

N° d'ordre...

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département des Sciences de biologie

Thèse De Doctorat 3ème cycle

Présentée par : M^{lle} MERAOU Asmaa

Spécialité : biologie

Option : Immunochimie alimentaire et santé

**Effets des vitamines (C, E), du NADH et des acides gras
sur la prolifération lymphocytaire, la sécrétion des cytokines
et le statut redox chez les patients atteints
de maladies métaboliques.**

Soutenue le

Devant l'honorable jury composé de:

Président de jury : Pr BENALI Mohammed Professeur, UDL/SBA

Examineurs : Pr BABA Ahmed Fatima Zohra Professeur, Université de Tlemcen

: Dr MENADI Noredine MCA, UDL/SBA

: Dr CHENNI Fatima Zohra MCA, UDL/SBA

Encadreur : Pr MERZOUK Hafida Professeur, Université de Tlemcen, Algérie

CO-encadreur : Pr BELBRAOUT Slimane, Université de Moncton, Canada

Année universitaire 2016 - 2017

A l'âme de mon grand-père Ali

A l'âme de ma grand-mère Aicha

Qui sont toujours présents dans mon cœur

Dédicaces

A mes chers parents

Noureddine et Faouzia

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

A Mme MERZOUK Hafida

A Mr BELBRAOUEZ Slimane

A mon cher oncle Abdelmadjid

A mes chers Frères (MOHAMED IMED-EDDINE, AYMEN)

Et ma chère sœur (ANFEL-AICHA)

A mes grands-parents

A mes tantes et mes oncles et A toute ma famille

A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de

mon cœur et de ma pensée

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.*

C'est avec un réel plaisir que je profite de ces quelques lignes pour rendre hommage aux personnes qui ont participé à leur manière à la réalisation et à l'aboutissement de cette thèse.

*Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à Mme **MERZOUK Hafida**, Professeur à l'université de Tlemcen, Les mots me manquent pour exprimer ma gratitude. L'idée de voler de ses propres ailes est un peu effrayante, mais j'ai l'impression d'avoir grandi, d'avoir acquis une certaine confiance grâce à vous. D'un point de vue relationnel, j'ai trouvé une relation cordiale, une écoute et ce que j'ai aimé par-dessus tout une franchise à toute épreuve. J'ai énormément appris à vos côtés. Je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée et de m'avoir accepté dans votre laboratoire et de m'avoir encadré et suivi durant la réalisation de ce travail, pour vos multiples conseils et pour toutes les heures que vous avez consacrées à diriger cette recherche. Grâce à vous, cette expérience de thèse aura été unique, diversifiée et enrichissante tant d'un point de vue scientifique qu'humain.*

*Je tiens à présenter ma profonde gratitude à Mr **BELBRAOUT Slimane** professeur à l'Université de Moncton d'avoir Co-encadré ce travail de thèse. C'est également grâce à votre collaboration et votre disponibilité malgré vos nombreuses charges. Votre compétence, votre rigueur scientifique et votre clairvoyance, votre esprit d'analyse m'ont permis d'acquérir des compétences dans plusieurs domaines et qui m'ont permis d'évoluer dans ma vision de la recherche. Merci pour le soutien que vous m'avez apporté pendant ces années.*

*Je souhaiterais exprimer ma gratitude à monsieur **BENALI Mohammed** Professeur à l'université de sidi bel abbés et chef de la formation doctorale pour le soutien qu'il m'a apporté pendant ces années et pour ses conseils avisés, pour ses encouragements à poursuivre ces travaux dans le cadre de doctorat.*

J'exprime mon estime et mes remerciements aux honorables membres de jury :

*Je suis particulièrement reconnaissante à Mr **BENALI Mohammed**, Professeur à l'université de sidi bel abbés pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir acceptée la présidence du jury de ma thèse. Qu'il soit assurée de ma respectueuse considération.*

Veillez trouver ici l'expression de mon respect et de ma reconnaissance.

*Je remercie énormément Mr **MENADI Noredine**, Maître de conférences de l'Université de sidi bel abbés qui a bien voulu accepter d'examiner ma thèse de doctorat.*

*Mes remerciements sincères et respectueux vont au Mme **BABA-AHMED Fatima Zohra**, Professeur de l'université de Tlemcen, pour avoir accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail comme Examinatrice.*

*Je tiens également à remercier Mme **CHENNI Fatima Zohra**, Maître de conférences de l'université de sidi bel abbés de m'avoir fait l'honneur de participer au jury de ma thèse.*

*Je témoigne également ma reconnaissance sincère au professeur **MERZOUK Sid Ahmed**, par son dévouement et intérêt à mon projet recherche et soutien scientifique tout au long de ce travail, son implication, ses critiques constructives dans le domaine des statistiques, ses encouragements, qui ont tous contribué à la réalisation d'un travail de grande qualité.*

*Je remercie infiniment Mme **MEDJDOUB Amel**, Maître de conférences à l'Université de Tlemcen, de m'avoir aidé dans mon chemin de recherche et pour m'avoir initié aux cultures cellulaires.*

*J'adresse toute ma gratitude à Tonton **Bahif mohammed** et sa femme Tata **Wahiba** et ses enfants, qui m'ont accueillie et héberger lors de ma présence a Tlemcen. Grand Merci pour vous.*

Je ne manquerai pas d'exprimer ma plus profonde gratitude et mes chaleureux remerciements aux médecins, Infirmières de service de médecine interne et le service d'endocrinologie du centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen.

*Merci à mes amies qui m'ont soutenu tout au long de mon chemin : **Djamila ; Meriem ; Selma ; Wahiba ; Farid ; Walid ; Samia ; Farah ; Ismahane ; Fatima ; Fadia** et tous les membres du laboratoire PPABIONUT.*

Merci aussi à mes collègues : Asmaa, Wafaa, Amal, Soumia au Département de Biologie et au département de l'environnement à l'université de Djilali liabes pour leur apport et les bons moments passés ensemble. Merci pour l'amitié qui nous lie depuis toutes ces années.

J'exprime toute ma gratitude à ceux qui m'ont donné goût aux sciences et à la recherche : mes parents et mes enseignants. Sans eux je ne serais pas là, et surtout je ne serais pas moi même.

A tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, qu'ils trouvent ici ma haute considération.

MERCI !

Résumé

Le Diabète de type 1 et 2, l'hypertension, et l'obésité sont associés à de nombreuses complications notamment un dysfonctionnement du système immunitaire et un stress oxydatif. Les objectifs de ce travail de doctorat sont de déterminer les conséquences métaboliques de ces pathologies et les effets in vitro de certaines vitamines (C, E) du NADH et de certains acides gras présents dans les huiles (huile d'olive, lin, nigelle et tournesol) sur la prolifération lymphocytaire, la sécrétion des cytokines et le statut redox intracellulaire. Des prélèvements sanguins sont réalisés chez 138 patients de sexe masculin dont 26 diabétiques de type 1, 15 diabétiques de type 2, 15 hypertendus, 32 obèses et 50 hommes témoins. Ces échantillons sont utilisés pour les dosages des paramètres biochimiques (glucose, urée, créatinine, triglycérides, cholestérol), et des marqueurs du statut oxydant/antioxydant (enzyme catalase, glutathion, MDA, protéines carbonylées). Les lymphocytes T sont isolés à partir du sang par centrifugation sur gradient de densité de l'histopaque, puis incubés en présence d'un agent mitogène (la Concanavaleine A), des vitamines, un coenzyme et des acides gras pendant 48 heures à 37°C et 5% CO₂, et sont par la suite utilisées pour analyser la prolifération, les cytokines et le statut redox intracellulaire.

Notre travail révèle l'existence de perturbations du métabolisme glucidique et lipidique associées à un déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante chez les hommes diabétiques, hypertendus et obèses. De plus, les effets immuno-stimulateurs des vitamines C, E et du NADH sur la prolifération et la fonction lymphocytaire, en plus de la restauration du statut redox sont mis en évidence aussi bien au cours du diabète que de l'hypertension et l'obésité. Nos résultats montrent aussi que les huiles ont des effets modulateurs différents selon le type de pathologies étudiées, associés à un effet antioxydant et anti-inflammatoire notamment en présence de l'huile de lin, de nigelle et d'olive. En conclusion, la supplémentation en vitamines, en NADH et en acides gras peut être bénéfique avec des effets positifs sur la fonction lymphocytaire et le stress oxydatif au cours des maladies métaboliques.

Mots-clés : Diabète sucré, Hypertension, Obésité, Vitamines (C, E), NADH, Huile de lin, Huile de nigelle, Huile d'olive, Huile de tournesol, Lymphocytes, Cytokines, Statut redox.

Abstract

Type 1 and 2 Diabetes, hypertension and obesity are associated with many complications including immune system dysfunction and oxidative stress. The objectives of this PhD work are to determine the metabolic consequences of these pathologies and the in vitro effects of some vitamins (C, E), NADH and fatty acids present in oils (olive, linseed, Nigella and Sunflower oils) on lymphocyte proliferation, cytokine secretion and intracellular redox status. Blood samples were taken from 138 male patients including 26 patients with type 1 diabetes, 15 with type 2 diabetes, 15 hypertensive patients, 32 obese patients, and 50 healthy men. These samples were used to determine biochemical parameters (glucose, urea, creatinine, triglycerides, cholesterol) and oxidant /antioxidant status markers (enzyme catalase, glutathione, MDA, carbonyl proteins). T lymphocytes were isolated from blood by centrifugation on histopaque density gradient, and incubated in the presence of a mitogen (Concanavalin A), vitamins, coenzyme and fatty acids for 48 hours at 37 ° C and 5% CO₂, and were subsequently used to analyze proliferation, cytokines and Intracellular redox status. Our work revealed disturbances of carbohydrate and lipid metabolisms associated with an imbalance of oxidative / antioxidant balance in diabetic, hypertensive and obese men. In addition, the immunostimulatory effects of vitamins C, E and NADH on proliferation and lymphocyte function, in addition to the restoration of redox status were demonstrated in diabetes, hypertension and obesity. Our results have also shown that oils have different modulating effects depending on the type of pathology studied, associated with an antioxidant and anti-inflammatory effect, especially in the presence of linseed, Nigella oils and olive oil. In conclusion, vitamin and fatty acids supplementation can have positive effects on lymphocyte function and oxidative stress during metabolic diseases.

Keywords: Diabetes mellitus, Hypertension, Obesity, Vitamins (C, E) NADH, Linseed oil, Nigella oil, Olive oil, Sunflower oil, Lymphocytes, Cytokines, Redox status.

ملخص

يشترك مرض السكري من النوع 1 و 2، ارتفاع الضغط الدموي و السمنة في مضاعفات كثيرة خاصة ضعف في جهاز المناعة و الاجهاد التأكسدي.

مستهدفات عمل هذه الدكتوراه هو تحديد الآثار الأيضية لهذه الحالات المرضية في المختبر، لبعض الفيتامينات (NADH (C, E), و بعض الأحماض الدهنية الموجودة في الزيوت (زيت الزيتون، زيت بذور الكتان، زيت الحبة السوداء و زيت عباد الشمس) على انتشار الخلايا للمفاوية ، إفراز السيتوكين و حالة الأكسدة و الاختزال داخل الخلايا للمفاوية. تم اخذ عينات دم ل 26 شخص من الرجال المصابين بالسكري من النوع 1، و عينات دم ل 15 شخص من الرجال المصابين بالسكري من النوع 2، و 15 مصاب بالضغط الدموي، و 32 مصابا بالسمنة و خمسون شخص سليم تم اخضاعهم لفحوصات بالقياسات الكيميائية (الجلوكوز، واليوريا، الكرياتينين، الدهون الثلاثية، و الكولسترول)، و علامات لحالات من الاكسدة / الأكسدة المضادة (إنزيم الكاتلاز، الجلوتاتيون، MDA ، وبروتين الكربونيل)، يتم عزل الخلايا للمفاوية T من الدم عن طريق الطرد المركزي و بالتدرج في كثافة l'Histopaque. يتم تحضين الخلايا للمفاوية T في وجود عامل mitogène (كونكانافالين A) و الفيتامينات, NADH و الأحماض الدهنية، لمدة 48 ساعة عند 37 درجة مئوية و 5% CO₂، وتستخدم لاحقا لتحليل التكاثر، و السيتوكين و حالة الأكسدة داخل الخلايا. تشير النتائج عن وجود اضطرابات في التمثيل الغذائي للجلوكوز المرتبطة باختلال توازن الأكسدة و الأكسدة المضادة عند الرجال الذين يعانون من مرض السكري وارتفاع ضغط الدم و السمنة. بالإضافة الى ذلك، الآثار المناعية المنشطة للفيتامينات C و E, NADH, و على التكاثر، و وظائف الخلايا للمفاوية بالإضافة إلى ترميم وضع الأكسدة و الاختزال و الذي تم شرحه و توضيحه، وكذلك من تأثيره في ارتفاع ضغط الدم السكري و السمنة. وتظهر نتائجنا أيضا أن للزيوت آثار تغييرية مختلفة و متنوعة وذلك اعتمادا على نوع المرض المدروس، مرتبط مع تأثير أحد المضادات للأكسدة خاصة في وجود زيت بذور الكتان و زيت الحبة السوداء و زيت الزيتون. في الختام يمكن القول إن مكملات الفيتامينات NADH و الأحماض الدهنية لها آثار إيجابية على وظيفة الخلايا للمفاوية و الأكسدة في الامراض الايضية.

الكلمات المفتاحية: مرض السكري من النوع 1 و 2، ارتفاع ضغط الدم ، السمنة، الفيتامينات (C, E), NADH, زيت الزيتون، زيت بذور الكتان، زيت الحبة السوداء و زيت عباد الشمس، الوظيفة للمفاوية، الأكسدة و الاختزال.

Table des Matières

Introduction	01
Etat actuel du sujet	06
1. Système immunitaire et fonction.....	06
1.1. Système immunitaire.....	06
1.2. Cytokines.....	09
2. Stress oxydatif.....	11
2.1. Définition et origine.....	11
2.2. Notion de stress oxydant.....	14
3. Effets immunologiques et antioxydantes du NADH.....	14
4. Effets immunologiques et antioxydants de la vitamine C.....	15
5. Effets immunologiques et antioxydantes de la vitamine E.....	16
6. Effets des AGPI	18
6.1. Différents types d'AGPI et leurs rôles.....	18
6.2. Huiles alimentaires.....	19
6.2.1. Huile d'olive.....	19
6.2.2. Huile de lin	21
6.2.3 Huile de nigelle	22
6.2.4. Huile de tournesol.....	22
7. Immunité, stress oxydatif, et pathologies	23
7.1. Diabète sucré.....	23
7.2. Obésité.....	30
7.3. Hypertension artérielle.....	37
Matériels et méthodes	41
1. population étudiée.....	41
2. Analyses biochimiques.....	42
2.1. Prélèvements sanguins et Préparation des échantillons.....	42
2.2. Détermination des teneurs plasmatiques en glucose.....	43
2.3. Détermination des teneurs plasmatiques en créatinine.....	43
2.4. Détermination des teneurs plasmatiques en urée.....	43
2.5. Détermination des teneurs en cholestérol.....	44
2.6. Détermination des teneurs en triglycérides.....	44

