Khalili, A. (2023). The Efficacy of Nigella sativa L. and Curcumin Nanomicelle Alone or Together on Lipid Profile, Glycemic Control Indices, and Serum 17-B Estradiol in Postmenopausal Women. *Journal of caring sciences*, 12, 163.
- Sawicki, K. T., De Jesus, A., & Ardehali, H. (2023). Iron metabolism in cardiovascular disease: physiology, mechanisms, and therapeutic targets. *Circulation research*, 132, 379–396.
- Sawicki, K. T., De Jesus, A., & Ardehali, H. (2023). Iron metabolism in cardiovascular disease: physiology, mechanisms, and therapeutic targets. *Circulation research*, 132, 379–396.
- Sayre, L. M., Perry, G., & Smith, M. A. (2008). Oxidative stress and neurotoxicity. *Chemical research in toxicology*, 21, 172–188.
- Schackart III, K. E., & Yoon, J.-Y. (2021). Machine learning enhances the performance of bioreceptor-free biosensors. *Sensors*, 21, 5519.
- Shabbir, S. W., & Chauhan, S. (2024). A review on use of UV spectroscopy. *Int. J. of Pharm. Sci*, 2(6), 1232-1245.
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., . . . others. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 552535.
- Shaukat, A., Zaidi, A., Anwar, H., & Kizilbash, N. (2023). Mechanism of the antidiabetic action of Nigella sativa and Thymoquinone: a review. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1126272.
- Shiddiky, M. J., & Torriero, A. A. (2011). Application of ionic liquids in electrochemical sensing systems. *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 1775–1787.
- Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2022). Mechanistic insight into oxidative stress-triggered signaling pathways and type 2 diabetes. *Molecules*, 27, 950.

- Singh, V. V., Nigam, A. K., Batra, A., Boopathi, M., Singh, B., & Vijayaraghavan, R. (2012). Applications of ionic liquids in electrochemical sensors and biosensors. *International Journal of Electrochemistry*, 2012, 165683.
- Song, S., Wang, L., Li, J., Fan, C., & Zhao, J. (2008). Aptamer-based biosensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27, 108–117.
- Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., & LLeonart, M. E. (2013). Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing research reviews*, 12, 376–390.
- Spichiger, R.-E., & Jeanmonod, D. (2002). *Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales*. EPFL Press.
- Suvarna, K. S., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's theory and practice of histological techniques E-Book*. Elsevier health sciences.
- Tanwar, B., Goyal, A., & others. (2021). *Oilseeds: health attributes and food applications*. Springer.
- Tariq, S. M., Khan, K., Sadiq, M. M., Pooja, S., Suyog, S., & Devendra, S. K. (2023). Nigella Sativa's effect on biochemical as well as anthropometric parameters in diabetic rats on high fat diet. *J. Med. Sci. Health*, 9, 16–22.
- Taucher, E., Mykoliuk, I., Fediuk, M., & Smolle-Juettner, F.-M. (2022). Autophagy, oxidative stress and cancer development. *Cancers*, 14, 1637.
- Tavakkoli, A., & Hosseinzadeh, H. (2020). Nigella sativa L. and thymoquinone as neuroprotective antioxidants. Dans *Oxidative stress and dietary antioxidants in neurological diseases* (pp. 325–341). Elsevier.
- Tavakkoli, A., Mahdian, V., Razavi, B. M., & Hosseinzadeh, H. (2017). Review on clinical trials of black seed (Nigella sativa) and its active constituent, thymoquinone. *Journal of pharmacopuncture*, 20, 179.
- Teschke, R. (2024). Hemochromatosis: ferroptosis, ROS, gut microbiome, and clinical challenges with alcohol as confounding variable. *International journal of molecular sciences*, 25(5), 2668.
- Thérond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Davit-Spraul, A., Conti, M., & Legrand, A. (2000). Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 3, 373–384.
- Thévenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A., & Wilson, G. S. (2001). Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Analytical Letters*, 34, 635–659.
- Tönnies, E., & Trushina, E. (2017). Oxidative stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*, 57, 1105–1121.
- Trinder, P. (1969). Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annals of clinical Biochemistry*, 6, 24–27.

- Tsuchiya, H., Ebata, Y., Sakabe, T., Hama, S., Kogure, K., & Shiota, G. (2013). High-fat, high-fructose diet induces hepatic iron overload via a hepcidin-independent mechanism prior to the onset of liver steatosis and insulin resistance in mice. *Metabolism*, 62, 62–69.
- Tsuchiya, H., Ebata, Y., Sakabe, T., Hama, S., Kogure, K., & Shiota, G. (2013). High-fat, high-fructose diet induces hepatic iron overload via a hepcidin-independent mechanism prior to the onset of liver steatosis and insulin resistance in mice. *Metabolism*, 62, 62–69.
- Ulewicz-Magulska, B., & Wesolowski, M. (2023). Antioxidant activity of medicinal herbs and spices from plants of the Lamiaceae, Apiaceae and Asteraceae families: Chemometric interpretation of the data. *Antioxidants*, 12, 2039.
- Valkenberg, M., deCastro, C., & Hölderich, W. (2001). Friedel-Crafts acylation of aromatics catalysed by supported ionic liquids. *Applied Catalysis A: General*, 2015(1-2), 185-190.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160, 1–40.
- Van Dyken, P., & Lacoste, B. (2018). Impact of metabolic syndrome on neuroinflammation and the blood–brain barrier. *Frontiers in neuroscience*, 12, 930.
- Varela-López, A., Quiles, J. L., Cordero, M., Giampieri, F., & Bullón, P. (2015). Oxidative stress and dietary fat type in relation to periodontal disease. *Antioxidants*, 4, 322–344.
- Verissimo, N. V., Vicente, F. A., de Oliveira, R. C., Likoazar, B., de Souza Oliveira, R. P., & Pereira, J. F. (2022). Ionic liquids as protein stabilizers for biological and biomedical applications: A review. *Biotechnology Advances*, 61, 108055.
- Vigneshvar, S., Sudhakumari, C. C., Senthilkumaran, B., & Prakash, H. (2016). Recent advances in biosensor technology for potential applications—an overview. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 4, 11.
- Wang, C.-Y., & Babitt, J. L. (2019). Liver iron sensing and body iron homeostasis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 133, 18–29.
- Wang, L., Zhang, Y., Cheng, C., Liu, X., Jiang, H., & Wang, X. (2015). Highly sensitive electrochemical biosensor for evaluation of oxidative stress based on the nanointerface of graphene nanocomposites blended with gold, Fe₃O₄, and platinum nanoparticles. *ACS applied materials & interfaces*, 7, 18441–18449.
- Wang, T.-y., Li, Q., & Bi, K.-s. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 13, 12–23.
- Wang, X., & Hao, J. (2016). Recent advances in ionic liquid-based electrochemical biosensors. *Science bulletin*, 61, 1281–1295.

-
- Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., . . . Li, W. (2017). Antioxidant properties of probiotic bacteria. *Nutrients*, 9, 521.
- Wu, Y.-c., & Feng, J.-w. (2018). Development and application of artificial neural network. *Wireless Personal Communications*, 102, 1645–1656.
- Xiang, D., Liu, Y., Zhou, S., Zhou, E., & Wang, Y. (2021). Protective effects of estrogen on cardiovascular disease mediated by oxidative stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 5523516.
- Yan, F., Li, K., Xing, W., Dong, M., Yi, M., & Zhang, H. (2022). Role of iron-related oxidative stress and mitochondrial dysfunction in cardiovascular diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022, 5124553.
- Yaribeygi, H., Sathyapalan, T., Atkin, S. L., & Sahebkar, A. (2020). Molecular mechanisms linking oxidative stress and diabetes mellitus. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 8609213.
- Yimer, E. M., Tuem, K. B., Karim, A., Ur-Rehman, N., & Anwar, F. (2019). *Nigella sativa* L.(black cumin): a promising natural remedy for wide range of illnesses. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1528635.
- Zaoui, T., Debdab, M., Haddad, B., Belarbi, E. H., Chaker, Y., Rahmouni, M., ... & Baeten, V. (2021). Synthesis, vibrational and thermal properties of new functionalized 1-(2-hydroxyethyl)-3-methylimidazolium dihydrogenophosphate ionic liquid. *Journal of Molecular Structure*, 1236, 130264.
- Zhang, C., & Lu, Y. (2021). Study on artificial intelligence: The state of the art and future prospects. *Journal of Industrial Information Integration*, 23. doi:10.1016/j.jii.2021.100224
- Zhang, C., & Lu, Y. (2021). Study on artificial intelligence: The state of the art and future prospects. *Journal of Industrial Information Integration*, 23, 100224.
- Zhang, L., Dai, X., Wang, L., Cai, J., Shen, J., Shen, Y., . . . Zhao, Y. (2022). Iron overload accelerated lipid metabolism disorder and liver injury in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Frontiers in Nutrition*, 9, 961892.
- Zhang, S., Wright, G., & Yang, Y. (2000). Materials and techniques for electrochemical biosensor design and construction. *Biosensors and Bioelectronics*, 15, 273–282.
- Ziegler, C., & Göpel, W. (1998). Biosensor development. *Current opinion in chemical biology*, 2, 585–591.

Annexes

Annexes

Annexe 1. Courbes d'étalonnage pour les différents dosages des paramètres oxydatifs

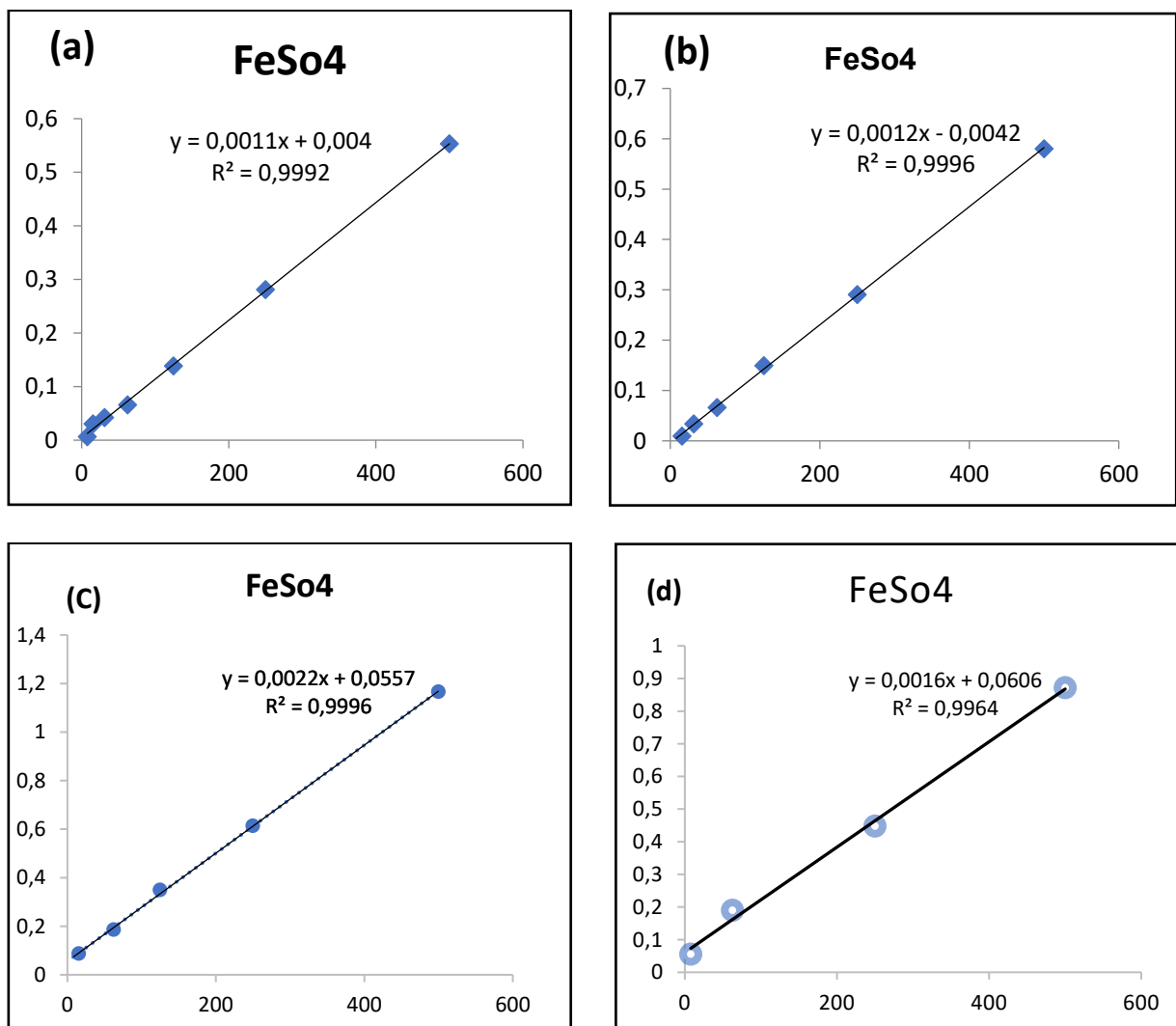


Figure 47: Gamme d'étalonnage de FRAP plasma (a), Foie (b), Cœur (c), (d) cerveau.

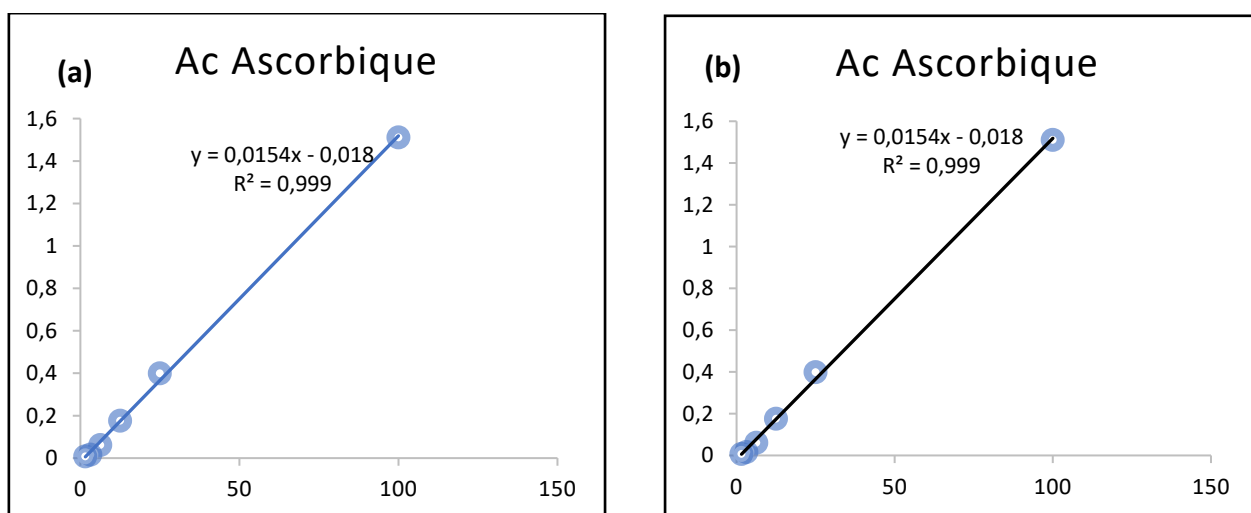


Figure 48: Gamme d'étalonnage acide ascorbique, Foie (a), Cœur (b)