2.7. Détermination du statut oxydant / antioxydant.....	44
2.7.1. Dosage du Malondialdéhyde.....	44
2.7.2 Dosage des protéines carbonylées.....	45
2.7.3 Dosage du Glutathion réduit (GSH).....	45
2.7.4 Détermination de l'activité enzymatique antioxydante de la catalase.....	45
3. Etude in vitro.....	45
3.1. Choix des nutriments et du modèle d'étude in vitro.....	45
3.2. Isolement des lymphocytes.....	47
3.3. Test de transformation lymphoblastique (TTL).....	50
3.3.1. Comptage des lymphocytes.....	51
3.3.2. Détermination de la prolifération lymphocytaire par la méthode du MTT.....	51
3.4. Dosage des cytokines.....	51
3.4.1. Dosage des Interleukines 2 (IL-2).....	51
3.4.2. Dosage des Interleukines 4 (IL-4)	52
3.4.3. Dosage de l'interféron γ (INF γ)	52
3.5. Détermination des marqueurs du stress oxydatif au niveau des lymphocytes.....	52
3.5.1. Détermination des taux en Glutathion réduit des lymphocytes.....	52
3.5.2. Détermination de l'activité de la Catalase des lymphocytes.....	53
3.5.3. Teneurs en malondialdéhyde (MDA) des lymphocytes.....	53
3.5.4. Teneurs en Protéines Carbonylées des lymphocytes.....	53
3.5.5. Dosage de l'anion superoxyde lymphocytaire.....	53
4. Analyse statistique.....	53
Résultats et interprétation.....	54
1. Paramètres biochimiques chez la population étudiée.....	54
1.1. Teneurs plasmatiques en glucose, cholestérol et triglycérides chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses, et hypertendus.....	54
1.2. Teneurs plasmatiques en urée et en créatinine chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus.....	54
2. Statut oxydant / antioxydant chez la population étudiée.....	54
2.1. Teneurs érythrocytaires en malondialdéhyde et en protéines carbonylées chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus.....	54
2.2. Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et activité de la catalase chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus.....	58

3. Etude in vitro : effets des nutriments sur les cellules en culture.....	58
3.1. Cas du diabète de type 1.....	58
3.1.1. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération lymphocytaire.....	58
3.1.2. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines.....	59
3.1.3. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant.....	62
3.1.4. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant.....	63
3.2. Cas du diabète de type 2.....	66
3.2.1. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération lymphocytaire.....	66
3.2.2. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines.....	66
3.2.3. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant.....	69
3.2.4. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant...	70
3.3. Cas de l'hypertension.....	73
3.3.1. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération lymphocytaire.....	73
3.3.2. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines.....	73
3.3.3 Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant.....	76
3.3.4. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant...	77
3.4. Cas de l'obésité.....	80
3.4.1. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération lymphocytaire.....	80
3.4.2. Effets des différentes vitamines, du NADH et huiles sur la sécrétion des cytokines.....	80
3.4.3 Effets des différentes vitamines, du NADH et huiles sur le statut oxydant.....	83
3.4.4 Effets des différentes vitamines, du NADH et huiles sur le statut antioxydant.....	84
3.5. Formation des Micronoyaux chez les diabétiques de type 1, 2, hypertendus et obèses.....	87

Discussion.....	89
Conclusion.....	105
Références bibliographiques.....	108
Annexes.....	135

Liste des Tableaux

Tableau 1.	Principales espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant.....	11
Tableau 2.	Propriétés des principaux acides gras sur les facteurs de risque cardiovasculaire.....	20
Tableau 3.	Composition en acides gras et en vitamine E et K de l'huile d'olive de lin de nigelle, et tournesol.	24
Tableau 4.	Caractéristiques de la population étudiée.....	42
Tableau 5.	Composition des huiles utilisées.....	46
Tableau 6.	Taille et densité des cellules sanguines.....	48
Tableau 7.	Formation des micronoyaux dans les lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.....	77

Liste des Tableaux en annexes

Tableau A 1.	Paramètres plasmatiques biochimiques chez la population étudiée.....	137
Tableau A 2.	Marqueurs érythrocytaires du statut oxydant/antioxydant.....	138
Tableau A 3.	Indice de prolifération (IP) des lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.....	139
Tableau A 4.	Sécrétion de l'interleukine 2 (IL-2) par les lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.....	140
Tableau A 5.	Sécrétion de l'interleukine 4 (IL-4) par les lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.....	141
Tableau A 6.	Sécrétion de l'interféron gamma (INF- γ) par les lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.....	142
Tableau A 7.	Rapports TH1/TH2 (INF γ /IL-4) en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.....	143
Tableau A 8.	Marqueurs du statut oxydant des lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.....	144
Tableau A 9.	Marqueurs du statut antioxydant des lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.....	146

Liste des Figures

Figure 1.	Organisation tissulaire du système immunitaire.....	08
Figure 2.	Cytokines et lymphocytes.....	10
Figure 3.	Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.....	13
Figure 4.	Principaux sites cellulaires de production des ERO	13
Figure 5.	Relations entre hyperglycémie chronique, stress oxydant, facteurs de transcription redox-sensibles et accroissement du risque cardiovasculaire.....	29
Figure 6.	Mécanismes impliqués dans la genèse du stress oxydatif par l'hyperglycémie et l'élévation des acides gras libres.....	30
Figure 7.	Histoire naturelle de l'obésité.....	32
Figure 8.	Dépôts ectopiques de tissu adipeux et liens avec les comorbidités.....	34
Figure 9.	Relation entre obésité, stress oxydant et syndrome.....	37
Figure 10.	Méthode d'isolement et purification des lymphocytes.....	49
Figure 11.	Teneurs plasmatiques en glucose, cholestérol et triglycérides chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus	55
Figure 12.	Teneurs plasmatiques en urée et créatinine chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses, hypertendus et témoins.....	56
Figure 13.	Statut oxydant/antioxydant chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses, hypertendus et témoins.....	57
Figure 14.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération des lymphocytes in vitro chez les diabétiques de type 1 et leurs témoins.....	60
Figure 15.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (IL-2, IL-4, INF- γ) par les lymphocytes chez les diabétiques de type 1 et leurs témoins.....	61
Figure 16.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le rapport INF γ /IL-4 chez les diabétiques de type1 et leurs témoins.....	62
Figure 17.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant chez les diabétiques de type1 et leurs témoins.....	64
Figure 18.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant chez les diabétiques de type1 et leurs témoins.....	65
Figure 19.	Effets des différentes vitamines, du NADH et huiles sur la prolifération des lymphocytes in vitro chez les diabétiques de type 2 et leurs témoins.....	67

Figure 20.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (IL-2, IL-4, INF- γ) par les lymphocytes chez les diabétiques de type 2 et leurs témoins.....	68
Figure 21.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le rapport INF γ /IL-4 chez les diabétiques de type2.....	69
Figure 22.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant chez les diabétiques de type 2 et les témoins.....	71
Figure 23.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant chez les diabétiques de type 2 et les témoins.....	72
Figure 24.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération des lymphocytes in vitro chez les hypertendus et leurs témoins.....	74
Figure 25.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (IL-2, IL-4, INF- γ) par les lymphocytes chez les hypertendus et leurs témoins.....	75
Figure 26.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le rapport INF γ /IL-4 chez les hypertendus et les témoins.....	76
Figure 27.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant chez les hypertendus et les témoins.....	78
Figure 28.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant chez les hypertendus et les témoins.....	79
Figure 29.	Effets des différentes vitamines, du NADH et huiles sur la prolifération des lymphocytes in vitro chez les obèses et leurs témoins.....	81
Figure 30.	Effets des différentes vitamines, du NADH huiles sur la sécrétion des cytokines (IL-2, IL-4, INF- γ) par les lymphocytes chez les obèses et leurs témoins.....	82
Figure 31.	Effets des différentes vitamines, du NADH et huiles sur le rapport INF γ /IL-4 chez les obèses.....	83
Figure 32.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant chez les obèses et les témoins.....	85
Figure 33.	Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant chez les obèses et les témoins.....	86

Liste des Abréviations

AA : acide arachidonique

ADN : Acide désoxyribonucléique

AG : Acides gras

AGMI: Acides gras mono-insaturés

AGPI : Acides gras polyinsaturés

AGS : Acides gras saturés

ALA : Acide alpha linoléique

ANG-II : Angiotensine II

AO : Acide oléique

CD4+: Lymphocyte T auxiliaire (en anglais Helper)

CD8+: Lymphocyte T cytotoxique

CO₂ : Dioxyde de carbone

Con A: Concanavaline A

CPA: Cellule présentatrice de l'antigène

CRP : Protéine C réactive

DHA: Acide docosahexaénoïque

DNPH: Dinitrophénylhydrazine

DOCA : Acétate de désoxycorticostérone

EDTA: Acide éthylène diamine tétracétique

EOR: Espèces oxygénées réactives

EPA: Acide eicosapentaénoïque

ERO: Radicaux libres

GSH: Glutathion réduit

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

HCl: Acide chlorhydrique

HDL: Lipoprotéines de haute densité

HEPES : Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique

HL : huile de lin

HN : huile de nigelle

HO : huile d'olive

HT : huile de tournesol
HTA : Hypertension
IFN- γ : Interféron gamma
IL: Interleukine
IL-1b : Interleukin 1 beta
IMC: Index de masse corporelle
MTT: Thiazolyl bleu tétrazolium
NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide
NADH: Nicotinamide adénine dinucléotide réduit
NK: Natural killer
NO: Monoxyde d'azote
PAD : Pression artérielle diastolique
PAS : Pression artérielle systolique
RPMI : Roswell Park Memorial Institute medium
TBA: Acide thiobarbiturique
TCA: Acide Trichloroacétique
TGF : Facteur de croissance transformant
Th1 : T helper 1
Th2 : T helper 2
TLR: Récepteur Toll-Like
TNF: Facteurs de nécrose tumorale
TTL: Test de transformation lymphocytaire

AVANT PROPOS

Avant-propos

Le travail présenté dans cette thèse de doctorat a été réalisé au sein du laboratoire PPABIONUT Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition, Université de Tlemcen en collaboration avec le laboratoire de Biotoxicologie, Université de Sidi Bel Abbas. Ce travail a fait l'objet de 2 publications internationales et a été présenté par des communications lors des congrès scientifiques nationaux et internationaux.

Publications Internationales

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Amel Saidi, Amel Medjdoub, Sid Ahmed Merzouk, Slimane Belbraouet.

Vitamins C, E, and NADH on *in vitro* lymphocyte proliferation and redox status among obese patients. **Food and Nutrition Sciences**. 2016; 7: 1082-1098.

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Amel Saidi, Amel Medjdoub, Sid Ahmed Merzouk, Benali Mahmoud, Slimane Belbraouet

In vitro effects of oil's fatty acids on T-Cell function of obese men. **Food and Nutrition Sciences**. 2017 *In-press*.

Communications Nationales et Internationales

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Slimane Belbraouet, Amel Medjdoub.

Effet de la vitamine C *in vitro* sur la prolifération lymphocytaire et la sécrétion de cytokine (IL-2) au cours du diabète type 2. Journées internationales de cancérologie. Constantine, 2016

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Slimane Belbraouet, Amel Medjdoub. Les effets bénéfiques des AGMI contenus dans l'huile d'olive et de la vitamine C *in vitro* sur la prolifération lymphocytaire et la balance oxydante / antioxydante lors du diabète de type 2. The First International Congress of Nutrition & Food Science «from Bench to Bedside». Tlemcen, 2015.

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Slimane Belbraouet, Amel Medjdoub. Détermination du statut redox chez des patients diabétiques de type 1. 5^{ème} Congrès de biologie médicale et médecine de laboratoire. Alger, 2015.

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Slimane Belbraouet, Amel Medjdoub. Impacte de l'association des AGPI contenus dans l'huile de lin et les tocopherols sur la prolifération lymphocytaire durant le diabète. 2^{ème} journée international des sciences de l'agriculture, environnement et santé. Tlemcen, 2015.

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Slimane Belbraouet, Amel Medjdoub. La balance oxydante-anioxydante chez des patients diabétiques de type 2. Deuxième journée nationale du département de pharmacie. Tlemcen, 2015.

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Slimane Belbraouet, Amel Medjdoub. Les effets des AGPI contenus dans l'huile de lin et la vitamine C in vitro sur la prolifération lymphocytaire et la balance oxydante-antioxydante au cours du DT2. Premières journées nationales de médecine interne. Sidi Bel Abbès, 2015.

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Slimane Belbraouet, Amel Medjdoub. Effet de l'huile de nigelle in vitro sur la prolifération lymphocytaire et le statut oxydant-antioxydant Durant le diabète de type 2. 1^{er} séminaire nationale "biologie et santé" (1^{er} SNBS), 2015.

Asmaa Meraou, Hafida Merzouk, Slimane Belbraouet, Amel Medjdoub.

Effet de l'huile d'olive et de la vitamine E sur la prolifération des lymphocytes in vitro lors du diabète. Journées internationales sur la nutrition et santé. Constantine, 2014

INTRODUCTION

Le diabète, l'hypertension et l'obésité sont actuellement un véritable problème de santé publique à l'échelle mondiale. Leur prévalence est en augmentation constante, touchant des millions d'adultes et d'enfants dans les pays développés et en voie de développement. Ces pathologies sont considérées comme un état de désordre métabolique caractérisé par des perturbations du métabolisme glucidique, lipidique et protéique, associée à des complications physiologiques et physiopathologiques.

Le terme diabète sucré regroupe des maladies hétérogènes aux niveaux génétiques et cliniques, l'hyperglycémie étant leur symptôme commun. A l'échelle mondiale, on estime que 422 millions d'adultes vivaient avec un diabète en 2014, comparé à 108 millions en 1980. Ces chiffres soulignent l'énorme ampleur du problème du diabète ainsi que la possibilité d'inverser les tendances actuelles (OMS, 2016). Le diabète est lié à une carence relative ou absolue en insuline endogène ou à un défaut d'action ou aux deux conjugués. Sans insuline, le glucose s'accumule dans le sang ce qui peut entraîner de graves complications sur le long terme, telles que des maladies cardiaques ou des dommages rénaux ou oculaires.

Il existe plusieurs formes de diabète soit le pré-diabète, le diabète de type 1, de type 2, le diabète de grossesse et d'autres types plus rares. Le diabète de type 1 est, la plupart du temps, diagnostiqué chez les enfants ou les adolescents, il est dû à la destruction des cellules bêta du pancréas attribuable à un processus à médiation immunitaire qui est probablement déclenché par des facteurs environnementaux chez les personnes génétiquement prédisposées (Ekoé et al., 2013). Selon l'OMS (2016), le diabète de type 2 est considéré aujourd'hui comme le mal du siècle. Cette maladie métabolique chronique, liée aux changements de mode de vie et d'habitudes alimentaires de ces 30 dernières années, voit en effet son incidence croître de manière exponentielle et représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et de la sédentarité.

L'hypertension artérielle (HTA) est un problème de santé fréquent dont les conséquences peuvent être graves pour les individus et sont très lourdes pour la population (Steinch et al., 2013; El-Hassar et al., 2015). L'HTA est l'un des principaux facteurs de cardiopathie et d'accident vasculaire cérébral. C'est une maladie dans laquelle les vaisseaux sanguins subissent en permanence une pression élevée, ce qui peut les endommager. L'HTA est aussi associée à des affections qui, réunies, constituent la première cause de décès prématuré et de handicap dans le monde. D'après les études, l'hypertension contribue chaque année à la survenue de près de 9,4 millions de décès par maladie cardiovasculaire. Elle accroît également le risque de souffrir d'accidents vasculaires cérébraux, d'insuffisance cardiaque,

d'insuffisance rénale et de maladies coronaires (Lawes et al., 2008; Abboud et Henrich, 2010; OMS, 2013).

L'accumulation excessive de graisse corporelle est liée à plusieurs problèmes de santé et de troubles métaboliques, y compris la résistance à l'insuline, le diabète sucré, la dyslipidémie, et les troubles cardio-vasculaires (Dixon, 2010). L'obésité est une pathologie chronique complexe tant sur le plan physiopathologique que dans la prise en charge. Elle concerne aujourd'hui la quasi-totalité de la planète, y compris de nombreux pays émergents. Selon l'OMS, 35 % des adultes dans le monde sont atteints d'obésité ou de surpoids.

Plusieurs études ont montré que le diabète sucré, l'hypertension et l'obésité sont associées à un état inflammatoire chronique qui peut contribuer au développement de nombreuses comorbidités liées à l'hyperglycémie, aux troubles du métabolisme des lipides, à des altérations de la fonction tissulaire, et à de nombreux autres troubles métaboliques (Canello et al., 2006; Fain, 2006; Xu et al., 2008; Duclos, 2009; Adeyemi et al., 2009).

Un dysfonctionnement immunitaire est souvent observé dans le diabète, l'hypertension et l'obésité, avec des taux élevés d'infections, une faible prolifération lymphocytaire et une sécrétion anormale de nombreuses cytokines, qui sont des régulateurs importants de la fonction immunitaire, en particulier IL-2 et IL-4, et l'INF- γ qui jouent un rôle crucial dans l'activation, la prolifération et la différenciation des lymphocytes selon des études antérieures (Patel et al., 2013; Foss et al., 2008; Marti et al., 2001). Les lymphocytes T sont impliqués dans l'étiologie et le développement de l'hypertension artérielle et jouent un rôle important dans la régulation immune (Harrison et al., 2011). De plus, une altération de la prolifération et de la fonction des lymphocytes in vitro au cours du diabète et de l'obésité a été déjà observée (O'Rourke et al., 2005; Djelti et al., 2015).

Ces quatre pathologies sont également reconnues comme étant un état de stress oxydatif chronique lié à des défenses antioxydantes inadéquates et à une augmentation de la formation de radicaux libres (Bonfont-Rousselot, 2004; Karaouzene et al., 2010; El-Hassar et al., 2015). Ce processus biologique, connu sous le nom générique de « stress oxydant », est aujourd'hui au centre de plusieurs pathologies telles que le cancer, les maladies métaboliques, les maladies cardiovasculaires ou neuro-dégénératives. De plus, le stress oxydatif et l'inflammation sont deux processus étroitement liés et qui sont présents dans tous les désordres vasculaires associés à l'HTA, présents aussi au cours du diabète et l'obésité. Ces deux éléments agissent dans un cercle vicieux, puisque le stress oxydatif stimule l'inflammation via la production des cytokines, l'adhésion moléculaire ainsi que l'activation et

la prolifération des lymphocytes. Quant à l'inflammation, elle peut être à l'origine d'un stress oxydatif en favorisant la production des radicaux libres oxygénés (Dinh et al., 2014).

La compréhension des mécanismes de déclenchement et de développement des pathologies métaboliques, la mise au point de diagnostics cliniques précoces et l'évaluation de l'efficacité des protocoles thérapeutiques sont des domaines qui nécessitent des outils correctifs fiables pour prévenir les complications graves et améliorer la qualité de vie des malades.

Un des moyens privilégiés dans cette quête fait appel aux micronutriments tels que les vitamines, le NADH et les acides gras polyinsaturés qui sont essentiels à l'acquisition et au maintien de l'immunocompétence et à la stabilité de la balance oxydante / antioxydante. En effet, l'efficacité du système immunitaire est dépendante du statut nutritionnel et les études montrent que chez les personnes ayant un faible statut nutritionnel, les défenses immunitaires sont perturbées. Des suppléments nutritionnels contenant des vitamines et certains acides gras permettent de renforcer l'efficacité du système immunitaire, de lutter contre les infections et le stress oxydatif (Wintergerst et al., 2007; Katona et Katona-Apte, 2008).

Les vitamines C, E et le NADH peuvent participer comme antioxydants dans la modulation du système immunitaire et la protection contre les radicaux libres. Elles constituent une ligne de défense forte pour retarder les lésions cellulaires induites par les espèces réactives oxygénées. Elles sont impliquées dans diverses fonctions biologiques comme la prolifération des lymphocytes, la production de cytokines, la protection contre l'apoptose cellulaire et contre les dommages induits par les oxydants exogènes ou endogènes, le métabolisme énergétique, la fonction mitochondriale, l'homéostasie du calcium et l'expression des gènes (Cavallini et al., 1983; Fenech et al., 1997; Serafini, 2000; Olek et al., 2004; Ying, 2008; Strohle et al., 2009; Yasir et al., 2009; Molina et al., 2014).

Bien que les données précédentes fournissent des informations sur les rôles importants immunitaires et antioxydants des vitamines (C, E) et du NADH, il n'existe aucune information directe sur l'effet de ces micronutriments sur la réponse immunitaire durant les pathologies métaboliques comme le diabète, l'hypertension et l'obésité.

D'autre part, de grands progrès ont été accomplis dans nos connaissances des mécanismes physiologiques et moléculaires des acides gras polyinsaturés (AGPI) et mono-insaturés (AGMI) contenus dans différents huiles comme l'huile de lin, d'olive, de Nigél et de tournesol sur diverses pathologies et sur la santé humaine en générale. Les acides gras sont des constituants biologiques importants qui jouent un rôle dans le métabolisme, la structure et la signalisation où ils peuvent exercer des effets bénéfiques au cours de diverses pathologies.

Il a été démontré que les acides gras peuvent modifier les paramètres biophysiques des membranes cellulaires, y compris la fluidité, la perméabilité ainsi que la division cellulaire, la transduction de signal, les activités protéiques membranaires et le contrôle antiprolifératif. Ces acides gras ont aussi des effets favorables sur le processus de coagulation, l'inflammation, et dans la réduction de la glycémie à jeun et l'amélioration de la sensibilité à l'insuline. Il a été démontré aussi leur implication dans la prévention des maladies cardiovasculaires (Siegel et Ermilov, 2001; Covaset al., 2006; Lavie et al., 2009). Différentes études précédentes ont montré que les AGPI modulent la prolifération des lymphocytes, la sécrétion des cytokines et la fonction lymphocytaires (Stulnig, 2003). Ces effets sont aussi observés au cours du diabète, de l'hypertension et de l'obésité (Clarke, 2001; Merzouk et al., 2008; Djelti et al., 2015; Baba Ahmed et al., 2016). Différentes huiles comme l'huile de lin, d'olive, de Nigella et de tournesol sont consommées dans les pays méditerranéens. Ces huiles contiennent des acides gras mono-insaturés et polyinsaturés avec des rapports différents. Les études précédentes ont utilisées des acides gras purifiés à partir des huiles, ce qui rend les résultats difficiles à extrapoler à l'homme. Pour imiter la consommation humaine, nous avons utilisé directement ces huiles, au lieu des acides gras purifiés, pour évaluer leurs effets sur la fonction immunitaire et le statut redox.

Les carences en micronutriments induisent également des modifications défavorables de la fonction immunitaire (Katona et Katona-Apte, 2008) qui peuvent affecter la réponse immunitaire innée des cellules T et la réponse immunitaire adaptative (Wintergerst et al., 2007). Ces carences en micronutriments peuvent influencer plusieurs fonctions physiologiques avec une atteinte du système immunitaire (Garcia et al., 2009). Plusieurs études ont donc porté sur les effets des suppléments sur la modulation immunitaire (Farhangi et al., 2013; Shaik-Dasthagirisaheb et al., 2013). Cependant, les études portant sur la modulation immunitaire lors des maladies métaboliques restent rares et incomplètes. En effet, l'ensemble des effets immuno-modulateurs des vitamines, du NADH et des acides gras n'a pas été réuni dans la littérature sur le sujet, notamment en Algérie, ce qui confère à ce travail une certaine originalité.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de thèse de doctorat qui vise à évaluer les effets *in vitro* des vitamines, du NADH et des acides gras essentiels et leurs rôles correcteurs des anomalies immunologiques au cours du diabète de type 1 et 2, de l'hypertension et de l'obésité. Dans un premier temps, les modifications du métabolisme et celles du statut oxydant/antioxydant sont étudiées chez les malades et leurs témoins sélectionnés dans la

région de Tlemcen. Dans un deuxième temps, l'utilisation d'un modèle d'étude in vitro, les lymphocytes T isolés à partir du sang et incubés en présence de différentes vitamines (C, E), le NADH et les huiles (huile de lin, olive, nigelle, tournesol), permettra d'éclaircir les effets bénéfiques de ces nutriments, notamment immuno-modulateurs, antioxydants et anti-inflammatoires au cours du diabète, de l'hypertension et de l'obésité.

ETAT ACTUEL SUR LE SUJET

1. Système immunitaire et fonction

1.1. Système immunitaire

Le système immunitaire est d'une importance capitale pour la survie de l'homme, il regroupe l'ensemble des mécanismes de défense de l'organisme pour lutter contre l'attaque des substances menaçantes. Il assure cette fonction en étroite relation avec les autres systèmes : physiologique, nerveux et endocrinien avec lesquels il communique par l'intermédiaire des médiateurs solubles (hormones, cytokines ...) et les récepteurs spécifiques communs à ces systèmes.

Le système immunitaire contribue au maintien de l'intégrité de l'organisme par la tolérance de tout ce qui lui appartient en propre (le soi) et l'exclusion des constituants étrangers (le non soi), notamment les substances étrangères ou les agents infectieux auxquels il est exposé. Le système immunitaire est organisé autour de deux composantes : l'immunité innée et l'immunité adaptative qui se distinguent en raison de la nature profondément différente de leurs effecteurs et des mécanismes de mise en œuvre. Auparavant, on parlait d'immunité non spécifique pour l'immunité innée et d'immunité spécifique pour l'immunité adaptative. L'immunité innée ou naturelle transmise par le génome du père et de la mère est opérationnelle dès la naissance. Elle repose sur des moyens physiques tels que les barrières physiques cutanées et muqueuses, des moyens chimiques comme le pH acide du vagin et de l'estomac, les flux de divers liquides comme les larmes, les sécrétions nasales ou vaginales, l'urine, des films muqueux au pouvoir «collant», des molécules directement ou indirectement germicides très nombreuses parmi lesquelles le lysozyme, la lactoferrine, les défensines, les interférons, le système du complément, des cellules des revêtements, du sang et des tissus comme les polynucléaires (PN), les monocytes, les macrophages et les lymphocytes NK.

Ce système est très ancien en terme d'évolution et les molécules impliquées sont particulièrement bien conservées entre les espèces. Chez les vertébrés, ce système est complété par l'immunité adaptative ou acquise, plus récente en terme d'évolution,

À l'opposé, l'immunité adaptative ou acquise, que chaque individu doit mettre en place dès sa naissance puis enrichir et entretenir, est la résultante d'une sorte d'apprentissage consécutif à la rencontre au fur et à mesure de nouveaux antigènes. L'immunité adaptative apparue plus tard développe des moyens plus élaborés d'une très étroite spécificité, elle constitue le support de la mémoire immunologique et utilise des récepteurs spécifiques codés par des réarrangements géniques. On la subdivise en immunité humorale celle des anticorps produits par les lymphocytes B et les plasmocytes et en immunité cellulaire celle des lymphocytes T, eux même subdivisés en nombreuses sous-populations. Parmi les plus anciennement identifiées, les T CD8

cytotoxiques qui tuent les cellules infectées ou anormales et les T CD4 qui stimulent et régulent les CD8 et les lymphocytes B. Les T CD4 sont ainsi appelés les amplificateurs ou auxiliaires ou helper. Mais, ils peuvent à l'opposé inhiber les réponses T ou B rendant ainsi les individus tolérants à certains antigènes. Ces lymphocytes inhibiteurs décrits initialement comme suppresseurs sont dits à présent T régulateurs (Treg). La principale différence entre les cellules des deux immunités réside dans leur équipement en détecteurs membranaires. Dans leur activité effectrice, les actions sont parfois tranchées: ingestion suivie de « digestion » par les polynucléaires et les macrophages d'un côté, injection de substances cytotoxiques par les lymphocytes T. Parfois au contraire, les moyens sont très proches voire identiques comme la production de cytokines par les T auxiliaires helper, les nuocytes et d'autres cellules de l'immunité innée (Jeannin et al., 2010; Neil et al., 2010; Abbal et al., 2013).

Certaines cellules de l'immunité innée dégradent l'agent pathogène ou la molécule incriminée en peptides et acides aminés. Les macrophages et surtout les cellules dendritiques (DC) vont assurer en plus la fonction essentielle de relais avec l'immunité adaptative en présentant des peptides issus de l'antigène aux lymphocytes spécifiques qui produiront une réponse adaptée (Jeannin et al., 2010; Neil et al., 2010; Lepargneur et al., 2012; Abbal et al., 2013).

Le tissu lymphoïde est formé par l'ensemble des organes où résident les lymphocytes et d'autres cellules du système immunitaire, On différencie deux types d'organes lymphoïdes : primaires et secondaires (Figure 1).

Les lymphocytes activent des programmes différents face au non-soi et au soi. En effet, après reconnaissance du non-soi, les lymphocytes acquièrent leurs fonctions effectrices et ceci afin de défendre notre organisme. En revanche, ils ne doivent pas acquérir leurs fonctions effectrices face au soi, au risque de s'attaquer à notre propre organisme. Toutefois, en absence de pathogène, les lymphocytes doivent rester prêts à réagir contre le non-soi; leur statut de vigilance est maintenu par leurs interactions avec le soi. Ainsi, la distinction entre non-soi et soi apparaît comme cruciale pour l'efficacité de la réponse immunitaire adaptative. Cette distinction est permise par l'interaction des lymphocytes avec des cellules présentatrices de l'antigène au moment de leur génération dans les organes lymphoïdes primaires et intervient lors de la rencontre avec les antigènes du non-soi ou du soi dans les organes lymphoïdes secondaires puis tertiaires.

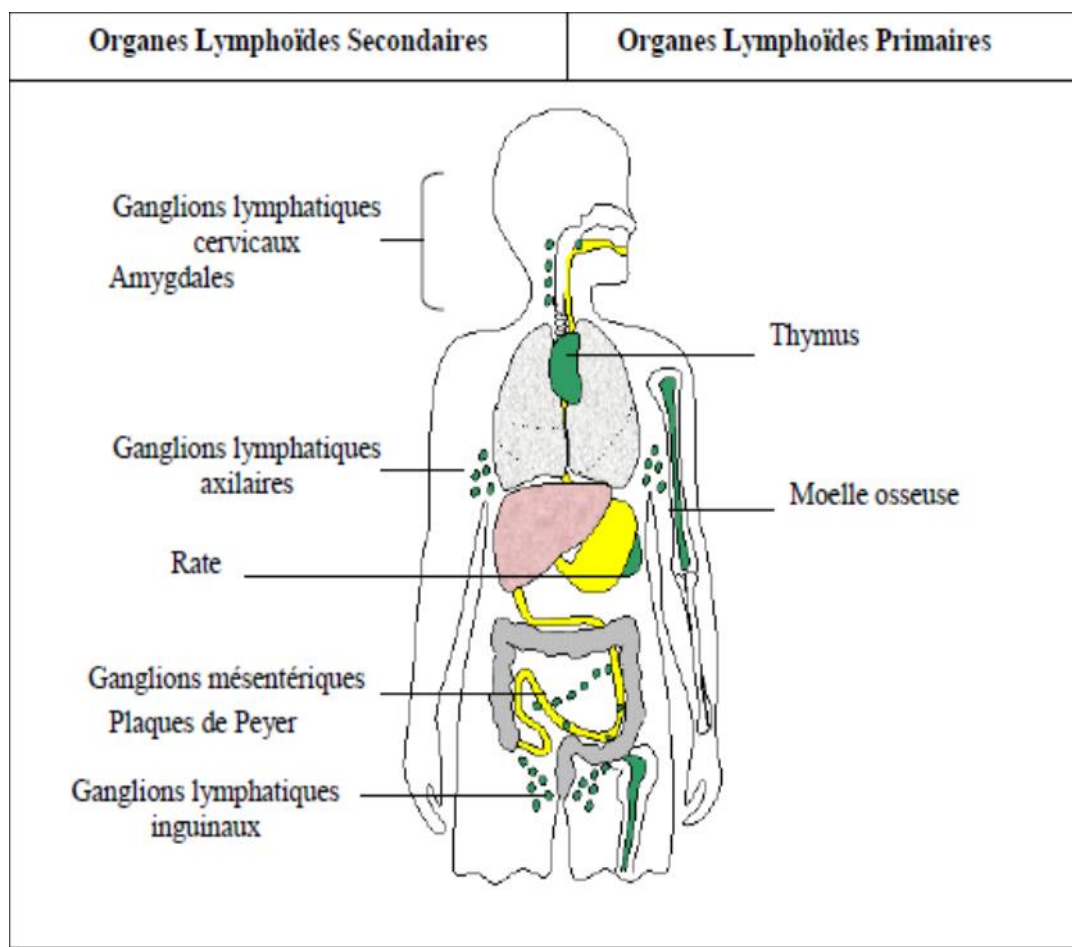


Figure 1. Organisation tissulaire du système immunitaire (Bergereau, 2010)

Deux populations de lymphocytes coexistent dans l'organisme sur la base de leur fonction et des constituants de leur membrane cellulaire: les lymphocytes B et T. Les lymphocytes B (LB) sont essentiellement impliqués dans la synthèse d'anticorps et dans l'immunité spécifique, ils sont donc responsables de l'immunité humorale. Pour être actifs, d'autres cellules telles que les macrophages, doivent leur présenter des fragments d'antigène, afin qu'ils se différencient en plasmocytes. Ces lymphocytes possèdent de nombreuses vésicules de Golgi, qui permettent de fabriquer des anticorps en masse, afin de neutraliser efficacement les antigènes. Les lymphocytes T (LT), schématiquement divisés en cellules auxiliaires et en cellules cytotoxiques, conduisent à une immunité cellulaire. Contrairement aux cellules de l'immunité innée, elles vont reconnaître les agents pathogènes de manière spécifique grâce à leur récepteur pour l'antigène, le TCR (T Cell Receptor). Les précurseurs des lymphocytes T donnent naissance à des lymphocytes CD4 (régulateurs) et CD8 (cytotoxiques ou suppresseurs). Les lymphocytes CD8 exercent des fonctions cytotoxiques qui leur permettent d'éliminer les

cellules infectées par les pathogènes intracellulaires. Ils libèrent essentiellement de l'IFN- γ et du TNF- α . Leur implication dans les maladies inflammatoires est mal connue, et semble *a priori* mineure. Les cellules présentatrices d'antigènes, quant à elles, sont en charge de capturer l'antigène, qu'il soit intra ou extracellulaire et de le présenter aux lymphocytes afin d'initier cette réponse adaptative.