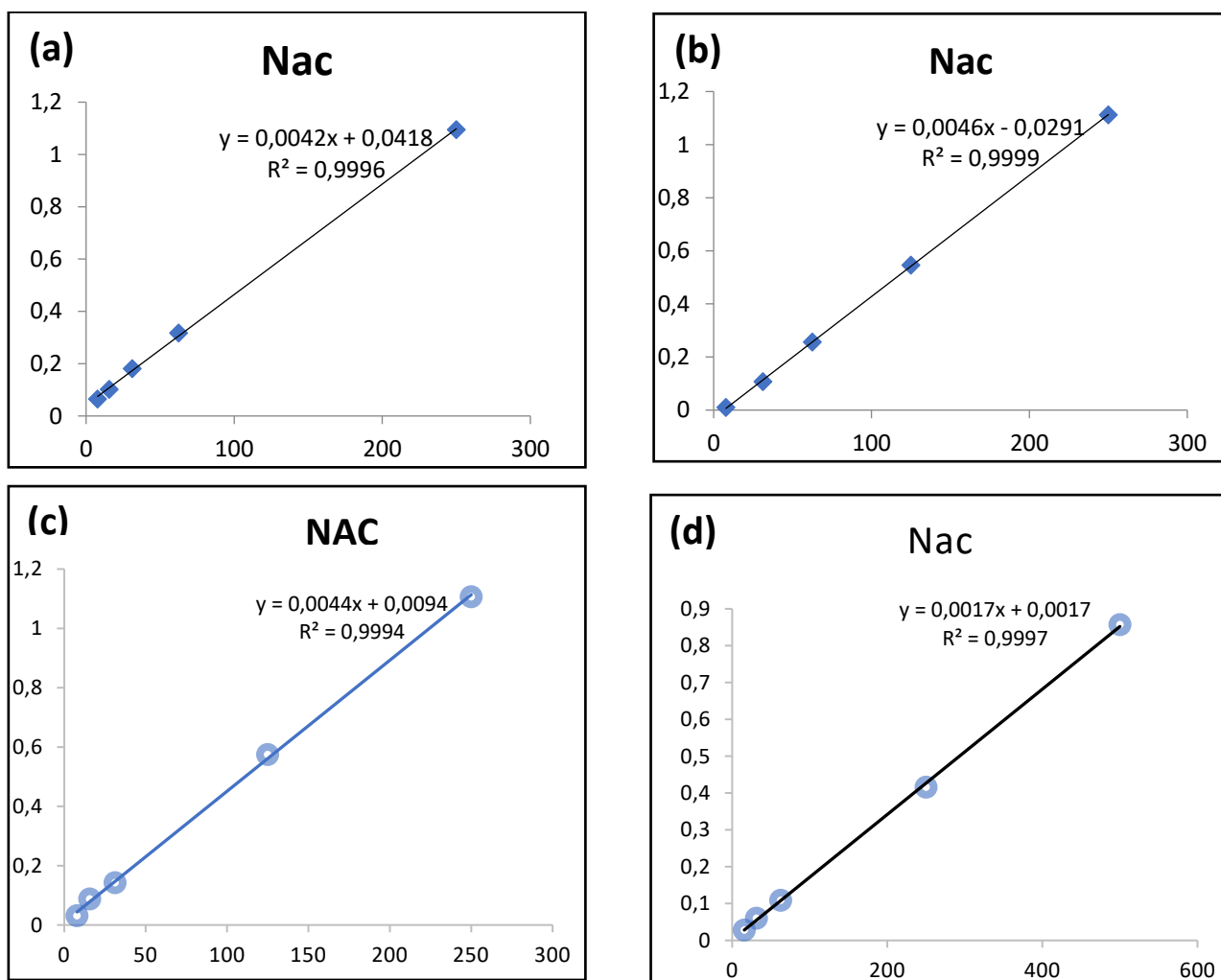


Figure 49: Gamme d'étalonnage de Thiol plasma (a), Foie (b), Cœur (c) ;(d) cerveau

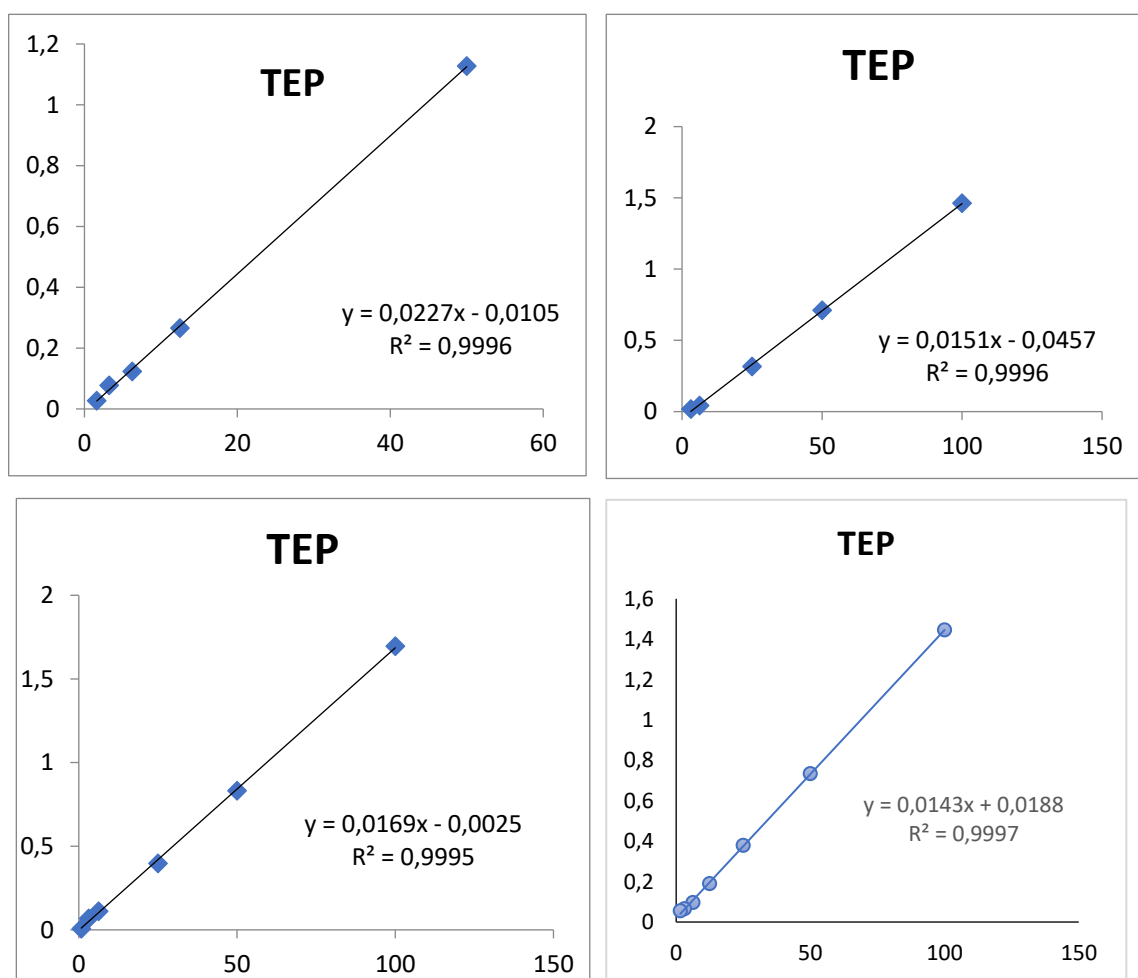


Figure 50: Gamme d'étalonnage de dosage des MDA à Plasma Foie

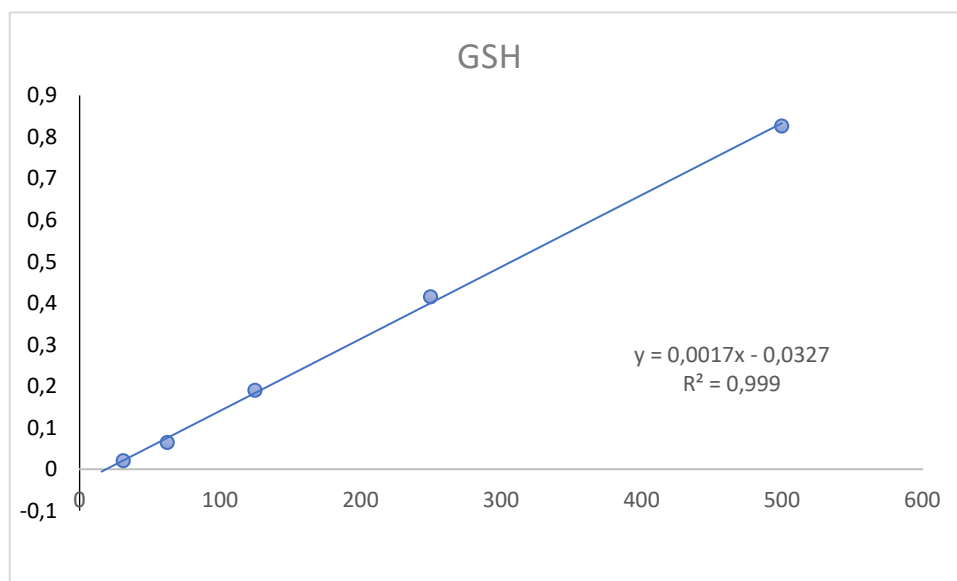


Figure 51: Gamme d'étalonnage de dosage dans l'homogénat de cerveau

Annexe 2. Différents lots de souris après 11 semaines d'expérimentation

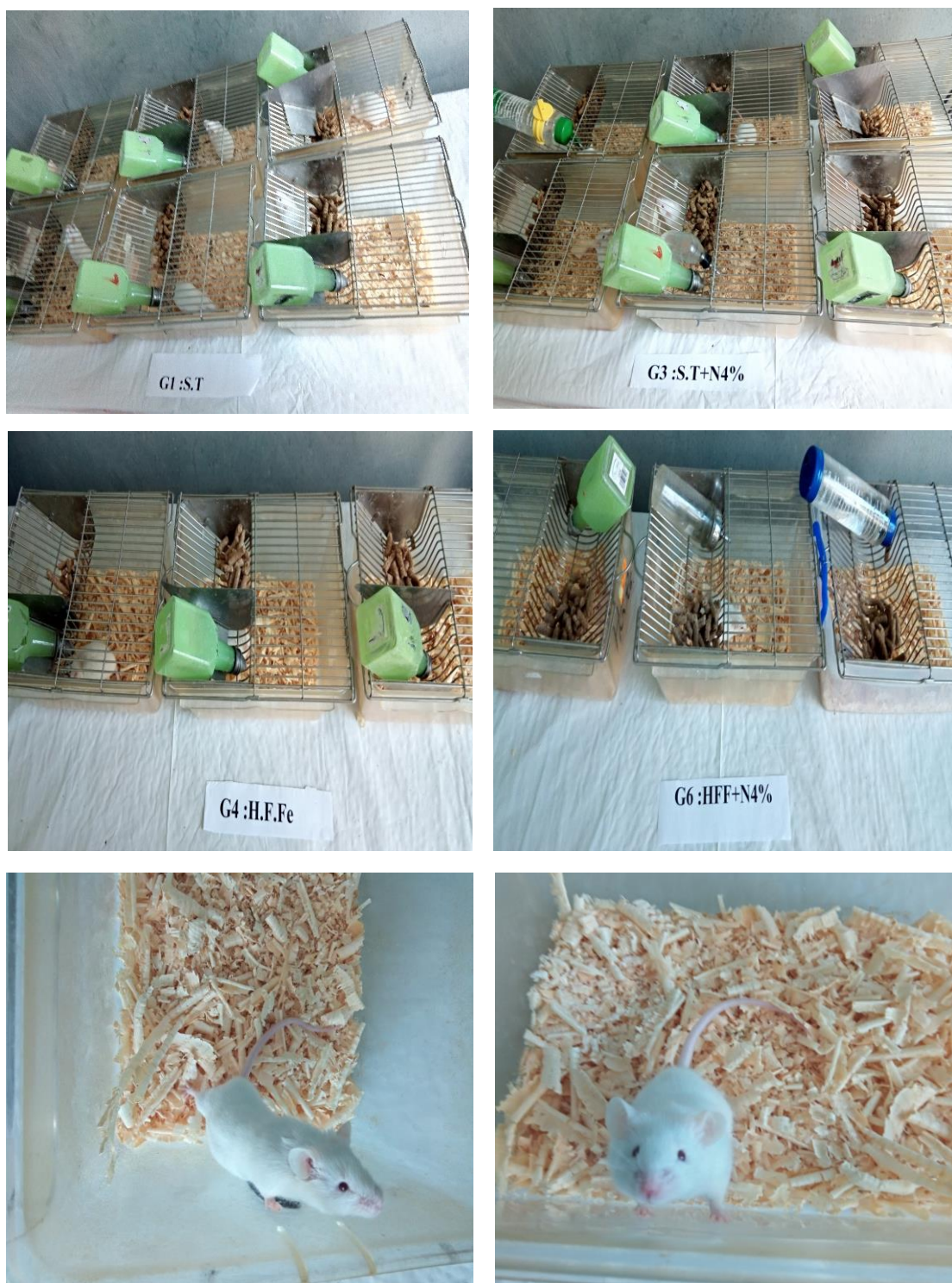


Figure 52: souris du groupe ST,ST+N , HG et HG+N après 11 semaines d'expérimentation

Annexe 3. Valeur nutritive et composition des régimes expérimentaux 1. Valeurs nutritives du son de blé, tourteau de soja, huile végétale, graisse d'animaux (Sauvant et al, 2004)

Son de blé dur

Coproduit de la transformation de grains de blé dur (*Triticum durum* L.), constitué principalement de fragments d'enveloppes et de particules de grains dont la plus grande partie de l'albumen a été enlevée (N = 142).

Toutes les valeurs sont exprimées par rapport au produit brut sauf indication contraire.

Composition élémentaire			Acides gras	
	Moy	ET	AG totaux / matières grasses (%)	80
Matière sèche (%)	86,6	1,1		
Protéines brutes (%)	14,6	1,1		
Cellulose brute (%)	10,1	1,1		
Matières grasses brutes (%)	4,4	0,4		
Cendres brutes (%)	4,9	0,4		
Cendres insolubles (%)	0,1			
NDF (%)	43,2			
ADF (%)	13,0			
ADL (%)	3,7			
Parois végétales (%)	41,8			
Amidon (%)	19,9	3,3		
Sucres totaux (%)	6,6			
Énergie brute (kcal/kg)	3970			

Minéraux		
	Moy	ET
Calcium (g/kg)	1,4	
Phosphore (g/kg)	9,7	
Magnésium (g/kg)	2,7	
Potassium (g/kg)	11,9	
Sodium (g/kg)	0,1	
Chlore (g/kg)	0,8	
Bilan électrolytique (mEq/kg)	290	

Tourteau de soja 48

Coproduit d'huilerie obtenu par pression, extraction au solvant et traitement thermique de graines de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) avec réincorporation partielle des coques. « 48 » indique que la teneur garantie en protéines + matières grasses est de 48 % sur brut (N = 10409).

Tourteaux de soja extrudé et de soja tanné pour les ruminants : voir page 281.

Toutes les valeurs sont exprimées par rapport au produit brut sauf indication contraire.

Composition élémentaire			Acides gras		
	Moy	ET		% AG	g/kg
Matière sèche (%)	87,8	0,6	Acide myristique C14:0	0,1	0,0
Protéines brutes (%)	45,3	1,0	Acide palmitique C16:0	10,5	1,5
Cellulose brute (%)	6,0	0,5	Acide palmitoléique C16:1	0,2	0,0
Matières grasses brutes (%)	1,9	0,4	Acide stéarique C18:0	3,8	0,5
Cendres brutes (%)	6,4	0,5	Acide oléique C18:1	21,7	3,0
Cendres insolubles (%)	0,3	0,3	Acide linoléique C18:2	53,1	7,4
NDF (%)	12,2	1,7	Acide linoléénique C18:3	7,4	1,0
ADF (%)	7,3	1,9	AG totaux / matières grasses (%)	75	
ADL (%)	0,7	0,4			
Parois végétales (%)	19,1	2,3			
Amidon (%)	0,0				
Sucres totaux (%)	8,3	1,1			
Énergie brute (kcal/kg)	4130	130			

Minéraux			Vitamines	
	Moy	ET		Moy
Calcium (g/kg)	3,4	0,9	Vitamine E (mg/kg)	4
Phosphore (g/kg)	6,2	0,5	Vitamine B1 - Thiamine (mg/kg)	6
P phytique / P total (%)	60		Vitamine B2 - Riboflavine (mg/kg)	3
Magnésium (g/kg)	2,9	0,3	Vitamine B6 - Pyridoxine (mg/kg)	6
Potassium (g/kg)	21,1	1,5	Niacine (mg/kg)	39
Sodium (g/kg)	0,3	0,5	Acide pantothénique (mg/kg)	16
Chlore (g/kg)	0,5	0,9	Acide folique (mg/kg)	0,59
Soufre (g/kg)	4,0		Biotine (mg/kg)	0,27
Bilan cations-anions (mEq/kg)	289		Choline (mg/kg)	2545
Bilan électrolytique (mEq/kg)	539			
Manganèse (mg/kg)	38	11		
Zinc (mg/kg)	47	8		
Cuivre (mg/kg)	18	7		
Fer (mg/kg)	283	145		
Sélénium (mg/kg)	0,20			
Cobalt (mg/kg)	0,26			
Molybdène (mg/kg)	4			
Iode (mg/kg)	0,15			

Autres	
	Moy
Activité phytasique (UI/kg)	20

283

Corps gras

Graisses d'animaux terrestres

	Saindoux Graisse fondue de porc	Suif Graisse de parage de ruminants avant fente de la carcasse et ayant subi un traitement thermique	Graisses de cuisson de volailles
Acides gras (% d'AG totaux)			
C12:0	0,1	0,1	0,1
C14:0	1,4	3,3	1,1
C16:0	24,4	25,3	21
C16:1	2,9	3,4	5
C18:0	14,4	19,2	7,1
C18:1	42,3	37,5	41,7
C18:2 ω-6	9,2	2,8	20,6
C18:3 ω-3	0,9	0,6	1,6
C20:0	0,4		1
C20:1	0,9		0,7
C20:4 ω-6	1,7	0,2	0,1
Vitamine			
E (mg/kg)	19	19	27
Énergie brute			
EB (kcal/kg)	Valeurs communes au saindoux, au suif et aux graisses de volailles 9380		
Porcs			
ED Croissance et truie (kcal/kg)		7970	
EM Croissance et truie (kcal/kg)		7920	
EN Croissance et truie (kcal/kg)		7110	
dE, dMO, dMG (%)		85	
Volailles			
EMAn Coq (kcal/kg)	8630	7970	9000
EMAn Poulet (kcal/kg)	8250	7220	8820
Ruminants			
UFL (par kg)		2,73	
UFV (par kg)		2,78	
dMO (%)		90	
dE (%)		88	
Lapins			
ED (kcal/kg)		8000	
EMn (kcal/kg)		8000	
dE (%)		85	

Huiles végétales

	Colza	Coprah	Palme	Soja	Tournesol
Acides gras (% AG totaux)					
C6+C8+C10		13,1			
C12:0	0,2	46,4	0,3		0,2
C14:0	0,1	17,7	0,6	0,1	0,2
C16:0	4,2	8,9	43,0	10,5	6,3
C16:1	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4
C18:0	1,8	3,0	4,4	3,8	4,3
C18:1	58,0	6,5	37,1	21,7	20,3
C18:2 ω-6	20,5	1,8	9,9	53,1	64,9
C18:3 ω-3	9,8	0,1	0,3	7,4	0,3
C20:0		0,5	0,4	0,3	
C20:1				0,2	
C22:1	0,4			0,3	
Vitamines					
A (1000 UI/kg)	18		145	19	0,3
D (1000 UI/kg)				0	0
E (mg/kg)	219	21	95	170	625
K (mg/kg)	2	0	0	0	0
Énergie brute					
EB (kcal/kg)	Valeurs communes aux huiles végétales 9380				

Tableau 10: Composition des régimes hypergras (Sauvant et al., 2004)

<i>Constituants</i>	<i>Régime hypergras (%)</i>
<i>Amidon</i>	2.59
<i>Cellulose</i>	2.59
<i>Protéine</i>	2.59
<i>Matière grasse</i>	48
<i>Énergie (Kcal/100g)</i>	679.92

Tableau 11: Profile lipidique de la graisse ovine (Sauvant et al., 2004)

Acide gras	Type de liaison	Pourcentage (%)
A. laurique	C12 :0	0.1
A. myristique	C14 :0	3.3
A. palmitique	C16 :0	25.3
A. palmitoléique	C16 :1	3.4
A. stéarique	C18 :0	19.2
A. oléique	C18 :1	37.5
A. linoléique	C18 : 2 ω- 6	2.8
A. α Linolénique	C18 : 3 ω- 3	0.6
A. arachidonique	C20 : 4 ω- 6	0.2

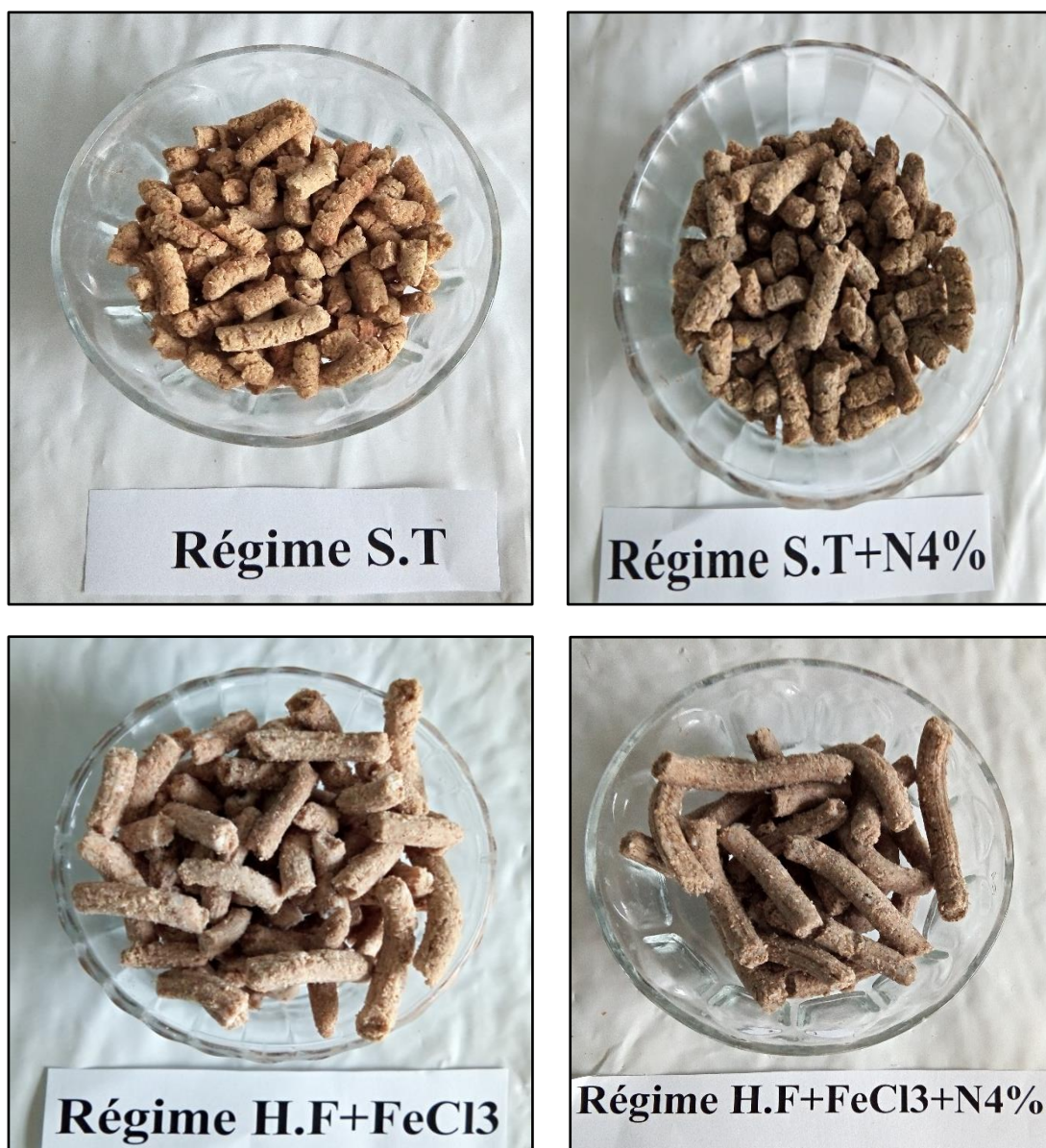


Figure 53: Différents régimes expérimentaux

Annexe 4. Fiches techniques de différents analyses biochimiques

1. Fiche technique du kit biomaghreb des triglycérides

Biomaghreb

PRESENTATION

Réf 20131, (240 Tests)
R1 : 2 x 120 ml
R2 : 2 flacons (lyoph)
R3 : 1 x 4 ml

Réf 20132, (120 Tests)
R1 : 4 x 30 ml
R2 : 4 flacons (lyoph)
R3 : 1 x 3 ml

Réf : 20138, (600 Tests)
R1 : 5 x 120 ml
R2 : 5 flacons (lyoph)
R3 : 2 x 5 ml

TRIGLYCERIDES
Méthode colorimétrique enzymatique
(GPO- PAP)

PRINCIPE
Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes :

Lipoprotéine lipase
Triglycérides → Glycérol + Acides gras

Glycérokinase, Mg⁺⁺
Glycérol + ATP → Glycérol -3-P + ADP

Glycérol-3- Phosphate oxydase
Glycérol-3-Phosphate + O₂ → H₂O₂ + Dihydroxyacétone-P

Péroxydase
H₂O₂ + Amino-4-Antipyrine + chloro-4-phénol → Quinone rose + H₂O

REACTIFS

Réactif	Composition	Concentration
Réactif 1	Tampon pipes pH 7,2	50 mmol/l
	Solution tampon Chloro-4-phénol	2 mmol/l
Réactif 2	Lipoprotéine lipase	150000 U/l
	Glycérokinase	800 U/l
	Glycérol 3-P-Oxydase	4000 U/l
	Péroxydase	440 U/l
	Amino-4-antipyrine	0,7 mmol/l
	ATP	0,3 mmol/l
Réactif 3	Standard glycérol	200 mg/dl
	(en trioléine)	2 g/l
		2,28 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE
Dissoudre le lyophilisat R2 avec un flacon de tampon R1.
Stabilité du réactif de travail : 1 semaine à 20-25°C
4 semaines à 2-8°C.

ECHANTILLONS
Sérum, plasma recueilli sur héparine.

METHODE OPERATOIRE
Longueur d'onde : 505 nm (490-550)
Température : 37°C
Épaisseur : 1 cm d'épaisseur
Mettre le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	BLanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1ml

Mélanger et lire les DO après incubation de 5 min à 37°C ou de 10 min à 20-25°C. La coloration est stable 30 minutes.

CALCUL

Triglycérides = $\frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times n$

mg/dl : n = 200
g/l : n = 2
mmol/l : n = 2,28

LINEARITE
La méthode est linéaire jusqu'à 10 g/l (1000 mg/dl - 10 mmol/l). Si la concentration est plus importante, diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 0,9% et refaire le dosage. Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

	Femmes	Hommes
	40 - 140 mg/dl	60 - 165 mg/dl
	0,40 - 1,40 g/l	0,60 - 1,65 g/l
	0,46 - 1,60 mmol/l	0,68 - 1,88 mmol/l

NOTE
Les triglycérides sont stables dans le sérum à 2 - 8°C

BIBLIOGRAPHIE
Fossati P., Prencipe L., Clin. Chem. 28, 2077 (1982)
Young D., Pestaner L., Clin. Chem., 21,5 (1975)

2. Fiche technique de biosystèmes du glucose

CODE 11503 1 x 50 mL	CODE 11503 1 x 250 mL	CODE 11504 1 x 500 mL	CODE 11538 1 x 1 L
-------------------------	--------------------------	--------------------------	-----------------------

CONSERVER A 2-8°C

Réactifs pour mesurer la concentration du glucose
A utiliser uniquement in vitro dans les laboratoires cliniques

PRINCIPE DE LA METHODE

Le glucose présent dans l'échantillon donne, selon les réactions couplées décrites ci-dessous, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie.

$$\text{Glucose} + \frac{1}{2} \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{glucose oxydase}} \text{Gluconate} + \text{H}_2\text{O}_2$$

$$2 \text{H}_2\text{O}_2 + 4 - \text{Aminocaprylate} + \text{Phenol} \xrightarrow{\text{peroxydase}} \text{Quinoneimine} + 4 \text{H}_2\text{O}$$

CONTENU

	CODE 11503	CODE 11503	CODE 11504	CODE 11538
A Réactif	1 x 50 mL	1 x 250 mL	1 x 500 mL	1 x 1 L
S Etlon	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL

COMPOSITION

A. Réactif: Phosphate 100 mmol/L, phenol 5 mmol/L, glucose oxydase > 10 U/mL, peroxydase > 1 U/mL, 4-aminocaprylate 0.4 mmol/L, pH 7.5

S. Etlon de : Glucose/Unas/Creanine: Glucose 100 mg/dL (5.55 mmol/L), unas 50 mg/dL, créatine 2 mg/dL. Etlon primaire en solution aqueuse.

CONSERVATION

Les réactifs et l'étlon doivent être conservés à 2-8°C. Bien refermer les flacons et éviter toute contamination lors de l'utilisation. Dans ces conditions ils resteront stables jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.

Indicateurs de dégradation:

- Réactif: Présence de particules, turbidité, absorbance du blanc supérieure à 0.150 à 500 nm (cuvette de 1 cm).
- Etlon: Présence de particules, turbidité.

MISES EN GARDE ET AVERTISSEMENTS

Prenez les précautions habituelles nécessaires pour manipuler tous les réactifs de laboratoire. Les fiches de sécurité sont disponibles pour l'utilisateur sur demande. L'élimination de tous les résidus doit être conforme aux guides locaux.

PREPARATION DES REACTIFS

Réactif (A) et Etlon (S) sont prêts à l'emploi.

EQUIPEMENT SUPPLEMENTAIRE

- Bain thermostaté à 37°C
- Analyseur, Spectrophotomètre ou photomètre pour lectures à 500 ± 20 nm

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma collectés par procédures normalisées. Le sérum ou le plasma doit être séparé rapidement des globules rouges pour éviter la glycolyse. Il est recommandé de prélever sur fluore de sodium.

Le glucose sérique ou plasmatique est stable 5 jours à 2-8°C. L'héparine, l'EDTA, l'oxalate et le fluorure peuvent être utilisés comme anticoagulants.

Liquide céphalo-rachidien prélevé par des procédures standard. Le liquide céphalo-rachidien peut être contaminé par des bactéries ou d'autres cellules, c'est pourquoi le glucose doit être analysé immédiatement.

PROCEDURE

- Placer les réactifs à température ambiante.
- Pipeter dans des tubes à essais (Note 1)

	Blanc	Etlon	Echantillon
Etlon glucose (S)	---	10 µL	---
Echantillon Réactif (A)	---	---	10 µL
	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

- Bien agiter et incuber les tubes pendant 10 minutes à température ambiante (15-25°C) ou pendant 5 minutes à 37°C.
- Lire l'absorbance (A) de l'Etlon et de l'Echantillon face au Blanc à 500 nm. La couleur est stable au moins 2 heures.

CALCULS

La concentration en glucose de l'échantillon est calculée selon la formule suivante:

$$\frac{A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{étlon}}} \times C_{\text{étlon}} = C_{\text{échantillon}}$$

Si l'étlon glucose du kit est utilisé pour calibrer (Note 2):

$\frac{A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{étlon}}}$	$\times 100 = \text{mg/dL glucose}$
	$\times 5.55 = \text{mmol/L glucose}$

VALEURS DE REFERENCE

Sérum et plasma:

Enfant, Adulte	80-120 mg/dL = 3.30-5.30 mmol/L
----------------	---------------------------------

GLUCOSE

BioSystems

GLUCOSE
GLUCOSE OXYDASE/PEROXYDASE

Liquide céphalo-rachidien:

Adulte	40-70 mg/dL = 2.20-3.89 mmol/L
--------	--------------------------------

Ces valeurs ne sont données qu'à titre indicatif. Chaque laboratoire doit établir ses propres valeurs de référence.

D'après le National Diabetes Data Group (US): une élévation du glucose plasmatique à des taux supérieurs à 140 mg/dL (7.77 mmol/L) permettrait le diagnostic de diabète mélicus.

CONTRÔLE DE QUALITE

Il est recommandé d'utiliser les Sérums Contrôlés de Biochimie niveau I (Code 18005, 18009 ou 18042) et II (Code 18007, 18010 ou 18043) pour vérifier la qualité de la méthodologie.

Chaque laboratoire doit établir ses propres protocoles et méthodes de Contrôle de Qualité interne afin d'apporter les modifications nécessaires en cas de dépassement des tolérances.

CARACTERISTIQUES METROLOGIQUES

- Limite de détection: 0.23 mg/dL = 0.0125 mmol/L
- Limite de linéarité: 500 mg/dL = 27.5 mmol/L. Pour des valeurs supérieures diluer l'échantillon au 1/4 en eau distillée et répéter l'essai.
- Répétabilité (intra-assaill):

Concentration moyenne	CV	n
80 mg/dL = 4.44 mmol/L	1.2 %	20
320 mg/dL = 17.78 mmol/L	0.9 %	20

- Reproductibilité (inter-assaill):

Concentration moyenne	CV	n
80 mg/dL = 4.44 mmol/L	2.7 %	25
320 mg/dL = 17.78 mmol/L	1.9 %	25

- Sensibilité: 4 mV dL/mg = 0.22 mV/Lmmol
- Justesse: Les résultats obtenus avec ce réactif n'ont pas montré de différences systématiques significatives par rapport aux réactifs de référence (Note 2). Les détails des études comparatives sont disponibles sur demande.
- Interférences: L'hémolyse (hémoglobine jusqu'à 300 mg/dL), la bilirubine (jusqu'à 10 mg/dL) et la lipémie (triglycérides jusqu'à 125 mg/dL) n'interfèrent pas. L'acide ascorbique (jusqu'à 25 mg/dL), l'acétone, les médicaments, et substances peuvent provoquer des interférences.

Ces données ont été obtenues en utilisant un analyseur. Les résultats peuvent varier d'un instrument à l'autre ou en utilisant une technique manuelle.

CARACTERISTIQUES DIAGNOSTIQUES

Le glucose est la principale source d'énergie de l'organisme. L'insuline produite par les cellules des îlots de Langerhans facilite l'entrée du glucose dans les tissus cellulaires. Une déficience de l'insuline ou une diminution de son activité entraîne une augmentation du glucose sanguin. On rencontre des concentrations élevées du glucose sanguin chez des patients atteints de diabète mélicus (insuline-dépendant ou non) et dans d'autres syndromes.^{1,2} L'hypoglycémie peut apparaître suite à un jeûne ou peut être due à certains médicaments, poisons, des erreurs congénitales du métabolisme ou des gastrectomies antérieures.^{3,4} Le diagnostic clinique ne doit pas être basé sur les conclusions d'un test unique mais il doit intégrer l'ensemble des données cliniques et de laboratoire.