Les lymphocytes CD4 jouent en revanche un rôle régulateur majeur dans la réponse immunitaire et inflammatoire par la libération de cytokines spécifiques. Différentes sous-populations de lymphocytes T ont été identifiées: les cellules T helper précurseurs (Thp) qui se différencient, selon l'environnement cytokinique, en cellules de type Th1 avec un profil de sécrétion pro-inflammatoire (IL-2, IFN- γ , TNF- α), Th2 avec un profil anti-inflammatoire (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) ou Th3 (encore appelées Tr1 ou lymphocytes T régulateur), libérant du Transforming Growth Factor β (TGF- β) et de l'IL-10 (Janeway et al., 2001).

Les lymphocytes NK sont des cellules de l'immunité innée des mammifères capables de lyser des cellules étrangères à l'organisme infectées par des virus ou des cellules cancéreuses de manière indépendante de l'antigène et sans activation préalable.

1.2. Cytokines

Les cytokines sont impliquées dans la régulation des réponses immunitaires innées et adaptatives. Ce sont des facteurs de communication intercellulaire, qui sont produits par de nombreuses catégories de cellules, et agissent, localement ou à distance, sur de très nombreux types cellulaires. De par leurs propriétés hématopoïétiques, régulatrices sur l'adhésion des cellules effectrices de l'immunité aux cellules endothéliales, chimiotactiques et activatrices, elles jouent un rôle déterminant dans les réactions inflammatoires non spécifiques et les réactions d'hypersensibilité induites par des antigènes variés (Ponvert et al., 1997).

Les principales cellules productrices et cibles des cytokines sont les cellules impliquées dans les réponses immunitaires et les réactions inflammatoires et d'hypersensibilité (cellules présentatrices d'antigènes, les monocytes et les macrophages, les lymphocytes T et B, les polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles, les mastocytes, etc.) (Ponvert et al., 1997; Béné, 2014). Les cytokines sont capables de stimuler ou d'inhiber la prolifération ou la survie cellulaire, d'orienter la différenciation, plus spécialement celle des lymphocytes T, ou d'activer les fonctions ou les capacités migratoires de cellules cibles (Béné, 2014).

La classification actuelle des cytokines, adoptée depuis 1974, ne tient pas compte de leur origine, et ne fait pas (ou que peu) intervenir leurs propriétés biologiques (Figure 2).

On distingue les interleukines (IL-1 ~ 16), les interférons (IFNs), les facteurs de croissance comme le CSF (Colony-stimulating factor) et le GF (Growth factor), les facteurs transformant/inhibant la croissance cellulaire (TGF, transforming-growth factors), les facteurs de nécrose (TNF, tumor necrosis factors), des facteurs pro-inflammatoires divers (chémokines notamment) et des cytokines inhibitrices diverses (Ponvert et al., 1997).

La production et l'activité biologique des cytokines sont physiologiquement contrôlées par un certain nombre de mécanismes exerçant des effets opposés : c'est ainsi, par exemple, que l'IL-4, produite par les lymphocytes Th2, inhibe la présentation des antigènes aux lymphocytes Th1 et, par la même, l'activation de ces cellules et la production d'IFN- γ . Il en est d'ailleurs de même pour l'IL-10, une cytokine également produite par les lymphocytes Th2. A l'inverse, l'IFN- γ s'oppose à l'activation des lymphocytes Th2, et donc à la production d'IL-4 et d'IL-10. Les cytokines modulent les réponses immunitaires, tantôt en les amplifiant, tantôt en les inhibant, par leurs actions en tant que facteurs hématopoïétiques (contrôle de la prolifération et de la différenciation des cellules présentatrices d'antigènes et des lymphocytes), ainsi que par leurs effets régulateurs sur l'activité de ces cellules (Ponvert et al., 1997).

Au niveau pathologique, un déséquilibre orienté vers un type cellulaire Th1 ou Th2 a été mis en évidence dans la plupart des maladies inflammatoires chroniques. La balance lymphocytaire pourrait constituer l'une des cibles d'intervention thérapeutique.

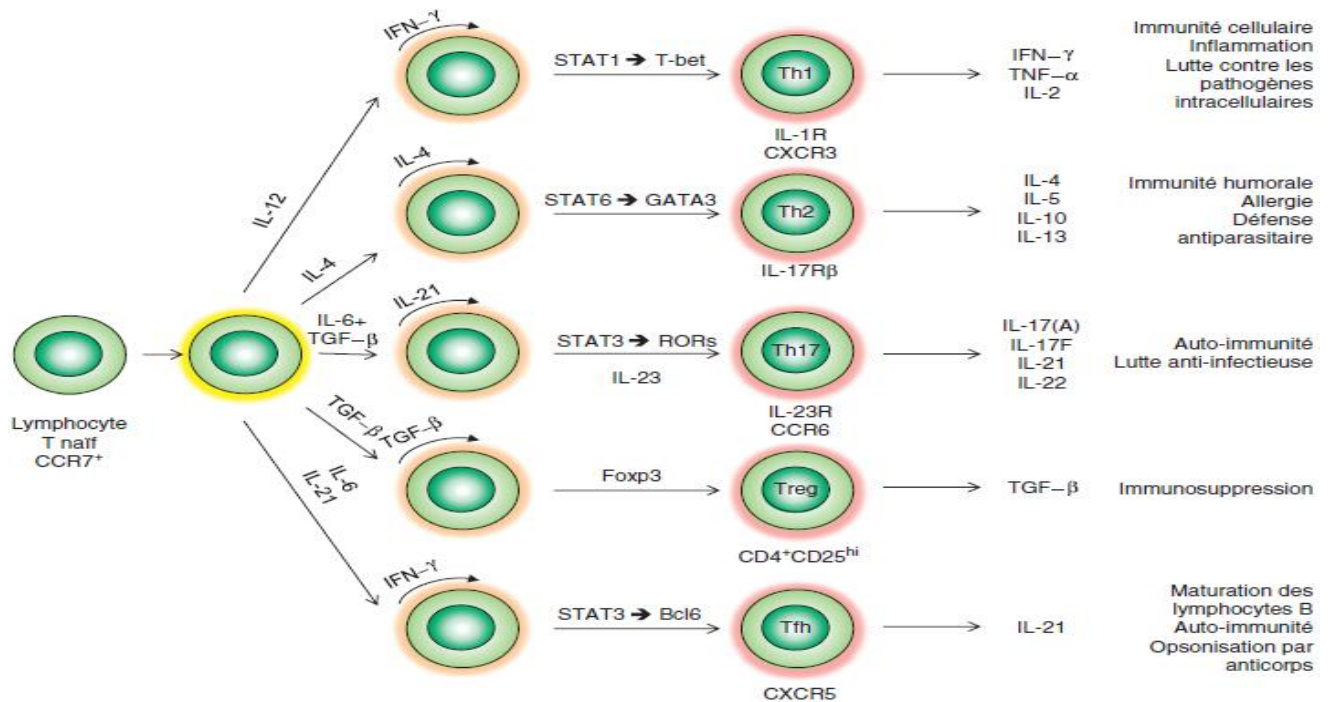


Figure 2. Cytokines et lymphocytes (Béné, 2014)

2. Stress oxydatif

2.1. Définition et origine

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traverse parfois les cellules ou les tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui outrepassent leurs capacités antioxydantes (Favier, 2006). Il résulte d'un déséquilibre entre les espèces pro-oxydantes et antioxydantes se traduisant par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires, les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation (Durand et al., 2013). Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants (Sergent et al., 2000).

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique, rendant ainsi cette espèce chimique particulièrement instable. Lorsque cet électron célibataire est situé sur un atome d'oxygène, on parle alors « d'espèces réactives de l'oxygène » (ERO) ou « reactive oxygen species » (ROS) (Durand et al., 2013).

Le terme ROS fait référence à plusieurs types de métabolites réactifs à l'oxygène tels que les radicaux libres et d'autres non-radicalaires tel que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Wiseman et al., 1996). Les principales espèces radicalaires centrées sur l'oxygène sont rapportées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Principales espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant (Beaudeau et Vasson, 2005)

O₂^{•-}	Radical superoxyde
HO₂[•]	Radical perhydroxyle
•OH	Radical hydroxyle
ROO[•]	Radical peroxyde
RO[•]	Radical alkoxyde

Ces ERO sont générés soit par réduction incomplète de l'oxygène au niveau de la mitochondrie (principalement lors de situation entraînant une sur-activation de la chaîne respiratoire comme dans le cas de l'effort physique) ou par différents systèmes enzymatiques et dans ce cas on parle d'ERO primaires dont le principal est l'anion superoxyde.

Les principaux complexes enzymatiques impliqués sont la NADPH oxydase membranaire, la xanthine oxydase, les enzymes de la voie de l'acide arachidonique (lipooxygénase, cyclo-oxygénase), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et du peroxyosome (Figure 3). Ces systèmes enzymatiques sont activés lors de nombreuses situations physiologiques ou environnementales comme l'inflammation, les épisodes infectieux, l'exposition à des toxiques ou à des xénobiotiques. À partir de ces ERO primaires, toute une série d'ERO secondaires (radicaux hydroxyle, peroxyde et alkoxyde) et d'espèces non radicalaires (peroxyde d'hydrogène, ozone. . .) peut être formée. Le radical superoxyde est celui qui a la réactivité la plus faible vis-à-vis des autres molécules. En revanche le radical hydroxyle est un puissant oxydant, son potentiel d'oxydoréduction est important et que sa vitesse de réaction est élevée. Les ERO ont la capacité à oxyder les molécules biologiques comme les glucides, les acides nucléiques, les lipides et les protéines. Les ERO peuvent oxyder un substrat selon trois modes d'action: arrachement d'un électron, arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique, ou l'addition sur une double liaison (Durand et al., 2013). La production des radicaux libres est permanente mais faible (sous la forme de médiateurs tissulaires ou de résidus des réactions énergétiques ou de défense). Une telle production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, lesquels sont adaptatifs par rapport au niveau des radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (Favier, 2006) (Figure 4).

Le stress oxydant peut résulter d'une défaillance des systèmes antioxydants protégeant l'organisme d'un effet néfaste des radicaux libres. Ces antioxydants sont de nature diverse et agissent en synergie soit en se sacrifiant pour piéger l'électron célibataire d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant, soit en réduisant enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène. Certains antioxydants piègeurs proviennent de l'alimentation comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), les caroténoïdes ou les polyphénols. Il existe aussi des piègeurs endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle.

Le plus important d'entre eux est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le NO (monoxyde d'azote) (Favier, 2006).

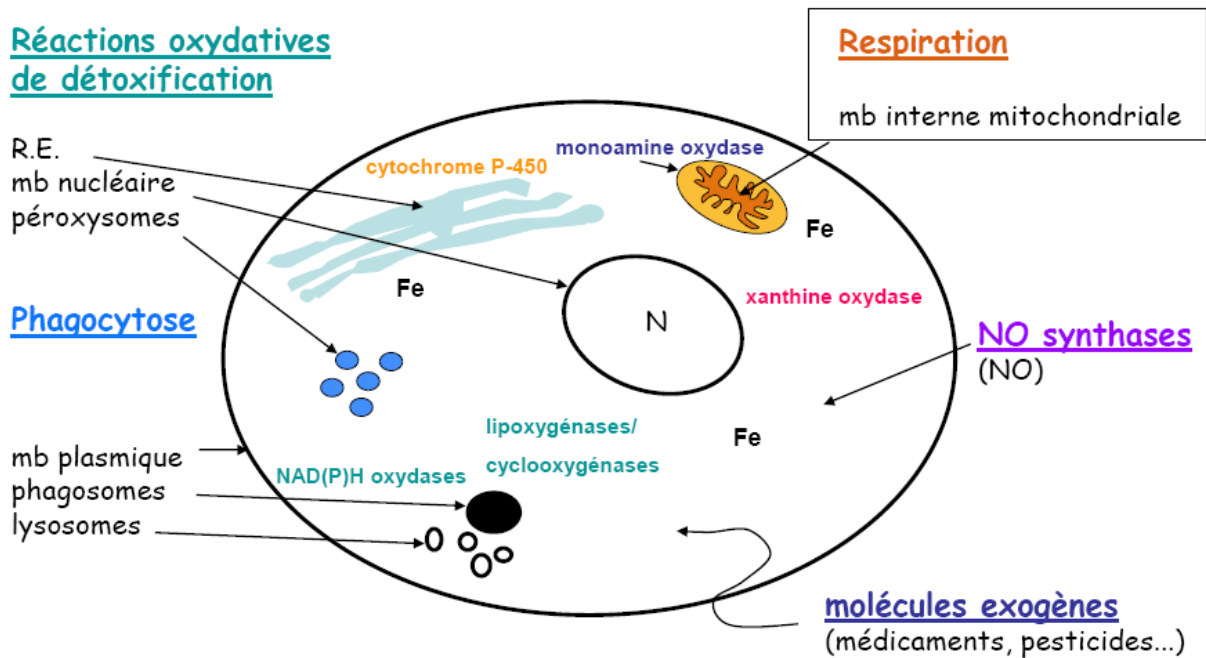


Figure 3. Principaux sites cellulaires de production des ERO (Sekli, 2011)

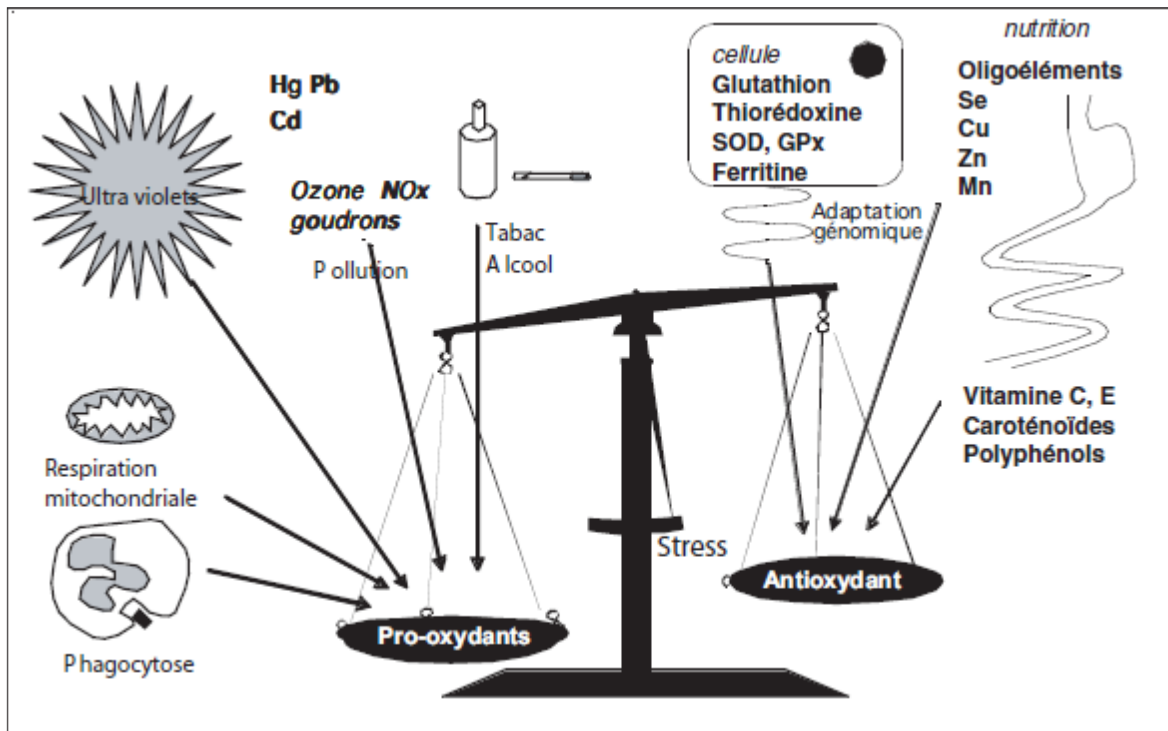


Figure 4. Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (favier, 2006)

2.2. Notion de stress oxydant

Au sein de l'organisme, il existe un équilibre entre la production d'ERO et la capacité antioxydante intracellulaire conduisant ainsi à une bonne régulation de l'état redox des cellules. Différentes situations de déséquilibre de cette balance « production d'ERO/capacité antioxydante » peuvent être observées suite à une situation d'agression de l'organisme.

La production d'ERO peut être faible et de courte durée, dans ce cas la réponse antioxydante est suffisante pour assurer un retour rapide à un équilibre redox de la cellule. En revanche, lors d'agression plus intense et prolongée, la production d'ERO est supérieure à la capacité antioxydante et dans ce cas ce déséquilibre prolongé (ou permanent) conduit à une situation de stress chronique comme c'est le cas dans de nombreuses pathologies (diabète, pathologies articulaires. . .). Les situations de stress oxydant modéré, même si elles sont bien maîtrisées par les systèmes de défenses de l'organisme, vont être suffisantes pour déclencher une réponse de celui-ci, cette réponse étant dans bien des cas, bénéfique pour « l'agressé » (stimulation des réponses immunitaire, inflammatoire, phagocytaire, de détoxification. . .) (Durand et al., 2013). En revanche, dans le cas d'un stress oxydant non maîtrisé et prolongé, l'implication de cette situation de surproduction d'espèces radicalaires est associée à de nombreuses pathologies comme le diabète, les cancers, les maladies cardiovasculaires, les accidents cérébraux vasculaires ou encore les pathologies articulaires (Delatre et al., 2005).

3. Effets immunologiques et antioxydantes du NADH

La forme réduite du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD), le NADH est connue en tant que molécule classique impliquée dans le métabolisme énergétique, la biosynthèse reductive et l'anti-oxydation (Berger et al., 2004; Belenky et al., 2007; Polak et al., 2007). Les nucléotides nicotinamide sont impliqués dans de nombreuses réactions enzymatiques et aussi peuvent agir en tant que donneurs d'hydrogène dans leurs formes réduites, ou comme accepteurs d'hydrogène dans leurs formes oxydées (Olek et al., 2004).

Sans un coenzyme complémentaire, la majorité des enzymes ne fonctionnera pas. Par conséquent, un coenzyme est un élément nécessaire pour l'activation des enzymes. De plus, le Coenzyme NADH est nécessaire dans diverses fonctions biologiques, y compris le métabolisme énergétique, la fonction mitochondriale, l'homéostasie du calcium et l'expression génique. Il a été utilisé en tant qu'agent anti-oxydant protégeant les cellules contre les dommages provoqués par les oxydants endogènes ou exogènes (Olek et al., 2004; Ying. 2008).

Le NADH est un substrat redox-actif, essentiel pour de nombreuses réactions cataboliques et anaboliques. C'est un cofacteur qui peut donner des électrons à la chaîne respiratoire suite à l'action de la NADH déshydrogénase et régénérant le NAD⁺ (Bakondi et al., 2004). Le NADH joue un rôle actif dans le système immunitaire, en induisant la libération de cytokines par les leucocytes périphériques (Ying et al., 2008). L'administration de NADH peut également améliorer les fonctions cognitives (Demarin et al., 2004).

Le NADH est connu pour reconstituer les réserves cellulaires appauvries en ATP (Forsyth et al., 1999). Des effets stimulateurs du NADH sur la croissance cellulaire semblent être liés à l'augmentation de la régénération de l'ATP cellulaire, étant donné que l'ATP joue un rôle essentiel dans la prolifération cellulaire. De plus, les lymphocytes T ont besoin de hauts niveaux de NADH (Delmastro et al., 2013).

Plusieurs études ont montré que le NADH a un effet stimulateur sur la prolifération des lymphocytes, modulant la sécrétion des cytokines au cours de plusieurs pathologies ou situation physiologique telle que le vieillissement (Bouamama et al., 2017). Une étude antérieure a montré que le NADH peut influencer sur la fonction de monocytes / macrophages dans le sang périphérique par la modulation de la production de l'IL-12 et TNF-alpha (Kretowski et al., 2000). Il a été également montré que le NADH peut inhiber l'apoptose et maintenir la viabilité cellulaire en induisant la production autocrine de l'IL-4 dans la culture cellulaire (Palaga et al., 2004). En effet, il a été démontré que le NADH diminue l'apoptose dans les cellules irradiées (Liu et al., 2003).

4. Effets immunologiques et antioxydants de la vitamine C

La vitamine C, aussi connue sous le nom d'acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. L'absorption de la vitamine C s'effectue au niveau de l'iléon. Les principales sources alimentaires de la vitamine C sont les légumes et les fruits frais (70 %) et en quantité moindre les pommes de terre, le pain et les céréales (20 %) (Zulfiqar et al., 2016).

La vitamine C est impliquée dans de nombreuses réactions chimiques au sein de l'organisme. Elle existe sous deux formes, la forme réduite - acide ascorbique (AA), et la forme oxydée – acide déhydroascorbique (DHA) (Chepda et al., 1999). Elle joue plusieurs rôles dans l'organisme, notamment grâce à ses propriétés antioxydantes et hydroxylantes.

Le passage de la forme réduite à la forme oxydée lui donne ses propriétés anti-oxydantes (Levine et al., 1999). L'acide ascorbique s'auto-oxyde spontanément en présence de dioxygène. Au cours de cette réaction chimique, des électrons sont libérés. Ces électrons peuvent alors neutraliser des espèces réactives oxygénées (ROS). Ce processus en équilibre limite le vieillissement cellulaire et favorise son renouvellement. Ce mécanisme d'auto-oxydation est favorisé et accéléré par la présence d'ions métalliques tels que le fer ou le cuivre. La vitamine C agit principalement comme un « donneur d'électrons ». Cette qualité est utile au fonctionnement d'enzymes diversement impliquées dans l'hydroxylation du collagène (hydroxylation de la proline et de la lysine, responsable d'une fragilité capillaire en cas de carence), la synthèse de la carnitine, des catécholamines, des hormones peptidiques et le métabolisme de la tyrosine (Renaud, 2003).

La vitamine C est aussi un puissant agent réducteur qui agit comme un antioxydant. Hydrosoluble, elle s'oppose in vivo à l'action des radicaux libres circulant en phase aqueuse dans le plasma. Par cet effet réducteur, elle a le pouvoir de réduire des composés oxydants présents dans le suc gastrique où sa concentration est normalement 3 fois supérieure à celle que l'on retrouve dans le plasma (Renaud, 2003).

Par les réactions d'oxydation, la vitamine C participe au métabolisme du cholestérol avec augmentation du HDL-cholestérol, diminution du cholestérol total, du LDL-cholestérol et des triglycérides (Chepda et al., 1999). La vitamine C facilite l'absorption du fer, intervient dans la synthèse de plusieurs hormones et neurotransmetteurs, et participe aux mécanismes de défense immunitaire (Bachmeyer et al., 2006).

De plus, elle est un des cinq antioxydants de l'alimentation avec la vitamine E, le bêta-carotène, le sélénium et le zinc, et participe à la dégradation des radicaux libres oxygénés, ce qui assure une protection contre les agents toxiques pour la cellule (Fain, 2004). Elle participe également au métabolisme du fer et a un rôle dans l'élimination des carcinogènes et des nitrosamines cancérigènes (Atta et al., 2010).

5. Effets immunologiques et antioxydantes de la vitamine E

La vitamine E (dite α -tocophérol) est un antioxydant liposoluble et un micronutriment lipidique essentiel pour la santé humaine. Sa consommation et sa concentration circulante ont toutes deux été associées à un risque moindre de développer des maladies cardiovasculaires et certains cancers (Desmarchelier et al., 2014).

La vitamine E est un puissant antioxydant et à ce titre, de façon indirecte, module l'activité de facteurs de transcription tels que NF- κ B, des éléments importants de la signalisation cellulaire (Cynober, 2008).

Les tocophérols protègent les acides gras polyinsaturés contre les agressions oxydatives, surtout que ces acides gras entrent dans la structure des phospholipides qui forment les bicouches des membranes biologiques (Sebei et al., 2007).

Cependant, la vitamine E a une activité biologique qui ne se limite pas aux propriétés antioxydantes. En fait, les différentes formes de vitamine E sont impliqués dans la régulation de la réponse inflammatoire, la modulation de la signalisation cellulaire, les enzymes liées à la membrane, l'expression des gènes, la prolifération cellulaire, et plusieurs voies moléculaires (Brigelius-Floh et al., 2009; Boccardi et al., 2016).

La vitamine E régule l'expression des gènes spécifiques non seulement liés au stress oxydatif, mais aussi impliqués dans l'homéostasie du cholestérol, les voies inflammatoires, et le trafic cellulaire, y compris le transport vésiculaire synaptique et la libération des neurotransmetteurs. Les gènes régulés par un tocophérol comprennent ceux codant pour des protéines impliquées dans l'apoptose, la régulation du cycle cellulaire, l'adhésion cellulaire, la croissance cellulaire, la formation de la matrice extracellulaire et / ou la dégradation, les récepteurs de lipoprotéines, de l'inflammation (IL-1b, IL-2, IL-4 et TGF- β), le contrôle de la transcription, le métabolisme, et d'autres fonctions biologiques (leptine et b-sécrétase dans les neurones) (Ahsan et al., 2014).

La vitamine E est le descripteur générique pour toutes les molécules qui possèdent l'activité biologique de l' α -tocophérol. Il existe huit composés d'origine naturelle ayant une activité de vitamine E et le composé ayant l'activité biologique la plus importante est le α -tocophérol (NRC, 2011). C'est un micronutriment indispensable, qui joue un rôle important dans divers processus biochimiques et physiologiques, tels que la protection des lipides polyinsaturés contre l'oxydation (Li et al., 2013; Zhou et al., 2013). Une étude portant sur une population multi-ethnique aux Etats-Unis a montré que les performances de la mémoire ont été liées à la vitamine E. Précisément, les performances faibles de la mémoire sont toujours associées à des niveaux plasmatiques faibles en vitamine E (Perkins et al., 1999). Une autre étude de Lu et al. (2016) montre que la vitamine E alimentaire augmente les performances de croissance et le statut antioxydant, améliore l'immunité innée et protège contre les infections bactériennes.

6. Effets des AGPI

6.1. Différents types d'AGPI et leurs rôles

Il est maintenant bien connu que les lipides alimentaires ont une action immunomodulatrice s'exerçant à la fois sur les fonctions immunitaires spécifiques et aspécifiques.

Les modifications des apports alimentaires en graisses ont des conséquences sur l'évolution des maladies, en particulier des agressions aiguës et des infections.

Il est bien connu qu'un déficit en acides gras essentiels entraîne une atrophie lymphoïde, une diminution de la réponse anticorps, une augmentation de la sensibilité aux infections (Ghisolfi et al., 1993). Inversement, la supplémentation alimentaire en acides gras polyinsaturés modifie la réponse immunitaire par deux mécanismes, altération de la structure membranaire et modification de la synthèse des eicosanoïdes (prostaglandines et leucotriènes), qui vont être à l'origine de changements dans les processus d'immunité cellulaire et humorale (Ghisolfi et al., 1993 ; Venkatraman et al 2000 ; campoio et al 2011).

Parmi les acides gras naturels figurent deux acides gras polyinsaturés essentiels : l'acide linoléique conduisant à la synthèse de l'acide dihomogamma-linolénique (DGLA) puis de l'acide arachidonique (ARA) (de la série n-6) et l'acide α -linoléique conduisant à la synthèse de l'acide eicosapentaénoïque (EPA) puis de l'acide docosahexaénoïque (DHA) (de la série n-3) (Ailhaud et al., 2005). L'acide linoléique et l'acide α -linoléique sont les précurseurs des familles d'acides gras n-6 et n-3. Par rapport aux acides gras saturés, les acides gras polyinsaturés diminuent les concentrations plasmatiques de LDL-cholestérol et à un moindre degré de HDL-cholestérol (Mensink et al., 1992). Cet effet est particulièrement marqué pour les acides gras n-6. Les acides gras n-3 baissent les triglycérides plasmatiques et augmentent faiblement le HDL- et LDL-cholestérol. Les acides gras jouent un rôle important dans le contrôle des principaux facteurs de risque vasculaire, notamment sur les niveaux des lipoprotéines, et sur le risque de survenue des événements cardiaques. La consommation d'acides gras polyinsaturés s'accompagne d'une baisse du LDL-cholestérol et d'une diminution des incidents coronariens et de leurs récurrences, alors que les formes saturées et *trans* sont associées à un risque plus élevé. La consommation d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne de la famille n-3 (EPA et DHA) diminue les taux de survenue des accidents coronaires fatals et le risque de mort subite (Dallongeville, 2013). Le Tableau 2 résume quelques effets métaboliques des acides gras.

L'influence des acides gras provenant des huiles alimentaires sur les phénomènes inflammatoires et la réponse immunitaire a fait l'objet de nombreux travaux. Il est généralement admis que les acides gras polyinsaturés oméga-3 (AGPI n-3) développent les activités immunomodulatrices les plus puissantes. Ces AGPI alimentaires sont également des catalyseurs essentiels favorisant le rendement utilitaire des vitamines contre le stress oxydatif, en particulier la vitamine E, principal antioxydant membranaire qui permet de préserver la fluidité des membranes des cellules immunitaires dont les fonctions dépendent aussi de leur contenu en acides gras (Meziane et al., 2014).

L'immunomodulation par les AGPI alimentaires peut être soit l'immunosuppression soit immunostimulation. Les mécanismes d'action pourraient être liés à une modification de la sécrétion des cytokines ou à la composition en acides gras des lipides des membranes des lymphocytes (Sweeney et al., 2005). Les effets immunomodulateurs des AGPI peuvent être exploités dans la prévention et le traitement des complications associées à l'obésité (Meziane et al., 2014). En revanche, les AGPI à longue chaîne (AGPI-LC) de la série n-3 ont démontré leur intérêt pour la prévention du diabète sucré de type 2 et du syndrome métabolique (Delure et al., 2004).

6.2. Huiles alimentaires

6.2.1. Huile d'olive

L'olivier (*olea europaea*) est un arbre fruitier appartenant à la famille des Oléacées. Il est cultivé dans tout le bassin méditerranéen et sert à la fabrication de l'huile d'olive. Typiquement méditerranéen, c'est à dire qu'il supporte parfaitement des sécheresses prolongées, et il peut résister à une température de moins 15 degrés s'il s'agit d'un froid sec et de courte durée. Les oliviers peuvent atteindre une longueur de 15–20 m et ont une durée de vie très longue. Très rameux, il dispose d'un tronc noueux et d'une écorce brune crevassée. Ses feuilles, persistantes en hiver, sont opposées, ovales, allongées, portées par un court pétiole, coriaces, entières, enroulées sur les bords, d'un vert foncé luisant sur la face supérieure et d'un vert clair argenté avec une nervure médiane saillante sur la face inférieure. Ses fleurs printanières, regroupées en petites grappes, sont blanches avec un calice, deux étamines, une corolle à quatre pétales ovales et un ovaire de forme arrondie. Ses fruits, les olives, d'abord verts, deviennent noirs à maturité complète. IL a un noyau fusiforme. L'olivier fait partie de la famille des oléacées (genre *olea*) qui comprend, entre autres, les lilas (*Syringia*), les troènes (*Ligustrum*) et les frênes (*Fraxinus*), ainsi que nombre d'arbustes comme les forsythias, les jasmins.