NOTES

- Ces réactifs peuvent être utilisés dans la plupart des analyseurs automatisés. Demandez les informations à votre distributeur.
- L'étalonnage avec l'étlon interne fourni, peut entraîner des biais sur certains analyseurs. Dans ce cas il est recommandé d'étalonner l'appareil avec un sérum étalon (Calibrateur Biochimique, Code 18011 ou 18044).

BIBLIOGRAPHIE

- Tinnder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Anal. Clin. Biochem.* 1962; 6: 24-27.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2012.
- National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979; 28: 1039-1057.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AAC Press, 2000.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AAC Press, 2001.

NI 1538-18

BioSystems S.A. Costa Brava, 30, 08030 Barcelona (Spain)

www.biosystems.es

Quality System certified according to EN ISO 13485 and EN ISO 9001 standards

02/2020

3. Fiche technique du kit Biomaghreb du cholestérol total

Biomaghreb**PRESENTATION**

Kit 20111 (200 Tests) Réf. 20112 (500 Tests) Réf. 20113 (100 Tests) Réf. 20114 (500 Tests)
 R1: 8 x 120 ml R1: 5 x 100 ml R1: 4 x 30 ml R1: 5 x 20 ml
 R2: 3 flacons (lyophil) R2: 6 flacons (lyophil) R2: 4 flacons (lyophil) R2: 6 flacons (lyophil)
 R3: 1 x 5 ml R3: 2 x 5 ml R3: 1 x 4 ml R3: 2 x 5 ml

PRINCIPE

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phénol et de peroxydase.

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :

Cholestérol estérase
 Esters de cholestérol + H₂O → Cholestérol + Acides gras

Cholestérol oxydase
 Cholestérol + O₂ → Cholestène-4-one + 3 + H₂O₂

Péroxydase
 H₂O₂ + Phénol + Amino-4-antipyrine → Quinoneimine rose

La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

REACTIFS

Réactif 1	Pipes pH 6.9	90 mmol/l
Solution tampon	Phend	26 mmol/l
Réactif 2	Cholesterol oxydase	300 U/l
	Peroxydase	1250 U/l
	Cholesterol esterase	300 U/l
	Amino-4-antipyrine	0.4 mmol/l
Réactif 3		200 mg/dl
Standard		2 g/l
		5.17 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Dissoudre le contenu d'un flacon de R2 avec un flacon de tampon R1.

Le réactif de travail est stable : 1 mois à 20 - 25°C
 4 mois à 2 - 8°C

ECHANTILLONS

Sérum

Plasma recueilli sur héparine

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde :505 nm (500 - 550)

Température :37°C

Cuve :1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

CHOLESTEROL

Test enzymatic colorimétrique
 (CHOD- PAP)

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, lire les densités optiques après une incubation de 5 min. à 37° C.
 La coloration est stable 30 minutes.

CALCUL

Cholesterol = $\frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times n$

mg/dl : n = 200

g/l : n = 2

mmol/l : n = 5,17

LINEARITE

La méthode est linéaire jusqu'à 6 g/l (600 mg/dl - 15.4 mmol/l).
 Si la concentration en cholestérol est supérieure à 6 g/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et refaire le test. Multiplier le résultat par 2.

VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	3,6 à 5,7 mmol/l
	1,4 à 2,2 g/l
	140 à 220 mg/dl

BIBLIOGRAPHIE

Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6, 24 (1969)
 Richmond, Clin. Chem. 19, 1350 (1973)
 Fasce C.F., Clin. Chem. 18901 (1982)

4. Fiche technique du kit Biomaghreb du cholestérol HDL.

PRESENTATION	
Réf. 20113, Kit pour 500 Tests, 5 x 5 ml	
Réf. 200112, Kit pour 100 Tests, 1 x 5 ml	
Réf. 200113, Kit pour 2000 Tests, 10 x 10 ml	
Kit complémentaire	
Réf : 20111	
Réf : 20112	
Réf : 20115	

PRINCIPE

Les chylomicros et les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de faible densité (LDL) contenus dans l'échantillon sont précipités par addition d'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium. Le surnageant obtenu après centrifugation contient les lipoprotéines de haute densité (HDL) dont le cholestérol est dosé par le réactif cholestérol enzymatique (Ref : 20111 ou 20112).

REACTIFS

Réactif	Acide phosphotungstique	13,9 mmol/l
précipitant	MgCl ₂ 6H ₂ O	490mmol/l
	pH 6,2	

STABILITE

Conservation à 2-8°C

La date limite d'utilisation est indiquée sur chaque conditionnement.

Si le réactif est trouble ou coloré, il doit être rejeté.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma recueilli sur EDTA.

MODE OPERATOIRE**Précipitation**

Diluer, dans une solution de NaCl 9 g/l, les sérums dont le taux est supérieur à 3,5 mmol/l de triglycérides.

Sérum.....500 µl

Réactif précipitant50 µl

Bien mélanger, attendre 10 min.

Centrifuger 15 min à 5000 t/min

Dosage du cholestérol HDL

Reconstituer le réactif «cholestérol enzymatique» selon la notice jointe au coffret. Réf. 20111 ou 20112.

Longueur d'onde.....500 nm (492 à 550 nm)

Température.....37°C

Cuve.....1 cm d'épaisseur

Zéro de l'appareilBlanc réactif

CHOLESTEROL HDL

	Blanc réactif	Etalon	Dosage
Eau distillée	10µl	-	-
Etalon	-	10 µl	-
Cholestérol 2g/l	-	-	10 µl
Surnageant	-	-	1 ml
Réactif Cholestérol enzymatique	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, incuber 5 min à 37°C photométrer.

Stabilité de la coloration.....30 min

Calcul

$$[\text{HDL-Cholestérol}] = \frac{\text{DO dosage}}{\text{DO Etalon}} \times n$$

n = 5,17 mmol/l

n = 2 g/l

Multiplier le résultat obtenu par 1. 1 pour tenir compte de la dilution effectuée lors de la précipitation : on obtient la concentration du cholestérol lié aux HDL.

N.B : Une fois le flacon du réactif HDL est entamé il ya possibilité de formation des cristaux brillants au fond du flacon qui n'ont pas d'influence sur la qualité du produit

Interprétation (réf 2,3)

La Société Européenne d'Alhérosclérose a établi la relation entre l'incidence des maladies coronariennes et la cholestérolémie.

Cholestérolémie	Evaluation du risque	
< 2g/l < 5,2 mmol/l	Risque faible	
2,0 à 2,5 g/l 5,2 à 6,5 mmol/l	Risque modéré si	HDL cholestérol < 0,35 g/l < 0,9 mmol/l
> 2,5 g/l > 6,5 mmol/l	Risque élevé, en particulier si :	

BIBLIOGRAPHIE

1. BURSTEIN M. et al. Lipid Res.11. 583.(1970)
2. Study Group, European Atherosclerosis Society, European Heart Journal., 9, 571 (1988)
- 3- ARCOL, ISB, 1989, 15, 121 -124.

5. Fiche technique du kit Biomaghreb des TGO-ASAT.

Biomaghreb

PRESENTATION

Réf. 20042, (60 Tests)	Réf. 20043, (100 Tests)	Réf. 20050, (450 tests)	Réf. 200492, (220 tests)
R1: 1 x 65 ml	R1: 1 x 110 ml	R1: 9 x 50 ml	R1: 2 x 110 ml
R2: 20 x 3 ml (lyoph)	R2: 10 x 10 ml (lyoph)	R2: 9 x 50 ml (lyoph)	R2: 2 x 110 ml (lyoph)

GOT-ASAT
Méthode cinétique IFCC
sans phosphate de pyridoxa

PRINCIPE
Détermination cinétique de l'activité aspartate aminotransférase.
La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:

$$2 \text{ oxoglutarate} + \text{L-Aspartate} \xrightarrow{\text{GOT}} \text{Glutamate} + \text{oxaloacetate}$$

$$\text{Oxaloacetate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malate} + \text{NAD}^+$$

Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate amino transferase dans l'échantillon.
GOT: Transaminase glutamique oxaloacétique
MDH: Malate Dehydrogenase

REACTIFS

Réactif 1	Tampon Tris PH 7.8 à 30°C	80 mmol/l
Solution Tampon	L- aspartate	200 mmol/l
Réactif 2	NADH	0.18 mmol/l
Substrat	LDH	800 U/l
	MDH	600 U/l
	Oxoglutarate	12 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE
Reprendre le substrat R2 par 3 ml Réf (20042) ou 10 ml Réf (20043) de Tampon R1. Pour les Réf (20050) et (200492) reconstituer chaque R2 par un flacon R1. cette solution de travail est stable : 7 jours à 2-8°C.
: 24 heures à 20-25°C.

ECHANTILLON
Sérum ou plasma hépariné sans hémolyse.

MODE OPERATOIRE
Longueur d'onde.....340 nm
Température.....25-30-37°C
Cuve.....1 cm d'épaisseur
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

Solution de travail	1 ml	3 ml
Préincuber à la température choisie (25, 30 ou 37°C)		
Echantillon	100 µl	300 µl
Mélanger et incubé 1 minute. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.		

CALCUL
à 340 nm $\Delta DO/\text{min} \times 1750 = U/l$

LINEARITE
Si la $\Delta DO/\text{min}$ à 340 nm est supérieure à 0. test en diluant l'échantillon au 1/10 avec un NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C
Femmes	jusqu'à 16 U/l	Jusqu'à 22 U/l
Hommes	jusqu'à 19 U/l	Jusqu'à 26 U/l

REMARQUE
L'hémolyse peut interférer.

BIBLIOGRAPHIE
Bergmeyer H; Bower and Cois. Clin. Chim. (1976)
Bergmeyer H et Wahiegeld Clin. Chem 2: minutes.

FT F

6. Fiche technique du kit Biomaghreb des TGP-ALAT.

PRESENTATION

Réf. 20046, (50 Tests) Réf. 20047, (100 Tests) Réf. 20040, (450 Tests) Réf. 200462, (230 Tests)
 R1: 1 x 85 ml R1: 1 x 110 ml R1: 9 x 50 ml R1: 2 x 110 ml
 R2: 20 x 3 ml (lyophil) R2: 10 x 10 ml (lyophil) R2: 9 x 50 ml (lyophil) R2: 2 x 110 ml (lyophil)

PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité Alanine amino transférase

La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:

2-oxoglutarate + L-Alanine $\xrightarrow{\text{GPT}}$ Glutamate + Pyruvate

Pyruvate + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ Lactate + NAD⁺

Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon.

GPT: Transaminase Glutamique pyruvique

LDH: Lactate Dehydrogenase

REACTIFS

Réactif 1	Tampon Tris PH 7.5 à 30°C	100 mmol/l
Solution Tampon	Alanine	500 mmol/l
Réactif 2	NADH	0.18 mmol/l
Substrat	LDH	1200 U/l
	Oxoglutarate	15 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Reprendre le substrat R2 par 3 ml Réf (20046) ou 10 ml Réf (20047) de Tampon R1. Pour les Réf (20040) et (200462) reconstituer chaque R2 par 1 flacon R1.

Cette solution de travail est stable 7 jours à 2-8°C.

24 heures à 20-25°C.

ECHANTILLON

Sérum ou plasma hépariné sans hémolyse.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde.....340 nm

Température 25-30-37°C

Cuve 1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

GPT-ALAT

Méthode cinétique (IFCC)
sans phosphate de pyridoxal

solution de travail	1 ml	3 ml
Préincuber à la température choisie (25,30 ou 37 °C)		
Echantillon	100 µl	300 µl
Mélanger et incuber 1 minute. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.		

CALCUL

à 340 nm $\Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750 = \text{U/l}$

LINEARITE

Si la $\Delta\text{DO}/\text{min}$ à 340 nm est supérieure à 0,15 répéter le test en diluant l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 10.

VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Femmes	Jusqu'à 16 U/l	Jusqu'à 22 U/l	Jusqu'à 31 U/l
Hommes	Jusqu'à 22 U/l	Jusqu'à 29 U/l	Jusqu'à 40 U/l

REMARQUE

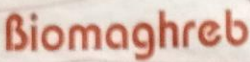
L'hémolyse peut interférer.

BIBLIOGRAPHIE

Bergmeyer H. Schaibe and Walefeld. Clin. Chem. 24 58 - 73 (1978).

Bergmeyer and Horder Clin. Chem. Acta 105 147 F (1980).

7. Fiche technique du kit Biomaghreb de l'urée





PRESENTATION

Réf 20143, (200 tests)	Réf. 20147, (450 Tests)
R1 : 4 x 50 ml	R1 : 9 x 50 ml
R2 : 4 flacons (lyoph)	R2 : 9 flacons (lyoph)
R3 : 1 x 4 ml	R3 : 2 x 5 ml

PRINCIPE

L'urée est dosée en cinétique selon les réactions suivantes:

$$\text{Urée} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Uréase}} 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$$

$$2\text{NH}_4^+ + \text{Oxo-2-glutarate} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Glutamate} + \text{NAD}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$$

GLDH: Glutamate deshydrogénase

REACTIFS

Réactif 1 Tampon	Tampon Tris pH 8,0	80 mmol/l
Réactif 2 Enzymes	Uréase GLDH NADH oxo-2 glutarate	> 10 000 U/L 16 000 U/L 0,30 mmol/l 15 mmol/l
Réactif 3 Standard	Standard urée	50 mg/dl 8,325 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Dissoudre un flacon de R2 dans un flacon de R1.
Le réactif de travail est stable: 5 jours à 20-25°C
3 semaines à 2-8°C

ECHANTILLONS

Sérum, plasma recueillis sur héparine
Urine diluée au 1/100 avec de l'eau distillée.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde : 340 nm
Température : 25-30-37°C
Cuve : 1 cm d'épaisseur
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

	Etalon	Dosage
Solution de travail	1 ml	1 ml
Préincuber à la température choisie (25, 30 ou 37°C)		
Réactif 3 (Etalon)	10 µl	
Echantillon		10 µl

Mélanger, mesurer la diminution de DO entre :
t = 20 secondes et t = 80 secondes.

UREE UV

Méthode cinétique

CALCUL

$$\text{Urée} = \frac{\Delta, \text{D.O. Echantillon}}{\Delta, \text{D.O. Standard}} \times n$$

mg/dl : n = 50
g/l : n = 0,50
mmol/l : n = 8,325

LINEARITE

La méthode est linéaire jusqu'à 2 g/l (200 mg/dl-33.3 mmol/l).

VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	15 - 40 mg/dl 0,15 - 0,40 g/l 2,49 - 6,66 mmol/l
Urine	20-35 g/24h

NOTES

Ne pas utiliser d'anticoagulant contenant de fluorures ou ammonium.

BIBLIOGRAPHIE

Chaney, A. Clin. 8, 130 (1962)
Fawcett J.K., J. Clin. Path. 13, 15 (1960)

FT Fr 01

10. Fiche technique des protéines totale du kit Biolabo

DIAGNO-Chol

Pour la détermination in vitro du cholestérol dans le sérum ou le plasma.

PRINCIPE DE LA METHODE
Le cholestérol présent dans le sérum ou le plasma, à travers les chaînes de réaction indiquées, forme un complexe coloré qui peut être quantifié spectrophotométriquement.

Esters de cholestérol + H₂O $\xrightarrow{\text{Lipolase}}$ Cholestérol + acides gras
Cholestérol + H₂O $\xrightarrow{\text{Cholestérase}}$ Cholestérol + H₂O
H₂O₂ + 4-amino-antipyrine + 3,5-dichlorophénol $\xrightarrow{\text{POD}}$ Dérivé coloré + 4 H₂O

INTERET CLINIQUE
Le taux de cholestérol dans le sérum ou le plasma peut être d'origine exogène ingéré avec l'alimentation, ou endogène synthétisé principalement dans le foie. Il est transporté par les lipoprotéines et est excrété dans la bile.
L'étude du cholestérol sérique permet la détection et la caractérisation de différentes hyperlipoprotéinémies et l'évaluation des risques de maladie cardiovasculaire.
Les niveaux de cholestérol sont bas en cas d'hyperlipoprotéinémie.
Un test de laboratoire unique ne permet pas d'établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et de laboratoire obtenues.

COMPOSITION DU KIT

KIT 1 x 100 ml (REF: B11015011)	A. 1 x 100 ml Réactif (Ref: B11015010)
	B. 1 x 5 ml Etalon (Ref: B10000510)
KIT 2 x 100 ml (REF: B11025011)	A. 2 x 100 ml Réactif (Ref: B11015010)
	B. 1 x 5 ml Etalon (Ref: B10000510)
KIT 2 x 250 ml (REF: B11025012)	A. 2 x 250 ml Réactif (Ref: B11025010)
	B. 1 x 5 ml Etalon (Ref: B10000510)

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

Tampon pH 6,5	75 mM
Phénol	6 mM
2,4-Dichlorophénol	0,2 mM
4-Amino-antipyrine	0,5 mM
Cholestérol estérase	1 500 KU/l
Cholestérol oxydase	≥ 300 KU/l
Peroxydase	≥ 1200 KU/l

Stabilisants non réactifs
Etalon: Dissolution de cholestérol dans de l'isopropanol équivalent à 200 mg/dl (5,18 mmol/l)

ECHANTILLON
Sérum ou plasma
L'échantillon est stable pendant une semaine entre 2 et 8 °C et jusqu'à 3 mois à -20 °C.

PREPARATION DU REACTIF DE TRAVAIL
Le réactif et l'étalon sont prêts à l'emploi.

MODE OPERATION

	EL (ml)	ESSA (ml)	ETALON (ml)
ECHANTILLON	1	0,01	1
ETALON	1	1	0,01
REACTIF DE TRAVAIL	1,00	1,00	1,00

Bien mélanger puis incuber soit 5 minutes à 37°C soit 10 minutes à température ambiante (20-25°C).

LECTURE
Longueur d'onde: 546 nm, 505 nm.
Blanc: le contenu du flacon BL.
Stabilité de la coloration: 1 heure minimum, à l'abri de la lumière solaire directe.

CALCULS
Abs. EL x 200 = mg de Cholestérol/dl
Abs. ETALON x 200 = mg de Cholestérol/dl

OU:
Abs. ESSA: Absorbance de l'essai
Abs. ETALON: Absorbance de l'étalon

Unités SI (mg/dl) x 0,0259 = mmol/l

VALEURS DE REFERENCE
Interprétation clinique Selon les recommandations de la Société européenne d'athérosclérose.

	Valeur	Troubles lipidiques
Cholestérol	< 200 mg/dl	NON
Triglycérides	< 200 mg/dl	NON
Cholestérol	200 à 300 mg/dl	OUI
Cholestérol-HDL	< 35 mg/dl	OUI
Cholestérol	> 300 mg/dl	OUI
Triglycérides	> 200 mg/dl	OUI

PERFORMANCE ET CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT
Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé.
Les résultats suivants ont été obtenus avec une technique manuelle:
Sensibilité, comme limite de détection: 2 mg/dl.
Linéarité: L'essai est linéaire jusqu'à 700 mg/dl. Pour des concentrations plus élevées, diluer l'échantillon 1/2 avec une solution saline (NaCl 0,9%). Multiplier le résultat par 2.
Coefficient de variation dans la série: 0,87 %.
Coefficient de variation entre les séries: 1,44 %.

INTERFERENCES
Aucune interférence n'a été observée avec la bilirubine jusqu'à 15 mg/dl, ni avec l'hémoglobine jusqu'à 200 mg/dl.
Ne pas injecter directement dans la bouteille de réactif afin d'éviter des contaminations indésirables.

PRECAUTIONS PARTICULIERES
Le réactif contient phénol.
Manipuler avec précaution.
Les indications de sécurité sont mentionnées sur l'étiquette du produit.
L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

CONSERVATION ET STABILITE
Conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
À conserver à l'abri de la lumière.
Les réactifs seront altérés si: il existe une présence de particules.
Blanc du Réactif de travail > 0,500.

PICTOGRAMME

À l'abri du soleil

Conservé entre 2°C-8°C

11. Fiche technique de créatinine du kit Biolabo



BIOLABO
www.biolabo.fr
FABRICANT :
BIOLABO S.A.S
Les Hautes Rives
02160, Malzy, France

CREATININE Méthode cinétique

Réactif pour le dosage quantitatif de la créatinine dans le sérum et le plasma humains ou les urines.

REF 80107 R1 1 x 125 mL R2 1 x 125 mL R3 1 x 10 mL

IVD

Made in France

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES
Tel : (33) 03 23 26 16 60
support@biolabo.fr
Dernière révision : www.biolabo.fr

USAGE PREVU

Ce réactif est réservé pour un usage professionnel en laboratoire (méthode manuelle ou automatisée). Il permet de mesurer la quantité de créatinine présente dans le sérum et le plasma humains ou les urines pour évaluer son taux.

GENERALITES (1)

L'interconversion de la phosphocréatine et de la créatine est un trait particulier du métabolisme de la contraction musculaire. La phosphocréatine et la créatine sont partiellement dégradés en créatinine. Ainsi, la quantité de créatinine produite chaque jour est fonction de la masse musculaire (et du poids du corps), de l'âge, du sexe, de l'alimentation ou de l'exercice, et varie peu d'un jour à l'autre.

PRINCIPE (4) (5)

Réaction colorimétrique (réaction de Jaffé, sans étape de pré-traitement du spécimen) de la créatinine avec l'acide picrique en milieu alcalin dont la cinétique de développement est mesurée à 490 nm (490-510). Cette méthode a été optimisée (spécificité, rapidité et adaptabilité) par le développement d'une méthode cinétique 2 points.

REACTIFS

R1 CREATININE	Réactif 1
Phosphate disodique	6,4 mmol/L
Hydroxyde de sodium	150 mmol/L

Attention
Met Corr.1 : H290 - Peut être corrosif pour les métaux
Skin Irrit.2 : H315 - Provoque une irritation cutanée
Eye Irrit.2 : H319 - Provoque une sévère irritation des yeux
Substance à l'origine de la classification : Sodium Hydroxyde 1- < 2.5%.
P264 : Se laver les mains soigneusement après manipulation,
P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage, P302+P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon, P305+P351+P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer,
P337+P313 : Si l'irritation oculaire persiste : Consulter un médecin,
P390 : Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle attaque les matériaux environnants. Pour plus de détails, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

R2 CREATININE	Réactif 2
Dodécylsulfate de sodium	0,75 mmol/L
Acide picrique	4,0 mmol/L

pH 4,0
Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE
Le Réactif de travail (R1+R2) est classé comme R1

R3 CREATININE Standard

Se référer aux valeurs spécifiques du lot (urines et sérum) indiquées sur l'étiquette et sur le certificat d'analyse.
EUH210 : Fiche de données de Sécurité (FDS) disponible sur demande
Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE

PRECAUTIONS

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'état membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

PREPARATION DES REACTIFS

Mélanger 1 volume de R1 et 1 volume de R2

STABILITE ET CONSERVATION

Stokés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 18-25°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :
• Jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après ouverture :
• Transférer la quantité nécessaire, reboucher et stocker à 18-25°C.
• Les réactifs séparés sont stables au moins 1 an.

Après reconstitution :
• Le réactif de travail (R1+R2) est stable 30 jours à 2-8°C
• Rejeter tout réactif trouble ou si l'absorbance est > 0,300 à 490 nm.
• Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)

Sérum ou plasma hépariné.
Urines : Collecter durant précisément (4, 12 ou 24 h).
Diluer 1+19 dans l'eau déminéralisée avant dosage.

La créatinine est stable 24 h à 2-8°C.

LIMITES (1) (2) (3) (5)

L'intervalle de lecture à une incidence sur l'importance des interférences, certaines intervenant rapidement (acétoacétate) d'autres lentement (protéines). La majorité des techniques préconise un intervalle de lecture entre 30 et 150 secondes
Certains antibiotiques interfèrent également avec la détermination de la créatinine selon la méthode de Jaffé.
Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Spectrophotomètre ou Automate de biochimie


Fabricant


Date de péremption


In vitro diagnostic


Température de conservation


Eau déminéralisée


Risque biologique


Référence Produit


Consulter la notice


Numéro de lot


Stocker à l'abri de la lumière


Suffisant pour


Diluer avec

CRE_220F_JFU_80107_V04_20240730

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

Sérum ou plasma	[$\mu\text{mol} / \text{L}$]	mg / L
Homme	[80-115]	9 à 13
Femme	[53-97]	6 à 11

Urines	[$\mu\text{mol} / \text{kg} / 24 \text{ h}$]	mg / kg / 24 h
Homme	[124-230]	14 à 26
Femme	[97-177]	11 à 20

DFG (débit de filtration glomérulaire)	en mL par minute
Adulte < 40 ans	120 (100 – 140)
Adulte > 40 ans	Diminution physiologique de 1% par an environ.

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

I PERFORMANCES

Sur Kenza 240TX, 37°C, 505 nm avec sérum :

(Réactif de travail, calibration 2 points)

Limite de détection : 0,9 mg/L

Limite de quantification : 4,0 mg/L

Domaine de mesure : entre 4,0 et 150 mg/L

Précision :

Intra-série N = 20	Taux 1	Taux 2	Taux 3	Inter-série N = 20	Taux 1	Taux 2	Taux 3
Moy (mg/L)	7,6	18,4	67,5	Moy (mg/L)	7,0	17,3	65,9
S.D. mg/L	0,2	0,5	1,2	S.D. mg/L	0,4	0,5	1,6
C.V. %	2,8	2,7	1,8	C.V. %	5,7	3,1	2,4

Etude comparative avec réactif du commerce:

Réalisée sur spécimens humains (n=123) entre 4,1 and 136 mg/L

$y = 1,1925x - 1,13$

$r = 0,9879$

Interférences :

Turbidité	Interférence négative à partir de 0,247 abs
Acide ascorbique	Pas d'interférence jusqu'à 25 g/L
Bilirubine totale	Interférence négative à partir de 200 $\mu\text{mol/L}$
Bilirubine directe	Interférence négative à partir de 29 $\mu\text{mol/L}$
Hémoglobine	Interférence négative à partir de 71 $\mu\text{mol/L}$
Glucose	Pas d'interférence jusqu'à 9,7 g/L

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Limites)

Stabilité à bords : le réactif de travail est stable 7 jours

Stabilité de la calibration : 4 jours

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opération de maintenance.

REFERENCES

- (1) Tietz N.W. Textbook of clinical chemistry, 3^e Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1990) p. 1241-1245.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4^e Ed., N.W. Tietz (2006) p. 316-321.
- (3) Young D.S., Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 4^e Ed. (1995) p.3-190 à 3-211
- (4) Fabiny D. L., et Bringshausen G., Clin. Chem. (1971), 17, p.696-700
- (5) D. Labbé et al., Ann. Biol. Clin. (1996), 54, p. 285 – 298
- (6) SRM : Standard Reference Material ®

CALIBRATION (6)

• REF 95015 Multicalibrator traçable sur SRM967 pour la détermination dans le sérum/plasma

• REF 80107 Standard (flacon R3) pour la détermination dans :

- Les urines : traçable sur SRM914

- Le sérum/plasma : traçable sur SRM967

Selon les recommandations ANSM : 1 point zéro, 1 intermédiaire et 1 élevé ont été utilisés pour déterminer ces valeurs.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

CONTRÔLE DE QUALITE

• REF 95010 EXATROL-N Taux 1

• REF 95011 EXATROL-P Taux 2

• REF 95012 Contrôles urinaux (à diluer comme le spécimen avant utilisation)

• L'ANSM recommande un contrôle bas, moyen et élevé

• Programme externe de contrôle de la qualité

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

• Au moins un contrôle par série

• Au moins un contrôle par 24 heures

• Changement de flacon de réactif

• Après opérations de maintenance sur l'analyseur

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Préparer un sérum de contrôle frais et répéter le test.

2. Si la valeur obtenue reste hors des limites, utiliser un calibrant frais.

3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, répéter le test en utilisant un autre flacon de réactif.

Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local

MODE OPERATOIRE

Méthode manuelle

Porter les réactifs et spécimens à température ambiante.

Réactif de travail (R1+R2)	1000 μL
Spécimen (S)	100 μL

Bien mélanger.
Réaliser le test clinique à 37°C (s'assurer d'avoir une température constante).
Après 30 sec., lire l'absorbance A1 et exactement 120 sec. après lire l'absorbance A2 à 490 nm (490-510) contre de l'eau déminéralisée.
Procéder tube par tube en utilisant comme spécimen de l'eau (Blanc), le calibrant, les contrôles et enfin les patients.

1. Les performances sont validées avec sérum sur KENZA 240TX avec réactif de travail dans les conditions de la méthode manuelle.

2. L'utilisation sur d'autres analyseurs doit être validée par l'utilisateur.

3. Les applications validées sur analyseurs automatiques KENZA et des propositions d'applications pour d'autres analyseurs sont disponibles sur demande.

4. Au-delà de la limite de linéarité, diluer le spécimen (1+4) avec NaCl 9 g/L. Refaire le dosage et multiplier le résultat par le facteur de dilution 5.

5. Spécimen : eau déminéralisée (blanc) sérum, plasma, ou urines prédiuées (1+19) dans l'eau déminéralisée avant la mesure.

CALCUL (1)

Sérum ou plasma

$$\text{Concentration} = \frac{(A2 - A1) \text{ Essai} - (A2-A1) \text{ Blanc}}{(A2 - A1) \text{ Calibrant} - (A2-A1) \text{ Blanc}} \times \text{Concentration du calibrant}$$

Urines diluées 1+19 :

Multiplier le résultat par le facteur de dilution 20.

DFG (par calcul de la clairance de la créatinine):

Dosage de la créatinine dans les urines de 24 h et le sérum.	
Clairance corrigée de la créatinine (mL/min) =	$\frac{UCr \times V \times 1,73}{SC \times SC}$
UCr =	Créatinine urinaire en mg/L ou $\mu\text{mol/L}$
SCr =	Créatinine sérique en mg/L ou $\mu\text{mol/L}$
V =	Débit urinaire par minute (Volume des urines de 24 h/1440)
SC =	Surface corporelle en m^2

OU

Dosage de la créatinine sérique uniquement (formule de Cockcroft et Gault)

$$\text{Clairance de la créatinine} = \frac{140 - \text{âge (années)} \times 2,12 \times \text{poids en Kg} \times K}{\text{Créatinine sérique } (\mu\text{mol/L}) \times SC (\text{m}^2)}$$

K = 1,00 pour les hommes ou K = 0,85 pour les femmes

Publication

UDK 582.795.13:547.915:616.831

Original research paper

DOI: 10.5937/ffr0-56751

PREVENTIVE EFFECT OF *NIGELLA SATIVA* L. AGAINST CEREBRAL OXIDATIVE ALTERATIONS INDUCED BY A HIGH-FAT, IRON-ENRICHED DIET IN MICE

Halima Benabdallah^{*1,2}, Rachida Benaraba^{1,2}, Mostefa Belarbi³, Hemida Houari⁴

¹University of Tiaret, Laboratory of Research on Local Animal Products, 14000 Tiaret, PO Box 78 Zaaroura, Algeria

²University of Tiaret, Faculty of Natural and Life Science, 14000 Tiaret, PO Box 78 Zaaroura, Algeria

³University of Tiaret, Laboratory of Mathematics and Computer Science, 14000 Tiaret, PO Box 78 Zaaroura, Algeria

⁴University of Tiaret, Institute of Veterinary Sciences, 14000 Tiaret, PO Box 78 Zaaroura, Algeria

Abstract: Recent research underscores the pivotal role of oxidative stress in cerebral alterations, prompting investigations into strategies such as the utilization of natural substances derived from medicinal plants, including *Nigella sativa* L. (NS) for their therapeutic potential. NS is known for its bioactive compounds that play a significant role in disease prevention and treatment. This study employed Fourier Transform Infrared Spectroscopic (FT-IR) analysis to identify functional groups and compounds in NS seed and to examine its preventive effects on cerebral oxidative changes induced by a high-fat diet (HFD) supplemented with iron in NMRI mice. The focus was on lipid oxidation, Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), thiol groups, catalase activity, and Reduced Glutathione (GSH) levels. Mice were randomly assigned to four experimental groups (six mice per group): control (ST), control + NS seed powder (ST+NSP), high-fat diet with FeCl₃ (HFD/Fe³⁺), and HFD/Fe³⁺ + NSP. Following an 11-week experimental period, lipid oxidation, FRAP, thiol groups, and CAT activity were measured in plasma and brain, while GSH levels were assessed exclusively in the brain. NS significantly reduced lipid peroxidation in HFD/Fe³⁺ mice and restored FRAP, thiol groups, CAT activity, and GSH levels, which were markedly reduced in HFD/Fe³⁺ mice compared to the ST group. The HFD/Fe³⁺ regimen increased lipid peroxidation products relative to the ST group. These findings suggest that NSP supplementation mitigates cerebral oxidative stress and enhances antioxidant enzyme activity.