L'huile d'olive est caractérisée d'une part par sa composition en acides gras, d'autre part par sa richesse en composants mineurs, notamment en anti-oxydants. Le principal constituant lipidique de l'huile d'olive est un acide gras monoinsaturé, l'acide oléique. Celui-ci représente 65 à 80 % des acides gras de l'huile d'olive (Jacotot, 1996). La consommation de l'acide oléique a un intérêt indiscutable dans la médecine préventive contre les maladies cardiovasculaires, pour un meilleur contrôle de la tension artérielle, une diminution des taux sanguins de triglycérides, de glucose, de cholestérol total et de cholestérol-LDL (mauvais cholestérol) ainsi qu'un effet anticoagulant (Kris-Etherton et al., 1999; Larsen et al., 1999; Stark et al., 2002; Archer et al., 2003; Esposito et al., 2004 ; Alonso et al., 2006).

Tableau 2. Propriétés des principaux acides gras sur les facteurs de risque cardiovasculaire (Dallongvil, 2013)

Acides gras saturés		Propriétés
Laurique	C12:0	Augmente le LDL, HDL et certains facteurs de l'hémostase
Myristique	C14:0	
Palmitique	C16:0	
Stéarique	C18:0	Neutre sur les lipides plasmatiques
Acides gras mono-insaturés		Diminue le LDL en substitution des AG saturés
Palmitoléique	C16:1 n-7	
Oléique	C18:1 n-9	
Acides gras trans		Augmente le LDL et diminue le HDL par rapport aux AG saturés
Elaidique	C18:1 trans9	
Vaccénique	C18:1 trans11	
Acides gras polyinsaturés		AG essentiel. Diminue le LDL Précurseur de prostaglandines
Linoléique	C18:2 n-6	
Arachidonique	C20:2 n-6	
Linoléique conjugué	C18:2 cis ou trans	AG essentiel.
Alpha-linolénique	C18:3 n-3	
Eicosapentaénoïque	C20:5 n-3	
Docosahexaénoïque	C22 :6 n-3	Diminue les triglycérides et agit sur le rythme cardiaque

Par ailleurs, des études ont montré qu'une consommation régulière d'huile d'olive pourrait réduire le stress oxydatif dans l'organisme et les dommages causés par les radicaux libres (Venturini et al., 2015). Certaines études indiquent un lien entre l'apport en huile d'olive (ou en acides gras monoinsaturés provenant, entre autres, de l'huile d'olive) et la prévention des cancers du sein et du côlon (Hashim et al., 2008; Menendez et al., 2009). L'administration de l'huile d'olive peut exercer des effets bénéfiques sur la santé humaine et en particulier sur le système immunitaire, car elle contribue à la réduction de l'activité inflammatoire typique observée chez les patients souffrant de maladies auto-immunes (Puertollano et al., 2010).

6.2.2. Huile de lin

Le lin (*L. usitatissimum* L.) est une espèce de la famille des Linacées. C'est une plante herbacée annuelle dressée, dont les ramifications s'élèvent en forme de corymbe au-dessus de la tige (Gill, 1987). Deux types de *L. usitatissimum* sont cultivés : le lin oléagineux, dont la graine produit une huile, c'est une plante relativement courte à ramifications secondaires nombreuses, tandis que le lin textile, dont la tige produit des fibres, est plus élevée et moins ramifiée. Le lin cultivé (*Linum usitatissimum*) est une espèce de plantes dicotylédones de famille des Linacées, originaire d'Eurasie, au genre *Linum*, l'ordre des Linales, la sous-classe des Rosidae et la classe des Magnoliopsida (Bergfjord, 2010). L'huile de lin est obtenue par pression à froid des graines de lin arrivées à maturité.

L'huile de lin est une huile composée majoritairement d'acide linoléique, un oméga-3. Cette huile connaît un nouvel engouement de la part des industriels de l'agroalimentaire et est une bonne candidate permettant de réajuster les rapports oméga-6/oméga-3 dans la formulation d'huiles alimentaires mixtes et dans les préparations culinaires.

Une étude indique que la consommation quotidienne de 20 g de graines de lin durant huit semaines a été aussi efficace qu'une statine pour réduire le taux de cholestérol et de triglycérides chez les sujets dont le taux de cholestérol était élevé (Mandasescu et al., 2005). Il est admis que les acides gras polyinsaturés et l'acide alpha-linolénique présents en grande quantité dans les graines de lin réduisent la formation des plaques graisseuses, grâce à leur capacité à diminuer les lipides sanguins et leurs propriétés antioxydante (Prasad, 1997; Prasad, 2005). De plus, une alimentation riche en acide alpha-linolénique améliore l'état des patients victimes d'un infarctus du myocarde (De Lorgeril, 1994). D'autres études ont également montré qu'une consommation d'huile de lin permettait une diminution de la pression artérielle et la prévention de thrombose (Allman-Farinelli et al., 1999; Paschos et al., 2005). Une étude faite sur des rats

obèses a montré que l'huile de lin corrige les anomalies lipidiques et la balance oxydante / antioxydante au cours du syndrome métabolique (Ayad et al., 2013).

6.2.3 Huile de nigelle

L'espèce *Nigella sativa* L. est une plante employée comme remède naturel au Moyen-Orient et en Extrême-Orient, et plus particulièrement chez les musulmans influencés par la parole prophétique (Shomar et al., 2012).

Nigella sativa L est plante annuelle dicotylédone appartenant à la famille des Renonculacées (Mahdavi et al., 2015), de genre *Nigella* L, nommé d'après les graines noires caractéristiques retrouvées dans la plupart des espèces de *Nigella*. Le terme Latin « nigellus » est le diminutif de « niger », qui signifie noir (Hegi, 1975 ; Talbi et al., 2014). Le nom d'espèce «sativa» vient du latin et signifie «cultivé». Les grecs nommaient *Nigella sativa* melanthion, de « melas » qui veut dire noir et « anthos » fleur, donc l'étymologie tire du même attribut (Orsi, 2005). Il s'agit d'une très vieille espèce cultivable, de 20 à 30 cm de hauteur. La plante a de petites graines noires qui ont une texture légèrement rugueuse et un intérieur huileux. Ils ont un goût amer piquant. La graine et l'huile de nigelle sont considérés comme la plus grande herbe médicinale de notre temps dans l'est, et des milliers d'études scientifiques ont été publiés sur tous les aspects médicaux (Shomar et al., 2012). La graine de nigelle est utilisée depuis des milliers d'années comme une épice pour la conservation des aliments, ainsi en tant qu'élément protecteur et curatif contre plusieurs troubles, et connue pour avoir de nombreuses propriétés médicamenteuses dans la médecine traditionnelle. Cette plante a été largement étudiée et de nombreuses propriétés biologiques favorables ont été signalées comme antioxydant, antimutagène, hépatoprotecteurs, anti-corrosion et anti-inflammatoire (Chopra et al., 2004; Kanter et al., 2005; Bourgou et al., 2008; Khadera et al., 2010; Emad et al., 2015).

L'huile des graines de nigelle a de nombreuses propriétés pharmacologiques et peut être considérée comme agent antioxydant, anti-inflammatoire, immunomodulateur, antitumoral, antidiabétique et elle joue un rôle non négligeable dans les systèmes cardio-vasculaire et gastro-intestinal (shomar et al., 2012).

6.2.4. Huile de tournesol

Le tournesol, ou anciennement héliotrope et maurelle *Helianthus annuus* (JSDB), est une grande plante annuelle, appartenant à la famille des Astéracées (Composées), dont les fleurs sont groupées en capitules de grandes dimensions. Le genre *Helianthus* comprend une cinquantaine d'espèces, toutes originaires d'Amérique du Nord, dont le topinambour (*Helianthus tuberosus* L.). Cette plante est très cultivée pour ses graines riches en huile alimentaire de bonne qualité (environ 40 % de leur composition). La graine de tournesol est en réalité un akène, fruit sec indéhiscent situé dans l'inflorescence appelée capitule. Celui-ci comprend plusieurs milliers de fleurs réparties en cercles ou parastiques, chaque fleur donnant un akène.

L'huile de tournesol est une huile végétale obtenue à partir des graines de tournesol. Elle est composée de 98 % de triesters d'acides gras. Le reste contient entre autres des stérols (β sitostérol) et du tocophérol (vitamine E) (Sacks et al., 2002). L'huile de tournesol possède un potentiel antioxydant non négligeable. En effet, l'ajout de cette huile dans l'alimentation de rats a entraîné une augmentation de la capacité antioxydante dans le sang après quatre semaines (Cabrini et al., 2001; Gorinstein et al., 2003). C'est probablement son contenu élevé en vitamine E qui permet à l'huile de tournesol de maintenir sa capacité antioxydante élevée lorsqu'on la chauffe à haute température (Quiles et al., 2002). Une étude faite sur l'animal a montré que la consommation d'une huile de tournesol riche en acide oléique empêchait aussi l'augmentation du cholestérol sanguin (augmentation liée à une alimentation riche en cholestérol) (Gorinstein et al., 2003). Sa richesse en acide gras linoléique en fait un régulateur endocrinien et nerveux. Riche en oméga-6, l'huile de tournesol aide au renforcement du système immunitaire et prévient le vieillissement.

Tableau 3 : Composition en acides gras et en vitamine E et K de l'huile d'olive de lin de Nigelle, et Tournesol (USDA ; Ghedira et al 2008)

Composition d'huile d'olive		
Composé	Famille d'acide gras	Teneur pour 100 g
Acide palmitique (saturé)		11,29 g
Acide heptadécanoïque (saturé)		0,022 g
Acide stéarique (saturé)		1,953 g
Acide arachidique (saturé)		0,414 g
Acide béhénique (saturé)		0,129 g
Acide heptadécénoïque (mono-insaturé)		0,125 g
Acide érucastique (mono-insaturé)	ω -9	0,311 g
Acide oléique (mono-insaturé)	ω -9	71,269 g
Acide palmitoléique (mono-insaturé)	ω -7	1,255 g
Acide linoléique (poly-insaturé)	ω -6	9,762 g
Acide alpha-linolénique (poly-insaturé)	ω -3	0,76 g
Acides gras trans		0,0478 g
Total acides gras saturés		13,808 g
Total acides gras mono-insaturés		72,961 g
Total acides gras poly-insaturés		10,523 g
Vitamine E		15,29 mg
Vitamine K		60,2 μ g
Composition d'huile de lin		
Composé	Famille d'acide gras	Teneur pour 100 g
Acide myristique (saturé)		0,041 g
Acide pentadécanoïque (saturé)		0,014 g
Acide palmitique (saturé)		6,047 g
Acide heptadécanoïque (saturé)		0,046 g
Acide stéarique (saturé)		3,428 g
Acide arachidique (saturé)		0,146 g
Acide béhénique (saturé)		0,068 g
Acide lignocérique (saturé)		0,078 g
Acide érucastique (mono-insaturé)	ω -9	0,13 g
Acide oléique (mono-insaturé)	ω -9	18,115 g
Acide palmitoléique (mono-insaturé)	ω -7	0,046 g
Acide cétoléique (mono-insaturé)	ω -11	0,068 g
Acide linoléique (poly-insaturé)	ω -6	15,553 g
Acide alpha-linolénique (poly-insaturé)	ω -3	56,018 g
Acides gras trans		0,019 g
Total acides gras saturés		9,4 g
Total acides gras mono-insaturés		20,2 g
Total acides gras poly-insaturés		66 g
Vitamine E		17,5 mg
Vitamine K		-

Composition d'huile de Nigelle		
Composé	Famille d'acide gras	Teneur (en g pour 100 g)
Acide palmitique (saturé)		17,2 - 18,4
Acide stéarique (saturé)		2,84-3,69
Acide oléique (mono-insaturé)	ω -9	23,7-25
Acide palmitoléique (mono-insaturé)	ω -7	0,78-1,15
Acide linoléique (poly-insaturé)	ω -6	49-50,31
Acides gras trans		-
Total acides gras saturés		11,56
Total acides gras mono-insaturés		70,55
Total acides gras poly-insaturés		13,486
Vitamine E		0.01685
Vitamine K		-
Composition d'huile de tournesol		
Composé	Famille d'acide gras	Teneur pour 100g
Acide palmitique (saturé)		5,9 g
Acide stéarique (saturé)		4,5 g
Acide oléique (mono-insaturé)	ω -9	19,5 g
Acide linoléique (poly-insaturé)	ω -6	65,7 g
Acides gras trans		0,7074 g
Total acides gras saturés		10,3 g
Total acides gras mono-insaturés		19,5 g
Total acides gras poly-insaturés		65,7 g
Vitamine E		41,08 mg

7. Immunité, stress oxydatif, et pathologies

7.1. Diabète sucré

Le diabète sucré est un désordre métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique et une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique. Il résulte d'une déficience de la sécrétion et/ou de l'activité de l'insuline. La classification, basée sur l'étiologie de la maladie, distingue quatre types de diabète: type 1, type 2, diabète gestationnel et les autres types (parmi lesquels des déficiences génétiques conduisant à un déficit en insuline, des altérations génétiques des cellules bêta pancréatiques, des diabètes mitochondriaux, et plusieurs endocrinopathies ou maladies du pancréas) (Bonfont-Rousselot et al., 2004)

En 2000, le diabète sucré touchait 2.8% de la population mondiale (171 millions de personnes). En 2030, il est estimé que 4.4% de la population mondiale sera atteinte par cette maladie (366 millions de personnes) (Wild et al., 2004). La majorité des cas de diabète sont représentés par les diabètes de type 1 et de type 2.

L'hyperglycémie est un effet fréquent du diabète non contrôlé selon l'OMS (2016) qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins.

Le diabète de type 1 est, la plupart du temps, diagnostiqué chez les enfants ou les adolescents. Il est dû à la destruction des cellules bêta des îlots de Langerhans par le système immunitaire (Tisch et al., 1996), qui est probablement déclenché par des facteurs environnementaux chez les personnes génétiquement prédisposées (Ekoé et al., 2013). Ceci entraîne un arrêt de la production d'insuline, d'où sa qualification de diabète insulino-dépendant (Tisch et al., 1996). Il est à noter que cette destruction est progressive et la maladie ne devient apparente que tardivement, après que 80 à 90 % des cellules pancréatiques productrices d'insuline aient déjà été détruites (Mehers et al., 2008).

Le diabète de type 2 représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il est en grande partie le résultat d'une surcharge pondérale et de la sédentarité. Le diabète de type 2 (DT2) résulte de l'incapacité de la cellule bêta insulaire de sécréter suffisamment d'insuline et au bon moment (précocement au cours du repas) pour compenser l'apparition ou l'aggravation d'une insulino-résistance. Le déficit de l'insulino-sécrétion et celui de l'action de l'insuline coexistent donc au cours du DT2, et ces deux anomalies proviennent de l'interaction entre des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux (Duclos, 2009).

Le développement du diabète de type 1 est sous contrôle polygénique, avec un rôle majeur des gènes de CMH de classe II dans la détermination de la résistance ou de la sensibilité à la maladie (Todd., 1997). Des études immunohistologiques du pancréas d'animaux diabétiques ont révélé que la maladie était portée par les cellules de type Th1 mais que les CD8+ et les macrophages participaient également à son développement (Miyazaki et al., 1985; O'Reilly et al., 1991). Une infiltration rapide et massive du pancréas par ces trois types cellulaires se produit, la cellule β étant la cible d'un grand nombre d'attaques. Les modalités de sa destruction, par contact direct avec les lymphocytes T CD8 ou indirectement par les dommages dus aux cytokines sont variées. Différentes études ont prouvé que les cellules β étaient très sensibles à l'action des cytokines pro-inflammatoires telles l'IFN- γ , le TNF- α et l'IL-1 (Campbell et al., 1985; Mandrup-Poulsen et al., 1987; Yang et al., 1994). L'IL-1 inhibe la sécrétion d'insuline, qui entraîne un environnement hyperglycémique qui conduit à une augmentation du stress de la cellule β (Corbett et al., 1993).