Key words: black cumin, lipid oxidation, oxidative stress, hyperlipidic diet, FeCl₃, brain alterations

INTRODUCTION

The emergence of oxidative stress as a metabolic disorder is attributed to changes in lifestyle, social and economic conditions, and increased exposure to environmental pollutants and toxins. This chronic, multifactorial, and complex phenomenon involves both genetic

and environmental influences. Oxidative stress is associated with numerous health conditions, including diabetes, hypertension, cardiovascular diseases, kidney disease, cancer, and neurodegenerative disorders (Mamun et al., 2019). It is characterized by an overproduction

Corresponding author: Phone: +213782030641
E-mail address: halima.benabdallah@univ-tiaret.dz

of reactive oxygen species (ROS), which are toxic due to their potential to damage vital cellular components such as lipids, proteins, and DNA, ultimately leading to cell death (Bonnefont-Rousselot, 2014). Neurons are particularly susceptible to oxidative stress because of their high oxidative metabolism, rich lipid content, and dependence on astrocytes for antioxidant support (Ré, Nafia, Nieoullon, Le Goff & Had-Aissouni, 2005; Chen, Guo & Kong, 2012). Oxidative stress can lead to neuronal death in degenerative diseases -both acute (ischemia, trauma) and chronic (including amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and Huntington's disease) (Ré et al., 2005).

The brain's high oxidative metabolism results in substantial ROS production (Juurlink & Patterson, 1998). Additionally, the brain contains large amounts of iron, which can catalyse ROS production (Ré et al., 2005). The brain is also abundant in polyunsaturated fatty acids, making it susceptible to lipid peroxidation. Furthermore, antioxidant enzyme activity in the brain is significantly lower than in the liver or kidneys (Ré et al., 2005). In the brain, GSH is the primary defence against ROS. However, GSH synthesis in neurons is heavily reliant on metabolic exchanges with astrocytes, and any disruption in the supply of GSH precursors from glial cells could compromise the neurons' antioxidant defences. Moreover, as neurons are post-mitotic cells, they are generally irreplaceable if they suffer irreversible damage (Ré et al., 2005).

A commonly accepted definition of this cerebral alteration involves the progressive degeneration of neurons, typically affecting a specific subset of nerve cells. This phenomenon can arise from various factors, including genetic, environmental, biological, autoimmunity, and ageing (Gaeta & Hider, 2005).

Recent evidence indicates a significant association between a high-fat diet and oxidative stress in brain alteration. In experimental models, an HFD is frequently employed to induce dietary-related oxidative stress (OS). HFD not only impact the immune system by altering inflammatory responses but also promotes adiposity (Gil-Cardoso et al., 2017). Furthermore, HFD has been demonstrated to induce changes in gut microbiota composition, increase intestinal permeability and impair mucosal barrier

function (Custers & Kiliaan, 2022). Prolonged consumption of a diet high in saturated fats is recommended as a model for inducing OS, as it significantly reduces hepatic antioxidant enzyme activity and elevates lipid peroxidation (LPO) levels (Chung, Gurtu, Chakravarthi, Moorthy & Palaniasamy, 2018). Moreover, HFD can directly affect the brain by increasing the permeability of the blood-brain barrier (BBB), allowing dietary lipids and inflammatory molecules to penetrate the central nervous system (Custers & Kiliaan, 2022). This promotes the infiltration of free fatty acids and lipopolysaccharides (LPS) into the brain, which subsequently triggers neuroinflammation and oxidative stress (Chianese et al., 2018; Melo, Santos & Ferreira, 2019). Once inside, dietary lipids, particularly saturated and trans fats, integrate into neuronal membranes, altering their composition and fluidity (Custers & Kiliaan, 2022). These alterations can disrupt membrane-bound receptor function, impair synaptic signalling, and modify lipid raft organization, all of which are crucial for neurotransmission and cognitive processes. Consequently, HFD-induced modifications to the BBB and neuronal membrane composition contribute to neurodegenerative mechanisms and cognitive decline (Custers & Kiliaan, 2022; Melo et al., 2019).

In addition to high-fat consumption, excessive dietary iron intake, often linked to overconsumption of meat, may also enhance prooxidant effects (Hininger-Favier, Osman, Roussel, Intes & Montanari, 2016). Transition metal ions, including iron, are recognized as crucial catalysts in the initial production of free radicals (Hininger-Favier et al., 2016). Concerning this potential prooxidant effect, high iron levels have been associated with an increased risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and brain alterations (Berg & Youdim, 2006; Chen, Kung & Gnana-Prakasam, 2022).

Iron is indispensable for life and essential for brain function, serving as a key cofactor in vital biological reactions. However, the same electron transfer properties that render iron indispensable can also lead to toxicity when moderated by OS (Berg & Youdim, 2006). This dual capability of iron to accept and donate electrons facilitates the formation of ROS through Fenton and Haber-Weiss reactions. Specifically, Fe^{3+} and Fe^{2+} ions react with superoxide and hydrogen peroxide (H_2O_2), gene-

rating hydroxyl free radicals. These highly reactive radicals play a significant role in the pathogenesis of neurodegenerative diseases (Berg & Youdim, 2006). In this context, the human diet is crucial in mitigating the onset of OS. Recent trends highlight the integration of natural products into daily nutrition. Notably, nutraceuticals derived from botanical sources have attracted considerable interest as dietary supplements, offering potential benefits for the prevention of chronic diseases (Alu'datt et al., 2024) with minimal side effects. Consequently, numerous studies have focused on introducing natural products with antioxidant and free radical-scavenging properties. Among these, *Nigella sativa* L. is acknowledged in traditional medicine as an adaptogenic herb with disease-preventing benefits (Gholamnezhad, Keyhanmzesh & Boskabady, 2015). Furthermore, researchers have identified NS and its compounds as promising candidates for addressing both physiological and neurological disorders (Casella et al., 2018). NS, commonly known as black cumin, belongs to the *Ranunculaceae* family and has a long-standing history in both medicine and religion. Its seeds often referred to as black seeds, have been investigated for their therapeutic properties (Balbaa, El-Zeftawy, Ghareeb, Taha & Mandour, 2016). Clinical and animal studies have demonstrated that NS provides a wide range of benefits, including bronchodilation, immunomodulation, antibacterial effects, hypotension reduction, antidiabetic activity, hepatoprotection, gastroprotection, antihistaminic effects, as well as antioxidative and neuroprotective properties (Dcsai, Sahcb, Das & Hasccna, 2015; Tavakoli & Hosseinzadeh, 2020; Jarmakiewicz-Czaja, Zielinska, Helma, Sokal & Filip, 2023).

In this study, an HFD enriched with iron was used as an original animal model to induce OS, stimulating certain aspects of deleterious dietary habits and serving as an *in vivo* inducer of oxidative stress. This approach is grounded in the well-established relationship between HFD, iron overload, and OS. To the best of the authors' knowledge, no prior study has explored the potent neuroprotective effect of *N. sativa* seed powder (NSP) in oxidative stress induced by an HFD enriched with iron. In this regard, the objective of the present study was to elucidate the antioxidant and neuroprotective effects of NSP in OS by incorporating it into an HFD enriched with FeCl₃.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals

To conduct this study, tripyridyl-s-triazine (TPTZ), N-acetylcysteine (NAC), 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT), 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB), thiobarbituric acid (TBA), 1,1, 3, 3-tetraethoxypropane (TEP) and trichloroacetic acid (TCA), were procured from SigmaAldrich Company, St. Louis, MO, USA. All other chemicals used in this study were of high quality.

Plant materials

N. sativa seeds were purchased from a local herb store in Tiaret, Algeria. The seeds were subsequently ground into a fine powder (NSP) using an electric grinder (Fritsch, Germany). The NSP was used as a supplement in the experimental diet and for Fourier Transform Infrared Spectroscopic (FT-IR) analysis.

N. sativa seed powder (NSP) concentration

NSP was incorporated into the HFD at a concentration of 4 g per 100 g of feed, based on a preliminary meta-analysis which included the study by Kehili, Saka and Aouacheri (2018) that investigated the effects of an experimental diet with 5% of *N. sativa* powder on oxidative stress induced by cadmium chloride.

FeCl₃ concentration

The integration of FeCl₃ into the HFD aims to expedite the onset of OS. This compound was incorporated at a concentration of 32 mg per 100 g of the diet, as documented by Hinner-Favier et al. (2016).

Animals, housing conditions and diets

This study involved twenty-four healthy adult male NMRI mice, aged 6 to 8 weeks and weighing between 25 and 30 g, sourced from the Pasteur Institute of Algiers, Algeria. Upon arrival, the mice were randomly allocated into four groups, each comprising six mice, and housed individually in cages within the animal room of the Clinical Autopsy Laboratory at the Institute of Veterinary Sciences, University of Tiaret, Tiaret, Algeria. The environmental conditions were meticulously controlled, maintaining a temperature of 24 ± 2 °C, a 12-hour light/dark cycle, and a relative humidity of 60 ± 10%. During a 2-week acclimatization period, the mice had *ad libitum* access to food

and water. Following this period, to investigate the effects of NSP supplementation in the high-fat FeCl₃ diet, the mice were divided into four groups (six mice per group) as follows:

G1 (ST): Animals in this group received a standard diet (Tab. 1).

G2 (ST+NSP): Animals in this group received a standard diet supplemented with 4% of *Nigella sativa* powder (Table 1).

G3 (HFD/Fe³⁺): Animals in this group were fed an HFD consisting of 48% animal fat derived from ovine sources, supplemented with 0.032% FeCl₃ (Table 1).

G4 (HFD/Fe³⁺+NSP): Animals in this group were fed an HFD consisting of 48% animal fat of ovine origin, supplemented with 0.032 % FeCl₃ and 4% of NSP (Tab. 1).

The mice were housed in polyethylene cages with wood shavings as bedding, which were replaced weekly throughout the study. After 11 weeks, the mice underwent an overnight fasting period before being sacrificed. On the day of sacrifice, all four groups were humanely euthanized using an anaesthetic overdose. Blood samples and specific organs, including the brain, were collected and stored at -20 °C until analysis.

Throughout the study, all animals received specialized veterinary care in accordance with the internationally accepted guidelines of the European Union on Animal Care (CEE Council 86/609 (CEC, 1986) and Directive 63/2010 on the protection of animals used for scientific purposes) (European Union, 2010). The experimental procedures were carried out in the animal house of the Veterinary Institute in Tiaret, Tiaret, Algeria, under the supervision of veterinarians. The authors are affiliated with the Algerian Association of Sciences in Ani-

mal Experimentation (AASEA) (Agreement Number: 45/DGLPAG/DVA.SDA.14).

Fourier Transform Infrared Spectroscopic (FT-IR) analysis

An ALPHA-p BRUKER FT-IR spectrometer was employed for the analysis. To prepare the samples, 100 mg of dispersive KBr (potassium bromide) was mixed with 0.5 to 2 mg of the material to create the finished pellets, which were then placed in the sample holder. During the measurement, FT-IR spectra were obtained in the frequency range of 400–4000 cm.

Assessment of oxidative stress markers in plasma and brain

Brain tissue samples (0.2 g) were homogenized in 2 mL of 1X PBS buffer (pH 7.4) using an UltraTurrax T25 (Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, IKA Labortechnik, Staufen, Germany). The homogenate was then centrifuged at 3,000 rpm for 10 minutes at 4 °C. The supernatant was collected, incubated on ice for 1 hour, and subsequently stored at -20 °C until further analysis. These samples were used to assess oxidative stress markers as outlined below.

Determination of total antioxidant power using the FRAP technique

The assessment of ferric reducing antioxidant power in plasma and brain homogenates was conducted using the method outlined by Benzie and Strain (1996). The FRAP assay is a colorimetric method that measures the change in absorbance at 593 nm, which occurs due to the reduction of Fe³⁺ to Fe²⁺, forming a blue Fe²⁺-tripyridyltriazine complex. This reduction is facilitated by antioxidants that donate electrons. The procedure involves the use of the TPTZ reagent (Sigma Aldrich, Germany).

Table 1.
Composition (g/100g diet) of the mice diets used in this study

Diet composition (g/100g diet)	Type of diets			
	Standard diet (ST)	Standard diet +NSP	High-fat diet (HFD)	High-fat diet + NSP
Fat	8.05	8.05	48.00	48.00
Carbohydrates	45.36	45.36	6.10	6.10
Proteins	19.07	19.07	20.00	20.00
FeCl ₃	/	/	0.032	0.032
NSP	/	4.00	/	4.00
Energy value (kcal/100g diet)	330.2	330.2	591.9	591.9

NSP-*N. sativa* powder

A standard curve was obtained from a stock solution of $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ at 1 mM. Subsequently, 100 μL of the sample solution was mixed with 900 μL of FRAP solution. Absorbance readings were taken using a UV/VIS Spectrophotometer (Shimadzu, UV-1202, Japan) at 593 nm, following 30-minute incubation at 37°C.

Determination of thiol groups

The quantification of thiol groups, which serves as an indicator of protein oxidation in plasma and brain homogenates, was performed using the method described by Ellman (1959). In the presence of thiol groups, Ellman's reagent (5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)) is reduced, resulting in the formation of colored aromatic thiol derivatives (5-thio-2-nitrobenzoic acid) with absorbance between 412 and 415 nm. A standard curve was prepared using a solution of NAC (1 mM). A sample of 250 μL was combined with 750 μL of phosphate buffer (pH=8) and 250 μL of DTNB (Sigma Aldrich, Germany). The mixture was incubated in the dark for 15 minutes and the absorbance was measured at 412 nm using a Shimadzu spectrometer.

Determination of reduced glutathione (GSH) concentration

The concentration of reduced glutathione (GSH) in brain tissue homogenates was determined using the colorimetric method described by Ellman (1959). GSH reacts with DTNB (5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)) to form TNB^- , a yellow chromophore. The rate of TNB^- formation is measured spectrophotometrically at a wavelength of 412 nm. A standard curve was generated using a solution of reduced GSH (1 mM). Subsequently, a sample of 250 μL was added to 750 μL of phosphate buffer (pH=8) and 250 μL of DTNB (Sigma Aldrich, Germany). The mixture was incubated in the dark for 15 minutes, and the absorbance was recorded at 412 nm using a Shimadzu spectrometer.

Determination of MDA levels

The quantification of malondialdehyde (MDA) levels was conducted in both plasma and brain homogenates. This method employs an indirect strategy to assess the effects of free radicals by measuring substances formed from lipid peroxidation, which react with TBA. The mea-

surement of MDA serves as an indicator of lipid peroxidation and oxidative stress. This assay followed the protocol established by Yagi (1976). Specifically, 800 μL of a mixture containing TBA at 0.375% (w/v), TCA at 20%, BHT at 0.01% and hydrogen chloride (HCl) 1N were added to 200 μL of the sample solution.

After stirring for 2 minutes, the mixture was incubated in a water bath at 100 °C for 15 minutes. To terminate the reaction, the tubes were placed in ice, and the resulting complex was extracted with butanol for 2 minutes. Following centrifugation at 4000 rpm for 10 minutes at 4 °C (Sigma, 3K10, Laborzentrifugen, Germany), the supernatant was collected, and the absorbance of the pink chromogen was measured at 532 nm using a UV/visible light spectrophotometer (Shimadzu 1202, Japan). Additionally, the plasma and brain MDA concentrations were calculated using a standard curve of TEP.

Estimation of catalase activity (CAT)

Catalase activity was assessed using the method described by Aebi (1984), with minor modifications. For this assay, 20 μL of haemolysate or homogenate was added to 1255 μL of phosphate buffer, and the reaction was initiated by the addition of 725 μL of H_2O_2 at 54 mM. The blank contained 20 μL of haemolysate and 1980 μL of phosphate buffer (50 mM, pH 7.0).

One unit CAT activity is defined as the amount of enzyme required to decompose 1 μmol of H_2O_2 per minute. The rate of H_2O_2 decomposition was measured spectrophotometrically at 240 nm and 25 °C. Catalase activity was expressed as μmoles of H_2O_2 consumed per minute per millilitre of erythrocyte and as μmoles per minute per gram of tissue in brain homogenate.

Statistical analysis

The results are presented as the mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). Statistical analyses were performed using STATISTICA software version 6.1 (StatSoft, Tulsa, OK). Comparisons between the different groups were conducted using a one-way analysis of variance (ANOVA). The least significant difference (LSD) test was used for post-hoc analysis. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS AND DISCUSSION

Bioactive compounds and antioxidants in *N. sativa* L. (NSP)

FT-IR spectroscopy is recognized as a rapid and effective technique for identifying various functional groups within a sample (Nivetha & Prasanna, 2016; Bruce and al., 2021). This method is particularly beneficial due to its capacity to detect bands associated with organic molecules, such as acids and poly-phenols (Nivetha & Prasanna, 2016; Bruce and al., 2021). In this study, FT-IR analysis was performed on NSP. The results, including FT-IR peak values and their corresponding functional groups, are depicted in Fig.1 and Table 2. A peak at 3282 cm^{-1} indicates the presence of a phenolic functional group. Peaks at 2917 cm^{-1} and 2849 cm^{-1} are indicative of C-H

stretching vibrations, suggesting the presence of alkane groups. The absorption peak at 1644 cm^{-1} is associated with C=C aromatic stretching. The peak at 1030 cm^{-1} suggests C-H bending, indicative of alcohol or acid groups. Furthermore the C-H bending observed at this frequency further supports the presence of an aromatic group.

Effect of NSP supplementation on plasma reducing power (PRP) and cerebral reducing power (CRP)

The antioxidant properties of *N. sativa* have been extensively studied, underscoring its significant role in mitigating oxidative stress.

In this research, NSP supplementation inhibited free radical formation in an HFD enriched with FeCl₃ and enhanced free radical scavenging in a normal diet.

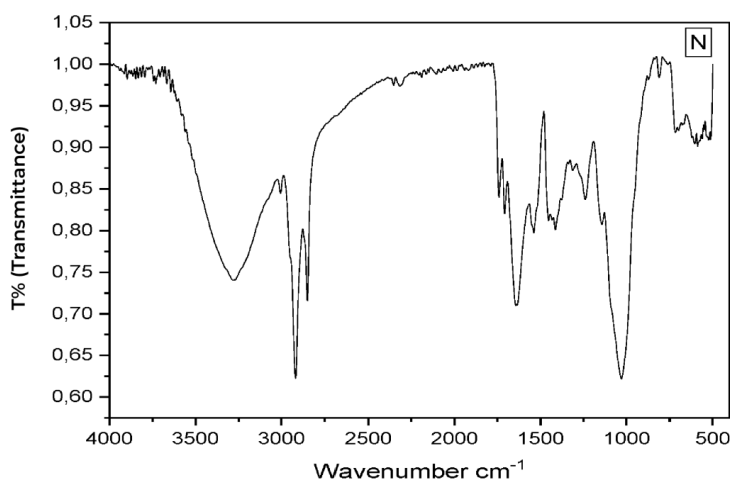


Figure 1. FT-IR spectra of NSP

Table 2.

The main peaks in the FT-IR spectrum of NSP

#	Characteristic absorption	Identified functional groups	Compound class
1	3282	O-H stretching/H-bonded	phenol/alcohol
2	2917	C-H stretching	alkan
3	2849	C-H stretching	alkan
4	1644	C=C aromatic stretching	aromatic
5	1030	C-O stretching	alcohol/acid
6	697	C-H bending	aromatic

These effects are attributed to the polyphenols and flavonoids in *N. sativa*, which act as potent natural antioxidants by scavenging free radicals through their multiple hydroxyl groups (Alu'datt et al., 2024).

The results of the plasma-reducing power (PRP) and cerebral reducing power (CRP) (Table 3) reveal that the HFD/Fe³⁺ significantly impacts reducing power (PR) as measured by the FRAP technique. Mice receiving the HFD/Fe³⁺ exhibited a significantly lower reducing power compared to the ST ($p < 0.05$).

Incorporating NSP into the standard diet significantly enhanced antioxidant activity in both plasma and the brain. The ST+NSP group demonstrated a highly significant increase in antioxidant activity compared to the HFD/Fe³⁺ group ($p < 0.001$). Similarly, the addition of NSP to the HFD/Fe³⁺ significantly improved plasma-reducing power (PRP) ($p < 0.05$) and cerebral-reducing power (CRP) ($p < 0.01$), with notable enhancements, observed relative to the HFD/Fe³⁺ group.

These findings align with prior research, which attributes the observed protective effects to the presence of phenolic antioxidants and a high concentration of phytochemicals in *NS*. These components are crucial in mitigating various degenerative diseases. Dietary polyphenols are recognized for their remarkable bioactivity, including their capacity to traverse the blood-brain barrier and reach neuronal cells (Grabska-Kobyłecka et al., 2023).

These compounds positively impact brain health by enhancing plasticity, improving cognitive functions, and modulating mood. Numerous studies have investigated the mechanism through which plant-derived polyphenols neutralize reactive oxygen species, support signal transduction, and promote neuronal plasticity. Furthermore, polyphenols enhance neuronal health by elevating levels of neurotransmitters such as dopamine, serotonin, and noradrenaline in brain tissue (Grabska-Kobyłecka et al., 2023).

Additionally, polyphenols act as effective metal chelators, providing neuroprotection against oxidative stress and neurotoxicity induced by iron and copper. This neuroprotective effect is facilitated by their metal-chelating properties, modulation of signal transduction, and reduc-

tion of oxidative stress (Bhullar & Rupasinghe, 2013).

Flavonoids, a subclass of polyphenols, exhibit additional pharmacological properties, including iron chelation and inhibition of lipid peroxidation, further supporting their role in maintaining neuronal health and protecting against oxidative damage (Juurlink & Patterson, 1998). Dong et al. (2020) demonstrated in their study on *NS* seeds that the plant enhanced the total antioxidant capacity in mice subjected to a high-fat diet and developing type 2 diabetes. Meziti, Meziti, Boudiaf, Mustapha and Bouriches (2012) reached a similar conclusion, suggesting that daily oral administration of the crude extract (500 and 800 mg/kg/day) and the essential oil (2 and 4 ml/kg/day) of *NS* for 21 days in Swiss albino mice significantly improved plasma antioxidant capacity.

Recent studies also emphasized the antioxidant properties of thymoquinone (TQ), a compound in *NS* that exhibits notable free radical scavenging activity, enhanced by its redox features, ability to bypass biological barriers, and capacity to penetrate subcellular compartments (Casella et al., 2018). Ismail, Al-Naqeeb and Chan (2010) demonstrated that both the TQ-rich fraction and TQ significantly improved plasma antioxidant status by inhibiting hydroxyl radical formation.

Furthermore, compounds isolated from *N. sativa*, including thymoquinone, carvacrol, anethole, and 4-terpineol have been shown to possess notable free radical scavenging properties (Hosseini et al., 2018).

Effect of NSP supplementation on protein oxidation (thiol group) and GSH concentration

The evaluation of protein oxidation in plasma and brain tissues (Fig. 2 and 3) indicated that the HFD/Fe³⁺ group exhibited significant alterations in protein oxidation. This is evidenced by a highly significant reduction in thiol group content in the HFD/Fe³⁺ group compared to both the ST group and the ST-NSP group in the plasma ($p < 0.001$). Similarly, the brain results corroborate these findings, showing significantly lower thiol group levels in the HFD/Fe³⁺ group compared to the ST group ($p < 0.05$) and the ST-NSP group ($p < 0.001$).

Table 3.

Effect of NSP supplementation on plasma reducing power ($\mu\text{mol/l}$) and cerebral reducing power ($\mu\text{mol/g}$ of tissue) in different groups of mice after 11 weeks

FRAP	Experimental groups			
	G1 (ST)	G2 (ST+N)	G3 (HFD/Fe ³⁺)	G4 (HFD/Fe ³⁺ +N)
Plasma FRAP	1271.20± 86.94 [#]	1633.74± 58.92	893.39± 101.66 ^{###¶}	1266.90± 147.08 [#]
Brain FRAP	727.05±49.01	924.70±139.82	498.82±35.52 ^{###¶¶}	849.41 ±44.64

Values are means ± SEM (n = 6). [#] p < 0.05 versus ST group; ^{###} p < 0.001 versus G2 (ST+NSP) group; [¶] p < 0.05 versus G2 (ST+NSP group); ^{¶¶} p < 0.05 versus G3 (HFD/Fe³⁺+NSP); ^{¶¶¶} p < 0.01 versus G3 (HFD/Fe³⁺+NSP)

The integration of NSP into the HFD exhibits a protective effect against protein oxidation, as demonstrated by a very significant increase of thiol group content in the HFD/Fe³⁺+NSP group compared to the HFD/Fe³⁺ group at both plasma (p < 0.01) and the brain levels (p < 0.001). However, this protective effect is consistently less pronounced than that observed in the ST and ST+NSP groups. Notably, both the ST and ST+NSP groups show a very significant increase in thiol content compared to the HFD/Fe³⁺-NSP group at the plasma level (p < 0.01). A similar trend is observed at the brain level, particularly in the ST+NSP group, although this increase does not reach statistical significance.

GSH, the most abundant antioxidant in cellular compartments, is implicated in a feedback loop involving iron accumulation, reduced GSII levels, and oxidative stress (Yarjanli, Ghaedi, Esmaili, Rahgozar & Zarrabi, 2017). In this study (Fig. 4), GSH levels were found to be depleted in the brain tissue of HFD/Fe³⁺-fed animals compared to the ST group (P < 0.01) and the ST+NSP group (p < 0.001). Supplementation with NSP significantly restored the reduced GSII levels in HFD/Fe³⁺-fed animals (p < 0.001).

Sulfhydryl (SH) groups, highly reactive components of both protein and non-protein molecules, play a crucial role in scavenging oxygen free radicals (Hosseini et al., 2018). In this study, HFD/Fe³⁺ promotes ROS generation by reducing the antioxidant enzyme activity and depleting intracellular GSII concentrations in the brain. NSP supplementation acts as a free radical scavenger, enhancing non-enzymatic GSH levels and total thiol groups in both plasma and brain. Indeed, small thiols like GSH may also play a direct role in scavenging strong oxidants and can inactivate the hydroxyl radical.

Several studies underscore the role of NS in increasing the total thiol content of serum and tissues. For instance, Hosseini et al. (2018) and Salama, Abd-El-Hameed, Abd-El-Ghaffar, Mohammed and Ghandour (2011) demonstrated that administering NS extract at doses of 100 and 200 mg/kg and 50 mg/kg (I.P.), respectively, significantly increased the total thiol content in the serum and tissues of Cisplatin-treated Wistar rats. Furthermore, daily oral administration of NS extract for two months in experimentally induced diabetic rabbits increased GSH levels (Meral, Yener, Kahraman & Mert, 2001). Additional research suggests that *N. sativa* powder, when administered orally, can normalize glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) levels in rats, indicating significant efficacy in mitigating oxidative stress (Javidi, Razavi & Hosseinzadeh, 2016).

Effect of NSP supplementation on lipid peroxidation (MDA level)

Lipid peroxidation represents a significant consequence of hydroxyl radicals and other potent oxidants, leading to disruptions in brain function by altering the fluidity and integrity of neuronal cell membranes (Juurink & Paterson, 1998). In this study, the HFD/Fe³⁺ group was used to induce lipid oxidation, as evidenced by MDA levels (Table 4). A highly significant increase in MDA concentration was observed in the HFD/Fe³⁺ group compared to the ST group (p < 0.01).

Furthermore, MDA levels in the HFD/Fe³⁺ group were significantly higher than those in the ST-NSP group (p < 0.001) at the plasma level. At the brain level, a similar highly significant rise in MDA levels was noted in the HFD/Fe³⁺ group compared to both the ST group (p < 0.001) and the ST+NSP group (p < 0.01).

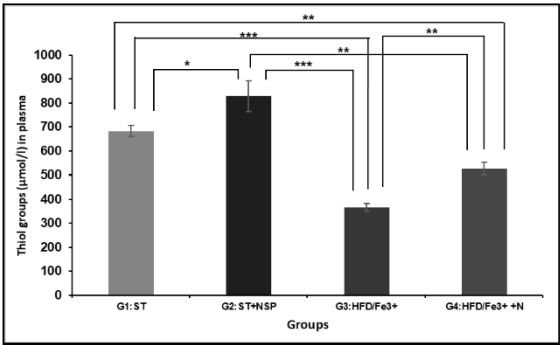


Figure 2. Effect of NSP supplementation on protein oxidation in plasma (thiol group) (μmol/L) in the different groups of mice after 11 weeks (n = 6 mice in each group). Data are presented as mean ± standard error. * $P < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

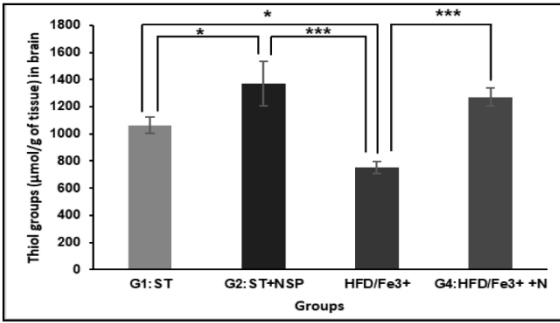


Figure 3. Effect of NSP supplementation on protein oxidation in brain (μmol/g of tissue) in different groups of mice after 11 weeks (n = 6 mice in each group). Data are presented as mean ± standard error * $P < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

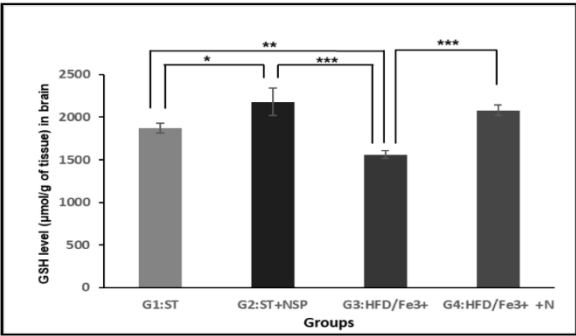


Figure 4. Effect of NSP supplementation on cerebral GSH concentration (μmol/g of tissue) in different groups of mice after 11 weeks (n = 6 mice in each group). Data are presented as mean ± standard error * $P < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Table 4.
Effect of NSP supplementation on plasma lipid peroxidation ($\mu\text{mol/l}$) and brain lipid peroxidation ($\mu\text{mol/g}$ of tissue) in different groups of mice after 11 weeks

MDA level	Experimental groups			
	G1 (ST)	G2 (ST+N)	G3 (HFD/Fe ³⁺)	G4 (HFD/Fe ³⁺ +N)
Plasma MDA	4.92±0.43**	3.32±0.56***	7.05±0.51	2.33±0.64***
Brain MDA	16.15±1.00***	20.13±2.21**	29.98±2.12	18.24±2.82**

Data are presented as means $\pm$ SEM (n = 6 mice); all ***p < 0.001; **p < 0.01, comparison between HFD/Fe³⁺ and the other groups

The addition of NSP to the HFD/Fe³⁺ regimen significantly reduced the MDA levels induced by this diet. This reduction was evident in the HFD/Fe³⁺+NSP group compared to the HFD/Fe³⁺ group at the plasma level (p < 0.001). A similar decrease in MDA levels was observed in the HFD/Fe³⁺+NSP group compared to the HFD/Fe³⁺ group (p < 0.01) at the brain level.

These results suggest that NSP confers a protective effect, particularly in the context of elevated MDA levels induced by the high-fat diet with iron, providing superior protection compared to the control groups at both the plasma and brain levels.

This finding is corroborated by Balbaa, Abdulmalek and Khalil (2017), who demonstrated that *N. sativa* reduces oxidative stress markers by decreasing TBARS in the brain tissue of HFD/STZ-induced rats.

Additionally, *N. sativa* has been shown to decrease high MDA levels and enhance antioxidant enzyme activity (Ismail et al., 2010). Kanter, Coskun, Kalayci, Buyukbas and Cagavi (2006) also investigated the effect of black seed on lipid peroxidation and the antioxidant defence system, finding that treatment with the volatile oil of *N. sativa*, reduced spinal cord tissue MDA levels following experimental spinal cord injury in rats.

A recent study also confirmed that NS seed powder (300 mg/kg BW) significantly decreased MDA levels in diabetic albino rats induced by streptozotocin (Desai et al., 2015). Moreover, Mehri, Shahi, Razavi, Hassani and Hosseinzadeh (2014) demonstrated that TQ exhibited a protective effect against acrylamide (ACR)-induced neurotoxicity in Wistar rats, primarily by reducing lipid peroxidation in the cerebral cortex.

Effect of NSP supplementation on Catalase content in erythrocyte and brain

This study explored the effects of HFD/Fe³⁺ and NSP supplementation on enzymatic antioxidants, specifically CAT activity in erythrocytes and brain tissues (Table 5). A highly significant decrease in CAT activity was observed in the HFD/Fe³⁺ group compared to both the ST group (p < 0.001) and the ST+NSP group (p < 0.01) at the erythrocyte level. Although the supplementation of NS to the high-fat feeding group increased CAT activity, this increase was not statistically significant compared to the HFD/Fe³⁺ group.

A highly significant reduction in CAT activity was observed in the HFD/Fe³⁺ group at the brain level in comparison to both the ST group (p < 0.05) and the ST+NSP group (p < 0.001). Furthermore, catalase activity was consistently higher in the control group treated with NS, as opposed to both the ST group (p < 0.05) and the HFD/Fe³⁺+N group (p < 0.05). At the erythrocyte level, a significant decrease in catalase activity was detected in the HFD/Fe³⁺ group compared to the HFD/Fe³⁺ group treated with NSP whereas no significant difference was evident at the brain level. Catalase is a crucial enzyme that catalyses the decomposition of hydrogen peroxide into water and molecular oxygen, thereby serving as a vital defence against oxidative stress (Juurilink & Patterson, 1998). In this study, the administration of NSP in a high-fat diet enriched with FeCl₃ was found to enhance catalase activity in both blood and brain tissues. This finding aligns with other studies on NS, particularly when combined with vitamin C, which demonstrated the ability to mitigate the inhibition of catalase activity following experimental spinal cord injury in rats. Moreover, increased catalase activity has been reported as an indicator of the

Table 5.