Ainsi, chaque thérapie empêchant cet influx de cellules inflammatoires dans le pancréas ou la neutralisation des cytokines pro-inflammatoires pourrait soulager la maladie. La présence de

cellules Th1, de macrophages, de cellules dendritiques autour de la cellule β contribue à l'inflammation par la sécrétion de cytokines.

Les travaux de Dandona et al. (2002) suggèrent un effet anti-inflammatoire de l'insuline, même dans des situations de compensation aiguë des troubles métaboliques hyperglycémiques. Des études antérieures ont démontré que les taux plasmatiques de cytokines chez les patients diabétiques de type 1 peuvent être différentes de celles des non-diabétiques (Foss et al., 1992). Cependant, il est bien connu que les concentrations plasmatiques de cytokines peuvent subir des interférences de nombreux facteurs, du sérum et de plusieurs types de cellules (Foss et al., 2008). Les TNF- α et IL-6 sont fortement impliqués dans l'activation des macrophages et une augmentation des niveaux de ces cytokines a été observée dans les stades de la résistance à l'insuline et le développement du diabète sucré (Pikup et al., 2000). Foss et al. (2008) ont observé que le contrôle adéquat de la glycémie peut réduire le pourcentage de monocytes contenant le TNF- α chez les patients diabétiques, particulièrement chez les patients diabétiques type 1, à des niveaux similaires à ceux observés chez les sujets sains. La diminution de pourcentage de monocytes sécrétant le TNF- α chez les patients diabétiques de type 1 avec un contrôle glycémique adéquat peut être due à la thérapie à l'insuline adéquate, étant donné que l'insuline a de nombreux effets anti-inflammatoires (Dandona et al., 2002).

D'autre part, chez les patients diabétiques de type 2, le taux d'insuline endogène a été décrit comme normal ou la plupart des temps élevé en raison de la résistance à l'insuline. Ceci peut expliquer l'augmentation du pourcentage de cellules sécrétant le TNF- α , indépendamment du contrôle de la glycémie (Foss et al., 2008). Les résultats concernant le pourcentage de cellules sécrétant l'IL-6 suggèrent que les patients diabétiques de types 1 et 2 ont tendance à présenter des profils similaires d'IL-6, quel que soit le contrôle de la glycémie (Foss et al., 2008). L'IFN- γ est produit par les lymphocytes T antigène-actif stimulant la prolifération cellulaire et la différenciation des monocytes et des cellules tueuses naturelles (NK). Cependant, activées in vivo ou stimulées in vitro, les cellules changent rarement leur profile de cytokines lorsqu'elles seront restimulées (De Pouw-Kraan et al., 1993; Foss et al 2008).

Le contrôle glycémique inadéquat a été associé à une altération du pourcentage de cellules portant des cytokines intracellulaires, au cours du diabète de type 1. Le contrôle glycémique inadéquat a été associé à une augmentation du pourcentage de cellules portant le TNF et l'IL-10, ce qui indique que le contrôle insuffisant stimule à la fois la sécrétion des cytokines inflammatoires et anti-inflammatoires, et modifie l'homéostasie des cytokines. En effet, dans le diabète de type 2, la principale modification est la diminution du pourcentage des cellules

portant l'IL-8, ce qui peut expliquer la réponse immunitaire altérée contre les agents infectieux. Les résultats précédents indiquent que le contrôle de la glycémie chez les patients diabétiques influencent les taux de cytokines intracellulaires, ce qui suggère une altération de l'homéostasie des cytokines chez les patients diabétiques sous un contrôle glycémique insuffisant (Foss et al., 2008).

Un état de stress oxydant est décrit dans le diabète sucré. Il s'agit d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), en particulier des radicaux libres, et les défenses anti-oxydantes (Bonnefont-Rousselot, 2000; Laight et al., 2000). Ce stress oxydant pourrait être impliqué dans les atteintes tissulaires (Betteridge et al., 2000) et pourrait représenter un nouveau facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires au cours du diabète de type 2 (Figure 5). Plusieurs mécanismes semblent être impliqués dans la genèse de ce stress oxydant: auto-oxydation du glucose, glycation des protéines, voie des polyols, surproduction de radicaux superoxyde au niveau de la mitochondrie et de la NAD(P)H oxydase (Figure 6). L'équilibre glycémique joue un rôle très important dans la balance pro-oxydants/anti-oxydants (Bonnefont-Rousselot, 2004).

Un stress oxydant a été mis en évidence dans le diabète par plusieurs auteurs, qu'il s'agisse du type 1 ou du type 2. Les marqueurs biologiques utilisés montrent une oxydation accrue des cibles cellulaires et/ou une baisse des systèmes de défense anti-oxydants. L'atteinte des cibles cellulaires peut être mise en évidence grâce à des marqueurs de peroxydation lipidique, d'oxydation des protéines et d'oxydation de l'ADN. La baisse des défenses antioxydantes est révélée par la détermination des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Bonnefont-Rousselot et al., 2003).

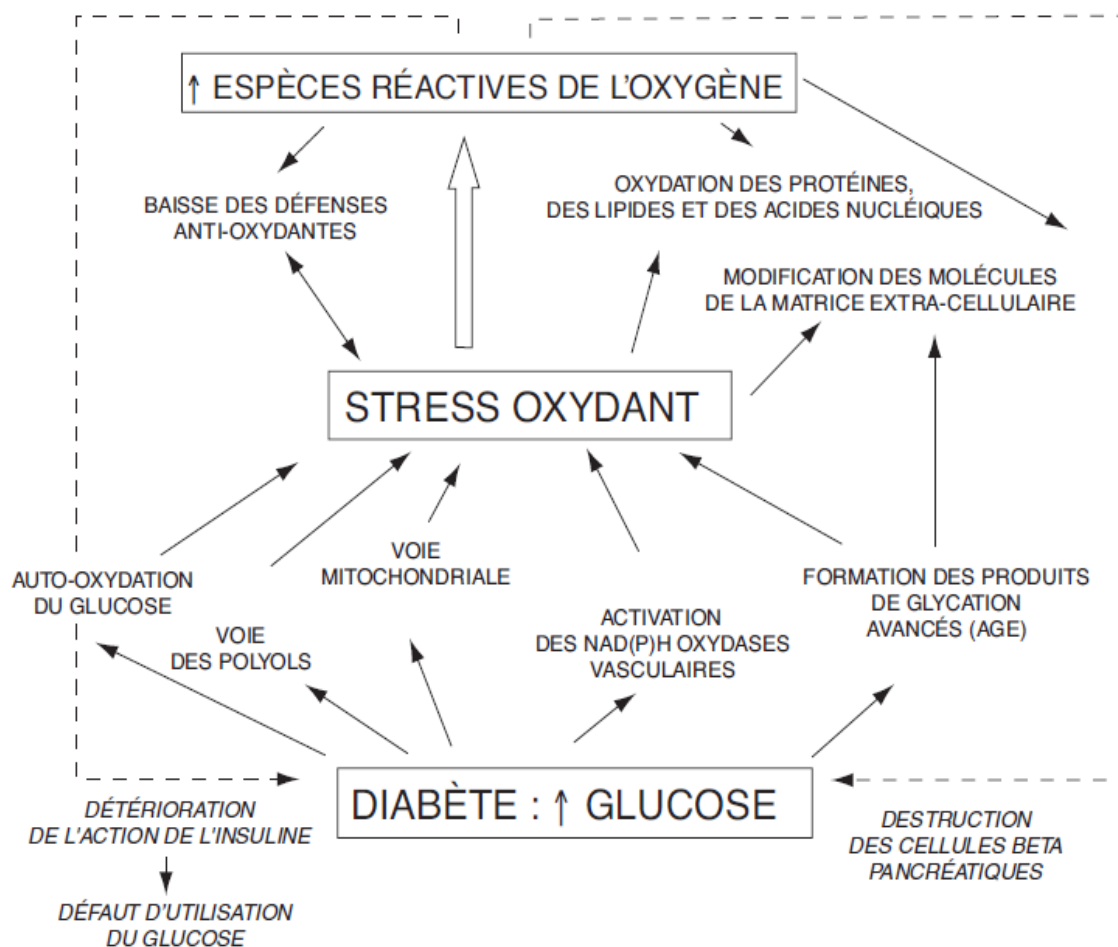


Figure 5. Relations entre hyperglycémie chronique, stress oxydant, facteurs de transcription redox-sensibles et accroissement du risque cardiovasculaire (Bonfont-Rousselot, 2004).

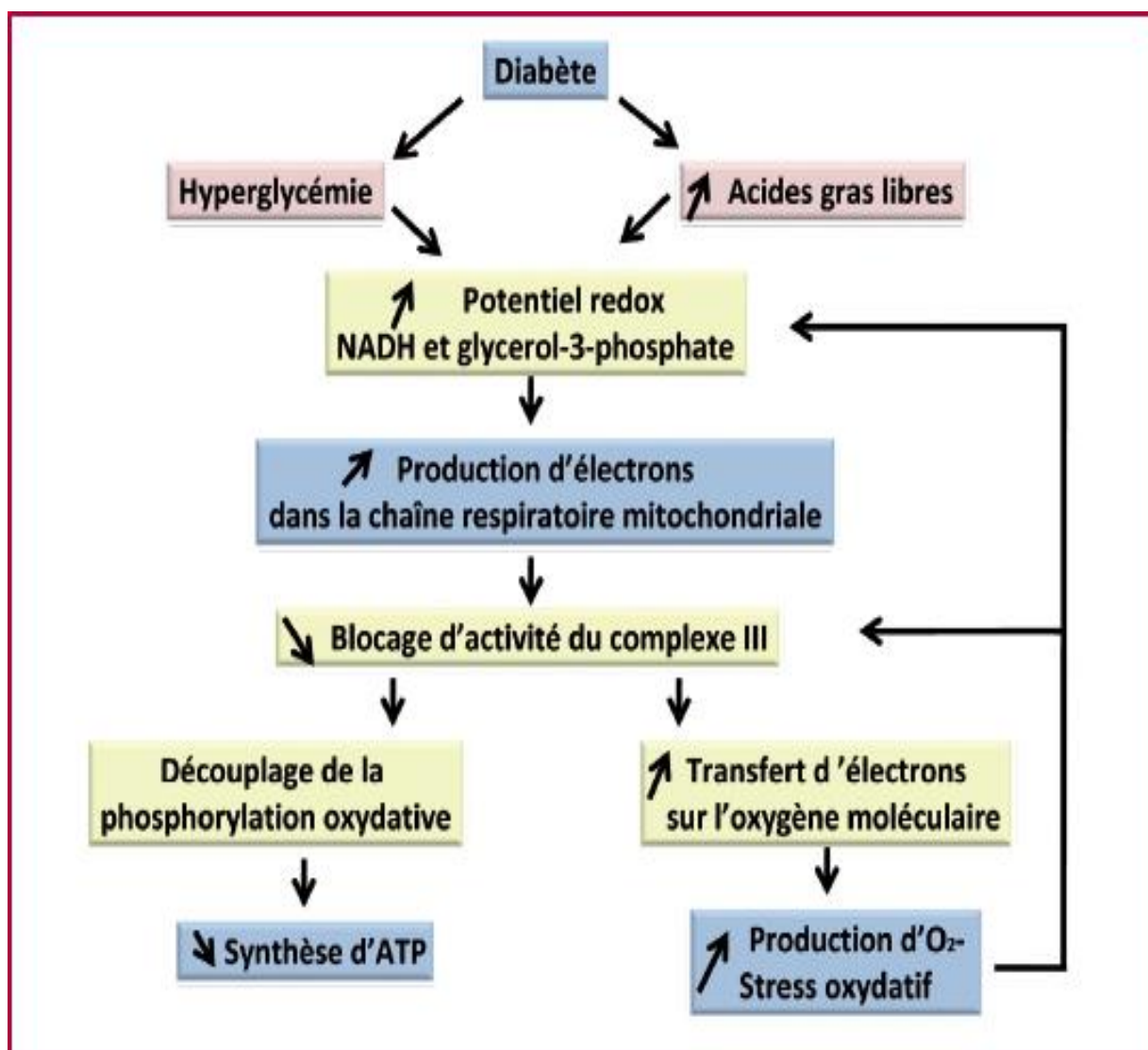


Figure 6. Mécanismes impliqués dans la genèse du stress oxydatif par l'hyperglycémie et l'élévation des acides gras libres (Féve. 2009)

7.2. Obésité

L'obésité est actuellement un problème de santé publique du fait de l'augmentation préoccupante de sa prévalence au cours des dix dernières années. L'obésité est une pathologie chronique complexe tant sur le plan physiopathologique que dans la prise en charge. Elle est définie par un excès de masse grasse ayant des conséquences néfastes pour la santé, et est reconnue depuis 1997 par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme une maladie en raison de ses répercussions sanitaires et économiques et de son incidence mondiale. L'obésité concerne aujourd'hui la quasi-totalité de la planète, y compris de nombreux pays émergents. Selon l'OMS, 35 % des adultes dans le monde sont atteints d'obésité ou de surpoids.

Les complications associées, en particulier le diabète et les maladies cardiovasculaires, entraînent le décès d'au moins 2,8 millions de personnes chaque année (Faucher et al., 2015).

En pratique clinique, le diagnostic de l'obésité se base sur un indice facilement utilisable, l'indice de masse corporelle (IMC), qui correspond au poids (en kg) divisé par le carré de la taille (en mètres). L'obésité est alors définie par un IMC supérieur à 30 kg/m².

L'obésité est caractérisée par une évolution chronique avec différentes phases successives : constitution, entretien de l'excès de poids et fluctuations pondérales. Chaque phase correspond à des situations physiopathologiques, cliniques, thérapeutiques radicalement différentes (Figure 7) (Basdevant, 2011). Avant même l'initiation de la prise de poids, il existe une phase préclinique allant de la période intra-utérine aux premiers signes de modification de la corpulence. Les facteurs biologiques (épigénétiques, génétiques, développement de la masse grasse) sont ici importants. Le stade initial de constitution, plus ou moins précoce selon les individus, est caractérisé par un déséquilibre énergétique avec des entrées supérieures aux sorties d'énergie. Cliniquement, il y a une augmentation du stock adipeux et une augmentation adaptative de la masse maigre. Le développement de la masse grasse est secondaire à un déséquilibre de la balance énergétique. Mais dans certains cas d'obésité, il n'est pas exclu que le *primum movens* soit une anomalie primitive du tissu adipeux avec des capacités de stockage accru. La phase de maintien résulte d'un nouvel équilibre énergétique et de modifications des capacités de stockage (Faucher et al., 2015).

Une phase d'aggravation de la maladie aboutit au stade d'obésité constituée caractérisée par l'apparition de comorbidités à la fois métaboliques (diabète de type 2, hypertension, dyslipidémie, NASH) et mécaniques (apnées du sommeil, atteintes rhumatologiques, insuffisance veineuse, lymphoedème). Cette phase est aussi marquée par des fluctuations pondérales en lien avec des tentatives répétées de perte de poids très souvent suivies de rebonds pondéraux. Cliniquement, il y a une chronicisation du processus d'inflation adipeuse et installation d'une résistance à l'amaigrissement (obésité dite « réfractaire ») (Faucher et al., 2015).