Effect of NSP supplementation on catalase content in erythrocyte ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$) and brain ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ of tissue) in different groups of mice after 11 weeks

Catalase content	Experimental groups			
	G1: ST	G2: ST+NSP	G3: HFD/Fe ³⁺	G4: HFD/Fe ³⁺ +N
Eryth CAT	1244.38±44.52	895.75±145.79	416.78±104.66 ^{***##}	677.53±120.19 ^{**}
Brain CAT	50383.02±203.14 [#]	52887.61±1374.83	48423.54±383.80 ^{####}	49304.39±219.69 ^{####}

Values are means ± SEM (n = 6); ^{***}p < 0.001 versus group G1(ST); ^{**}p < 0.01 versus group G (ST); ^{*}p < 0.05 versus group G1(ST); ^{###}p < 0.001 versus group G2 (ST+NSP); ^{##}p < 0.01 versus group G2 (ST+NSP); [#]p < 0.05 versus group G2 (ST+NSP)

antioxidant properties of NS (Javidi et al., 2016).

The administration of TQ has also been shown to restore CAT activity in the rat brain to normal levels (Leong, Rais Mostafa & Jaarin, 2013). The study by Rasoli et al. (2018), which involved adult female Wistar rats subjected to stress and treated with *N. sativa* extract, indicates that *N. sativa* extract possesses the chemical properties necessary to enhance antioxidant capacity, increase CAT activity, and reduce lipid peroxidation.

CONCLUSIONS

After 11 weeks of experimentation, the findings suggest that the inclusion of NSP in an HFD enriched with FeCl₃ enhances plasma and brain-reducing powers, thiol levels, catalase activity, and GSH content. Concurrently, NSP supplementation significantly reduces the MDA levels induced by the HFD/Fe³⁺. These results imply that *N. sativa* contains essential biomolecules capable of traversing the BBB and exerting a neuroprotective effect against oxidative imbalance and lipid peroxidation caused by an iron-enriched hyperlipidemic diet. However, further studies and more comprehensive investigations are necessary to validate these findings.

Future research should focus on measuring iron concentration in the brain, characterizing the bioactive molecules likely to cross the BBB, and exploring the potential of NSP as an alternative treatment for mitigating brain damage caused by oxidative stress.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, B.R.; Methodology, B.M. and H.H.; Investigation, formal analysis, validation, writing-original draft preparation, B.I.I.; Writing-review and editing, B.H.; Supervision, B.R.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data contained within the article.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was highly supported by DGRST of the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study, in the collection, analyses, or interpretation of data, in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

REFERENCES

- Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Alh'datt, M. H., Rababah, T., Al-u'datt, D. A. G., Gammoh, S., Alkandari, S., Allafi, A., Alrosant, M., Kubow, S., & Al-Rashdan, H. K. (2024). Designing novel industrial and functional foods using the bioactive compounds from *Nigella sativa* L. (black cumin): Biochemical and biological prospects toward health implications. *Journal of Food Science*, 89(4), 1865-1893.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.16981>
- Balbaa, M., Abdulmalek, S. A., & Khalil, S. (2017). Oxidative stress and expression of insulin signaling proteins in the brain of diabetic rats: Role of *Nigella sativa* oil and antidiabetic drugs. *PLoS One*, 12(5), e0172429.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172429>
- Balbaa, M., El-Zeftawy, M., Ghareeb, D., Taha, N., & Mandour, A. W. (2016). *Nigella sativa* relieves the altered insulin receptor signaling in streptozotocin-induced diabetic rats fed with a high-fat diet. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1), 2492107.
<https://doi.org/10.1155/2016/2492107>
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
<https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

- Berg, D., & Youdim, M. B. (2006). Role of iron in neurodegenerative disorders. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 17(1), 5-17.
<https://doi.org/10.1097/01.mnr.0000245461.90406.ad>
- Bhullar, K. S., & Rupasinghe, H. V. (2013). Polyphenols: multipotent therapeutic agents in neurodegenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013(1), 891748.
<https://doi.org/10.1155/2013/891748>
- Bonnefont-Rousselot, D. (2014). Obésité et stress oxydant. *Obésité*, 1(9), 8-13.
<https://doi.org/10.1007/s11690-013-0408-3>
- Bruce, S. O., Nwafor, O. I., Omoiri, M. A., Adione, N. M., Onyeka, I. P., & Ezecora, V. C. (2021). GC-MS, FTIR and antiulcer screening of aqueous seed extract and oil of *Nigella sativa* in Wistar rats. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(6), 48-60.
<https://doi.org/10.22270/jddt.v11i6.5036>
- Cascella, M., Bimonte, S., Barbieri, A., Del Vecchio, V., Muzio, M. R., Vitale, A., Benincasa, G., Ferriello, A. B., Azzariti, A., Arra, C., & Cuomo, A. (2018). Dissecting the potential roles of *Nigella sativa* and its constituent thymoquinone on the prevention and on the progression of Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 16.
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00016>
- Chen, W. J., Kung, G. P., & Gnana-Prakasam, J. P. (2022). Role of iron in aging related diseases. *Antioxidants*, 11(5), 865.
<https://doi.org/10.3390/antiox11050865>
- Chen, X., Guo, C., & Kong, J. (2012). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Neural Regeneration Research*, 7(5), 376-385.
<https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2012.05.009>
- Chianese, R., Coccorello, R., Viggiano, A., Scafuro, M., Fiore, M., Coppola, G., Operto, F. F., Fasano, S., Laye, S., Pierantoni, R., & Meccariello, R. (2018). Impact of dietary fats on brain functions. *Current Neuropharmacology*, 16(7), 1059-1085.
<https://doi.org/10.2174/1570159X15666171017102547>
- (CEC) Council of the European Communities. (1986). Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal of the European Communities*, L358/1.
<https://op.europa.eu/publication-detail/-/publication/cc3a8ceb-5a30-4b6c-8da8-b13348caeb0c>
- Chung, A. P. Y., Gurtu, S., Chakravarthi, S., Moorthy, M., & Palanisamy, U. D. (2018). Geraniin protects high-fat diet-induced oxidative stress in Sprague Dawley rats. *Frontiers in Nutrition*, 5, 17.
<https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00017>
- Custers, E. M. E., & Kiliaan, A. J. (2022). Dietary lipids from body to brain. *Progress in Lipid Research*, 85, 101144.
<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101144>
- Desai, S. D., Saheb, S. H., Das, K. K., & Haseena, S. (2015). Effect of *Nigella sativa* seed powder on MDA and SOD levels in streptozotocine induced diabetes albino rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(4), 206.
- Dong, J., Liang, Q., Niu, Y., Jiang, S., Zhou, L. I., Wang, J., Ma, C., & Kang, W. (2020). Effects of *Nigella sativa* seed polysaccharides on type 2 diabetic mice and gut microbiota. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 725-738.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.042>
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70-77.
[https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- European Union. (2010). Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*, L276/33.
<https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj/eng>
- Gaeta, A., & Hider, R. C. (2005). The crucial role of metal ions in neurodegeneration: the basis for a promising therapeutic strategy. *British Journal of Pharmacology*, 146(8), 1041-1059.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706416>
- Gholamnezhad, Z., Keyhanmanesh, R., & Boskabady, M. H. (2015). Anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory aspects of *Nigella sativa* for its preventive and bronchodilatory effects on obstructive respiratory diseases: A review of basic and clinical evidence. *Journal of Functional Foods*, 17, 910-927.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.032>
- Gil-Cardoso, K., Ginés, I., Pinent, M., Ardevol, A., Terra, X., & Blay, M. (2017). A cafeteria diet triggers intestinal inflammation and oxidative stress in obese rats. *British Journal of Nutrition*, 117(2), 218-229.
<https://doi.org/10.1017/S0007114516004608>
- Grabska-Kobyłeczka, I., Szpakowski, P., Król, A., Książek-Winiarek, D., Kobyłeczki, A., Głabinski, A., & Nowak, D. (2023). Polyphenols and their impact on the prevention of neurodegenerative diseases and development. *Nutrients*, 15(15), 3454.
<https://doi.org/10.3390/nu15153454>
- Hininger-Favier, I., Osman, M., Roussel, A. M., Intes, L., & Montanari, B. (2016). Positive effects of an oral supplementation by Glisodin, a gliadin-combined SOD-rich melen extract, in an animal model of dietary-induced oxidative stress. *Phytotherapie*, 14(1), 29-34.
<https://doi.org/10.1007/s10298-015-0928-4>
- Hosseini, S., Roshan, N. M., Khazaei, M., Shahraki, S., Mohebbati, R., & Rad, A. K. (2018). Renoprotective effect of *Nigella sativa* against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rat. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 29(1), 19-29.
<https://doi.org/10.4103/1319-2442.225208>
- Ismail, M., Al-Naqeeq, G., & Chan, K. W. (2010). *Nigella sativa* thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(5), 664-672.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.002>
- Jarmakiewicz-Czaja, S., Zielińska, M., Helma, K., Sokal, A., & Filip, R. (2023). Effect of *Nigella sativa* on selected gastrointestinal diseases. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(4), 3016-3034.
<https://doi.org/10.3390/cimb45040198>
- Javidi, S., Razavi, B. M., & Hosseinzadeh, H. (2016). A review of neuropharmacology effects of *Nigella sativa* and its main component, thymoquinone. *Phytotherapy Research*, 30(8), 1219-1229.
<https://doi.org/10.1002/ptr.5634>

- Juurink, B. H., & Paterson, P. G. (1998). Review of oxidative stress in brain and spinal cord injury: suggestions for pharmacological and nutritional management strategies. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, 21(4), 309-334. <https://doi.org/10.1080/10790268.1998.11719540>
- Kanter, M., Coskun, O., Kulay, M., Buyukbas, S., & Cagavi, F. (2006). Neuroprotective effects of *Nigella sativa* on experimental spinal cord injury in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 25(3), 127-133. <https://doi.org/10.1191/0960327106ht608oa>
- Kehili, N., Saka, S., & Aouacheri, O. (2018). L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats. *Phytothérapie*, 16(4), 194. <https://doi.org/10.3166/phyto-2018-0053>
- Leong, X. F., Rais Mustafa, M., & Jaarin, K. (2013). *Nigella sativa* and its protective role in oxidative stress and hypertension. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(1), 120732. <https://doi.org/10.1155/2013/120732>
- Mamun, M. A. A., Faruk, M., Rahman, M. M., Nahar, K., Kabir, F., Alam, M. A., & Subhan, N. (2019). High carbohydrate high fat diet induced hepatic steatosis and dyslipidemia were ameliorated by *Psidium guajava* leaf powder supplementation in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019(1), 1897237. <https://doi.org/10.1155/2019/1897237>
- Mehri, S., Shahi, M., Razavi, B. M., Hassani, F. V., & Hosseinzadeh, H. (2014). Neuroprotective effect of thymoquinone in acrylamide-induced neurotoxicity in Wistar rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(12), 1007. <https://doi.org/10.3389/ijbm.2019.00265>
- Melo, H. M., Santos, L. F., & Ferreira, S. T. (2019). Diet-derived fatty acids, brain inflammation, and mental health. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 265. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00265>
- Meral, I., Yener, Z., Kahraman, T., & Mert, N. (2001). Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, antioxidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 48(10), 593-599. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0442.2001.00393.x>
- Meziti, A., Meziti, H., Boudiaf, K., Mustapha, B., & Bouriche, H. (2012). Polyphenolic profile and antioxidant activities of *Nigella sativa* seed extracts in vitro and in vivo. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 6(4), 109-117.
- Nivetha, K., & Prasanna, G. (2016). GC-MS and FT-IR analysis of *Nigella sativa* L. seeds. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 3(6), 45-54. <http://www.ijarbs.com/pdfcopy/june2016/ijarbs7>
- Rasoli, M. S., Khalili, M., Mohammadi, R., Soleimani, A., Khezadi, R., Ilkhamipour, M., Heidari, R., & Golkari, S. (2018). The chemical composition of *Nigella sativa* L. and its extract effects on lipid peroxidation levels, total antioxidant capacity and catalase activity of the liver and kidney in rats under stress. *Gene, Cell and Tissue*, 5(1), e61323. <https://doi.org/10.5812/get.61323>
- Ré, D. B., Nafia, I., Nèouillon, A., Le Goff, L. K., & Had-Aissouni, L. (2005). Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24(5), 502-509. <https://doi.org/10.1016/j.annfar.2005.03.004>
- Salama, R. H., Abd-El-Hameed, N. A., Abd-El-Ghaffar, S. K., Mohammed, Z. T., & Ghandour, N. (2011). Nephroprotective effect of *Nigella sativa* and *Matricaria chamomilla* in cisplatin induced renal injury—supportive treatments in cisplatin nephrotoxicity. *International Journal of Clinical Medicine*, 2(03), 185-195. <https://doi.org/10.4236/ijcm.2011.23031>
- Tavakkoli, A., & Hosseinzadeh, H. (2020). *Nigella sativa* L. and thymoquinone as neuroprotective antioxidants. In C.R. Martin and V.R. Proedy (Eds.) *Oxidative stress and dietary antioxidants in neurological diseases* (pp. 325-341). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817780-8.00021-9>
- Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine*, 15(2), 212-216. [https://doi.org/10.1016/0006-2944\(76\)90049-1](https://doi.org/10.1016/0006-2944(76)90049-1)
- Yarjanli, Z., Ghaedi, K., Esmaili, A., Rahgozar, S., & Zarrabi, A. (2017). Iron oxide nanoparticles may damage to the neural tissue through iron accumulation, oxidative stress, and protein aggregation. *BMC Neuroscience*, 18, 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12868-017-0369-9>

PREVENTIVNI EFEKAT *NIGELLA SATIVA* L. PROTIV CEREBRALNIH OKSIDATIVNIH PROMENA IZAZVANIH ISHRANOM BOGATOM MASTIMA I OBOGAĆENOM GVOŽDEM KOD MIŠEVA

Halima Benabdallah^{*1,2}, Rachida Benaraba^{1,2}, Mostefa Belarbi³, Hemida Houari⁴

¹Univerzitet u Tijaretu, Laboratorija za istraživanje lokalnih animalnih proizvoda, 14000 Tijaret, Alžir

²Univerzitet u Tijaretu, Fakultet prirodnih nauka, 14000 Tijaret, Alžir

³Univerzitet u Tijaretu, Laboratorija za matematiku i računarske nauke, 14000 Tijaret, Alžir

⁴Univerzitet u Tijaretu, Institut za veterinarske nauke, 14000 Tijaret, Alžir

Sažetak: Nedavna istraživanja naglašavaju ključnu ulogu oksidativnog stresa u cerebralnim promenama, podstičući istraživanja strategija poput korišćenja prirodnih supstanci dobijenih iz lekovitih biljaka, uključujući *Nigella sativa* L. (NS), zbog njihovog terapijskog potencijala. NS je poznata po svojim bioaktivnim jedinjenjima koja igraju značajnu ulogu u prevenciji i lečenju bolesti. Ova studija koristila je Fourier Transform Infrared Spectroscopic (FT-IR) analizu za identifikaciju funkcionalnih grupa i jedinjenja u semenu NS, kako bi ispitala njene preventivne efekte na cerebralne oksidativne promene izazvane ishranom bogatom mastima (HFD) uz dodatak gvožđa kod NMRI miševa. Fokus je bio na oksidaciji lipida, Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), tiolnim grupama, aktivnosti katalaze i nivoima redukovanog glutationa (GSH). Miševi su nasumično podeljeni u četiri eksperimentalne grupe (po šest miševa u grupi): kontrola (ST), kontrola + prah semena NS (ST+NSP), ishrana bogata mastima uz FeCl₃ (HFD/Fe³⁺), i HFD/Fe³⁺+NSP. Nakon eksperimentalnog perioda od 11 nedelja, oksidacija lipida, FRAP, tiolne grupe i aktivnost katalaze merene su u plazmi i mozgu, dok su nivoi GSH procenjivani isključivo u mozgu. NS je značajno smanjila lipidnu peroksidaciju kod HFD/Fe³⁺ miševa i obnovila FRAP, tiolne grupe, aktivnost katalaze i nivo GSH, koji su bili znatno smanjeni kod HFD/Fe³⁺ miševa u poređenju sa ST grupom. Režim HFD/Fe³⁺ povećao je proizvode lipidne peroksidacije u odnosu na ST grupu. Ovi nalazi sugerišu da suplementacija ishrane sa NS u prahu ublažava cerebralni oksidativni stres i poboljšava aktivnost antioksidativnih enzima.

Ključne reči: crni kumin, lipidna oksidacija, oksidativni stres, hiperlipidna ishrana, FeCl₃, promene na mozgu

Received: 18 February 2025/ Received in revised form: 15 March 2025/ Accepted: 17 March 2025

Available online: April 2025



This open-access article is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License. To view a copy of this license, visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> or send a letter to Creative Commons, PO Box 1866, Mountain View, CA 94042, USA.

© The Author(s) 2025