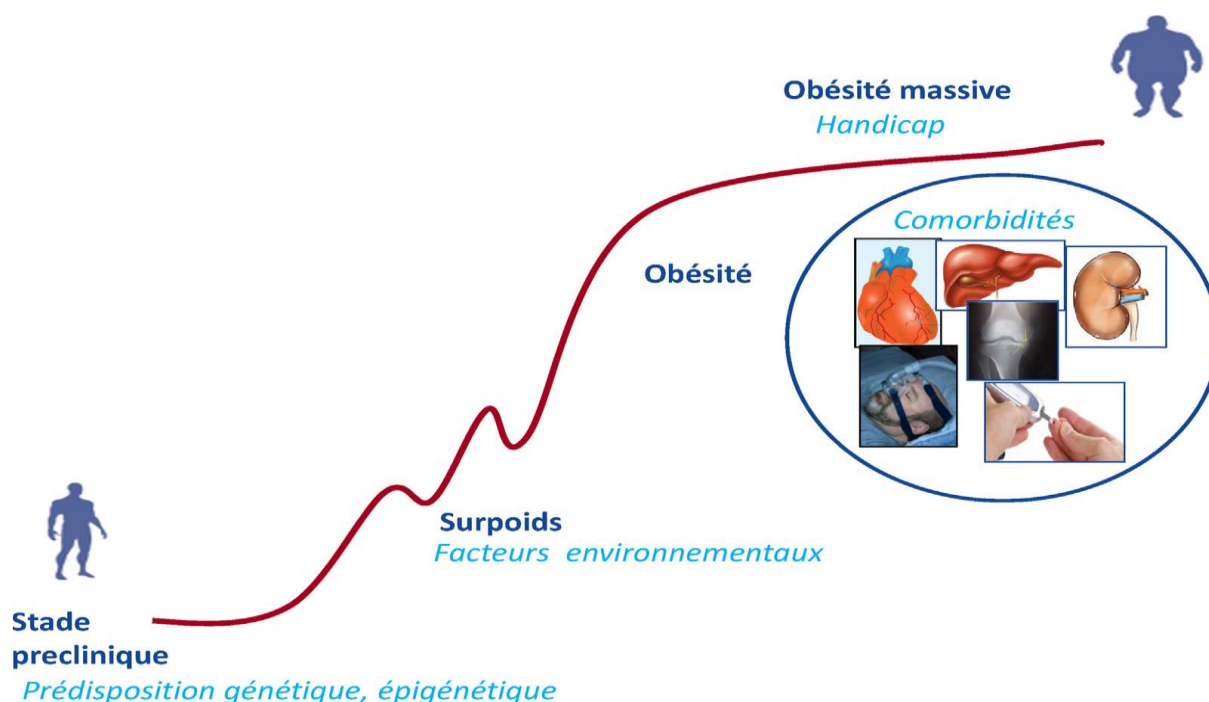


Figure 7. Histoire naturelle de l'obésité (Basdevant. 2011)

La classification de l'OMS distingue 4 types d'obésité selon l'IMC en termes de sévérité : obésité type I ou modérée, pour un IMC entre 30,0 et 34,9 kg/m², obésité type II ou sévère pour un IMC entre 35,0 et 39,9 kg/m², et obésité type III ou massive pour un IMC supérieur à 40 kg/m². Il a été démontré que plus l'IMC augmente, plus la morbidité s'élève. Mais cette classification ne permet pas d'apprécier la répartition de la masse grasse. Une obésité androïde ou abdominale est définie par un tour de taille ≥ 80 cm chez la femme et ≥ 94 cm chez l'homme de race caucasienne, mesures anthropométriques utilisables pour les obésités modérées mais non applicables pour les obésités sévères et massives pour les quelles d'autres examens se discutent (DEXA, Scanner) (Vatier et al., 2014). L'obésité abdominale et l'accumulation de graisse au niveau viscéral sont associées au développement de pathologies cardiovasculaires et métaboliques (Alberti et al., 2006). D'autre part, au-delà de l'IMC, le phénotype des obésités doit intégrer des dimensions somatique, psychologique et fonctionnelle, comme le suggère l'Edmonton Obesity Staging System (EOSS) afin de mieux évaluer le stade d'évolution, la gravité et le pronostic pour adapter la prise en charge (Sharma et al., 2009).

Les connaissances sur la physiologie et la physiopathologie du tissu adipeux se sont considérablement développées ces dernières années. De par ses fonctions métaboliques et son rôle endocriné avéré, le tissu adipeux est apparu comme un organe central de l'homéostasie

énergétique et métabolique. Les adipocytes s'hypertrophient (augmentent de volume) au fur et à mesure qu'ils accumulent des lipides (Faucher et al., 2015). Lorsque leur volume maximal est atteint, ils ont la capacité de recruter de nouvelles cellules, les préadipocytes, qui se différencient en adipocytes matures capables de se charger en triglycérides, ceci est appelé l'adipogénèse. Ainsi, la masse du tissu adipeux peut s'accroître non seulement par l'augmentation du volume des adipocytes (hypertrophie), mais aussi par l'augmentation du nombre d'adipocytes qui le compose (hyperplasie).

Une altération de l'adipogénèse, sous l'influence par exemple de certains nutriments, d'agents infectieux ou de polluants, de facteurs nerveux ou hormonaux, peut contribuer à l'expansion de la masse grasse.

Lorsque les capacités de stockage du tissu adipeux sous-cutané sont dépassées, il existe une accumulation ectopique du tissu adipeux au niveau viscéral (graisse omentale), mais également au niveau d'organes multiples tels que le muscle, le cœur (épicaarde), le pancréas, les vaisseaux, et le foie (stéatose hépatique). Ces dépôts ectopiques de tissu adipeux sont responsables de comorbidités de l'obésité, telles que l'insulinorésistance, le diabète de type 2, la maladie athéromateuse coronaire. Au niveau hépatique, la stéatose hépatique peut se compliquer d'une stéato-hépatite (NASH « nonalcoholic steato-hepatitis ») pouvant aller jusqu'à la cirrhose et est fortement associée à l'insulinorésistance et au diabète de type 2 (Figure 8) (Faucher et al., 2015).

Au cours de l'obésité, il existe un état inflammatoire, dit bas grade, caractérisé par une élévation systémique modérée mais chronique d'un ensemble de molécules. Les adipokines exercent des actions pro- ou anti-inflammatoires et de multiples fonctions immunes, l'ensemble étant associé à une infiltration macrophagique du tissu adipeux. Ces deux éléments permettent d'envisager une meilleure compréhension de la physiopathologie de l'obésité, des conséquences locales et des complications potentielles métaboliques, cardiovasculaires ou hépatiques (Clément et al., 2011).

Par ailleurs, le tissu adipeux, outre les adipocytes, contient de nombreuses cellules notamment inflammatoires (macrophages) interagissant avec d'autres organes par la libération de nombreuses substances, les adipokines, qui sont autant de signaux adressés au système nerveux central, au foie, aux muscles, au cœur, aux vaisseaux et à l'intestin. Parmi elles, on retrouve au premier rang la leptine et l'adiponectine, puis la résistine, la visfatine, auxquelles s'associent des cytokines telles que le TNF alpha, l'interleukine 6 et le monocyte chemo-attractant protein 1(MCP1).

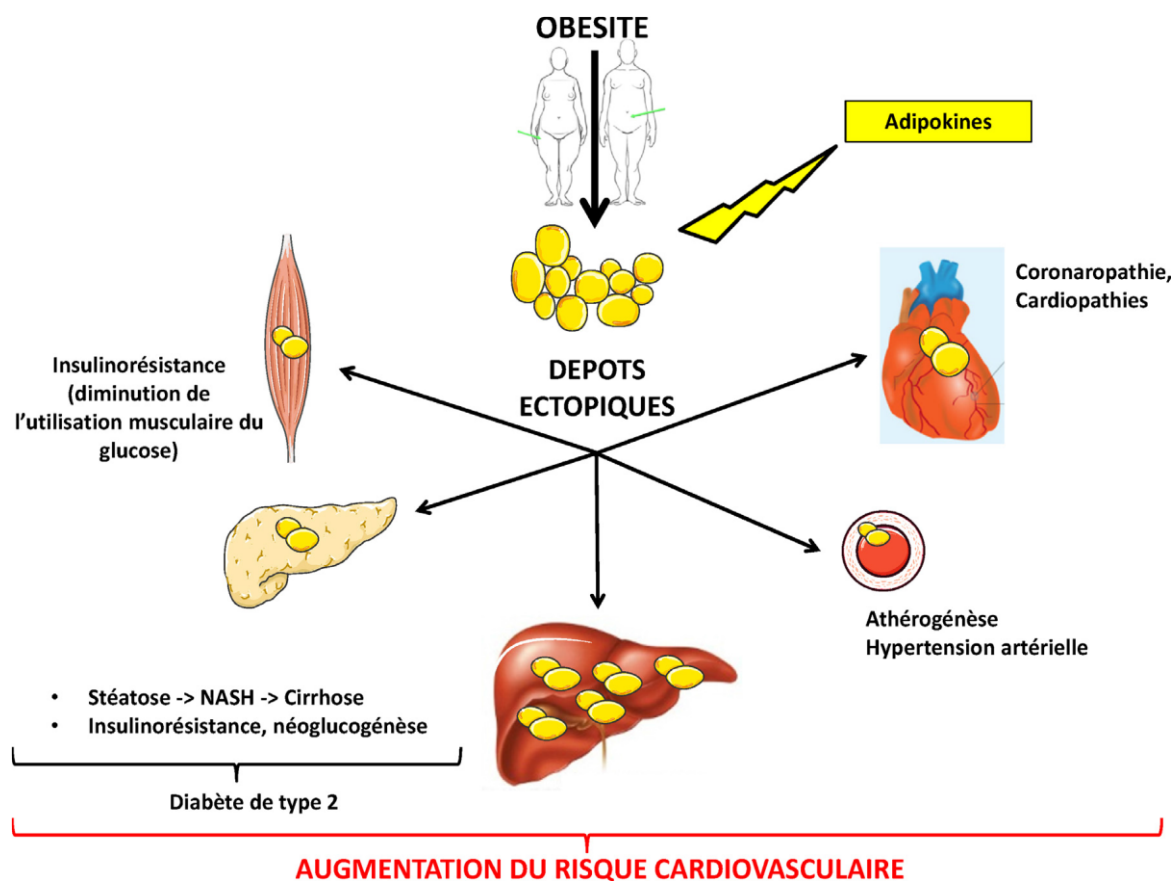


Figure 8. Dépôts ectopiques de tissu adipeux et liens avec les comorbidités (Faucher et al., 2015)

La leptine est produite principalement par les adipocytes du tissu adipeux blanc, surtout au niveau sous-cutané en quantité parallèle à la proportion de masse grasse. Elle joue un rôle majeur au niveau du système nerveux central en stimulant les circuits neuronaux anorexigènes, mais a aussi un rôle dans la sensibilité à l'insuline, et l'état d'inflammation chronique observée dans l'obésité. L'adiponectine est également produite principalement par le tissu adipeux, en quantité inverse de la proportion de masse grasse. Elle est impliquée dans la sensibilité à l'insuline, dans l'inhibition de la néogluco-génèse hépatique, et joue un rôle préventif lors de l'athérogénèse, tout comme dans la diminution de la réponse inflammatoire induite par TNF- α . La résistine est une adipokine découverte récemment, sécrétée potentiellement par les adipocytes et les macrophages et qui pourrait jouer un rôle direct dans l'insulinorésistance observée dans l'obésité ainsi qu'un rôle dans l'altération endothéliale. L'IL6 est une cytokine pro-inflammatoire sécrétée par de nombreuses cellules, y compris par les adipocytes, de façon augmentée dans l'obésité. Plus récemment, de nouvelles adipokines, dont la sécrétion est altérée

dans le tissu adipeux au cours de l'obésité, ont été décrites comme pouvant faire le lien avec les complications de l'obésité (Faucher et al., 2015).

Les modifications du système immunitaire au cours de l'obésité ont été largement documentées. La plupart des défenses de l'hôte sont affectées par une malnutrition, en particulier l'immunité à médiation cellulaire, la production de cytokines, la fonction phagocytaire et le système du complément (Chandra et al., 2002).

L'obésité est liée à une altération de l'immunité liée à des changements métaboliques des lymphocytes T et dans les fonctions phagocytaires menant à une compétence immunitaire altérée (Nieman et al., 1999; Marti et al., 2001; O'Rourke et al., 2005; Adeyemi et al., 2009).

Les taux élevés de leptine au cours de l'obésité peuvent augmenter la prolifération des lymphocytes T et provoquer un dérèglement dans les sous-groupes de lymphocytes (Matarese et al., 2000). Les cytokines sont des régulateurs importants de la fonction immunitaire, jouant un rôle essentiel dans l'activation, la prolifération et la différenciation des lymphocytes (Han et al., 2011). Au cours de l'obésité, la sécrétion de cytokines, en particulier IL-2 et IL-4 est modifiée (Han et al., 2011). L'insulinorésistance associée à l'obésité est constamment associée à des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- γ , l'IL-6 et IL-1 β (Feve et al., 2009; Patel et al., 2013). L'obésité est également associée à la perte de cellules T régulatrices (Treg), anti-inflammatoires, ainsi que l'apparition de nombreuses cellules, comme les cellules B, les cellules NK, les cellules NKT, les éosinophiles, les neutrophiles et les mastocytes (Lumeng et al., 2011).

Chez les sujets obèses, un état de stress oxydant a été mis en évidence. Il est caractérisé par un déséquilibre entre la production d'ERO et les systèmes de défense antioxydants de la cellule, en faveur des ERO (Gardès-Albert et al., 2003; Bonnefont-Rousselot et al., 2013). Les ERO peuvent avoir différentes sources cellulaires, mais la mitochondrie représente une source importante (Rigoulet et al., 2001). Ainsi, les radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) sont produits au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ces radicaux peuvent ensuite donner naissance par réductions successives à d'autres espèces, telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle ($\bullet OH$). Ces ERO, produites de façon physiologique, sont maintenues à des concentrations faibles grâce aux systèmes de défense de l'organisme. Ces systèmes peuvent être enzymatiques, tels que les superoxyde dismutases (SOD), la catalase qui prend en charge le H_2O_2 , les glutathion peroxydases (GSH-Px), ou non enzymatiques constitués par des capteurs d'ERO (glutathion, vitamines E et C, β -carotène, acide urique...). Il faut noter que les ERO ne doivent pas être considérées comme des facteurs uniquement dommageables, mais

participant à de nombreux processus physiologiques tels que ceux liés à la signalisation de l'insuline (Bisbal et al., 2010). Toutefois, 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 des processus inflammatoires (Huslman et al., 2012).

L'obésité joue un rôle déterminant dans l'apparition d'un syndrome en particulier via la dérégulation de la production d'adipokines métaboliques (Matsuzawa et al., 1999). La production d'ERO par le tissu adipeux peut se faire par activation de la NADPH oxydase, enzyme qui catalyse la production de radical superoxyde à partir du dioxygène, et qui intervient dans la signalisation redox impliquée dans l'hypertension, l'athérosclérose, l'activation endothéliale, l'angiogenèse, le dysfonctionnement endothélial (Violi et al., 2009) (Figure 9).

De même, une sensibilité accrue du plasma à l'oxydation a été décrite chez des sujets obèses (Pipek et al., 1996). À l'inverse, une relation négative a été montrée entre adiposité et capacité antioxydante, qu'il s'agisse de la vitamine E et du β - carotène, de la vitamine A, du glutathion, ou des enzymes SOD et GSH-Px (Salazar et al., 1994; Desci et al., 1997; Strauss, 1999; Olusi, 2002; Chrysohoou et al., 2007).

Le stress oxydant peut aussi stimuler la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes. Au cours de l'obésité, l'accumulation excessive de lipides stimule le développement du tissu adipeux en activant la prolifération des pré-adipocytes, leur différenciation en adipocytes et en augmentant la taille des adipocytes (Spiegelman, 2001).

En effet, nous avons vu que l'obésité était associée à un état inflammatoire, en particulier via l'expression de cytokines proinflammatoires telles que l'IL-6 et le TNF- α dans le tissu adipeux (Mohamed-Ali et al., 1997; Eckelet et al., 2002). Or, l'état d'inflammation et le stress oxydant sont intimement liés, comme le montre l'élévation constante de marqueurs de stress oxydant au cours de pathologies inflammatoires (Basu et al., 2001; Cracowski et al., 2002).

La dénutrition chez les sujets obèses peut aussi altérer les mécanismes de défense de l'organisme, notamment par le biais d'une augmentation de la production cellulaire de dérivés réactifs de l'oxygène et une diminution des molécules antioxydantes (vitamines C, E, caroténoïdes...) et de métallo-enzymes impliquées dans la détoxification de ces substances réactives, ce qui peut être à l'origine d'un stress oxydatif (Meziane et al., 2014).

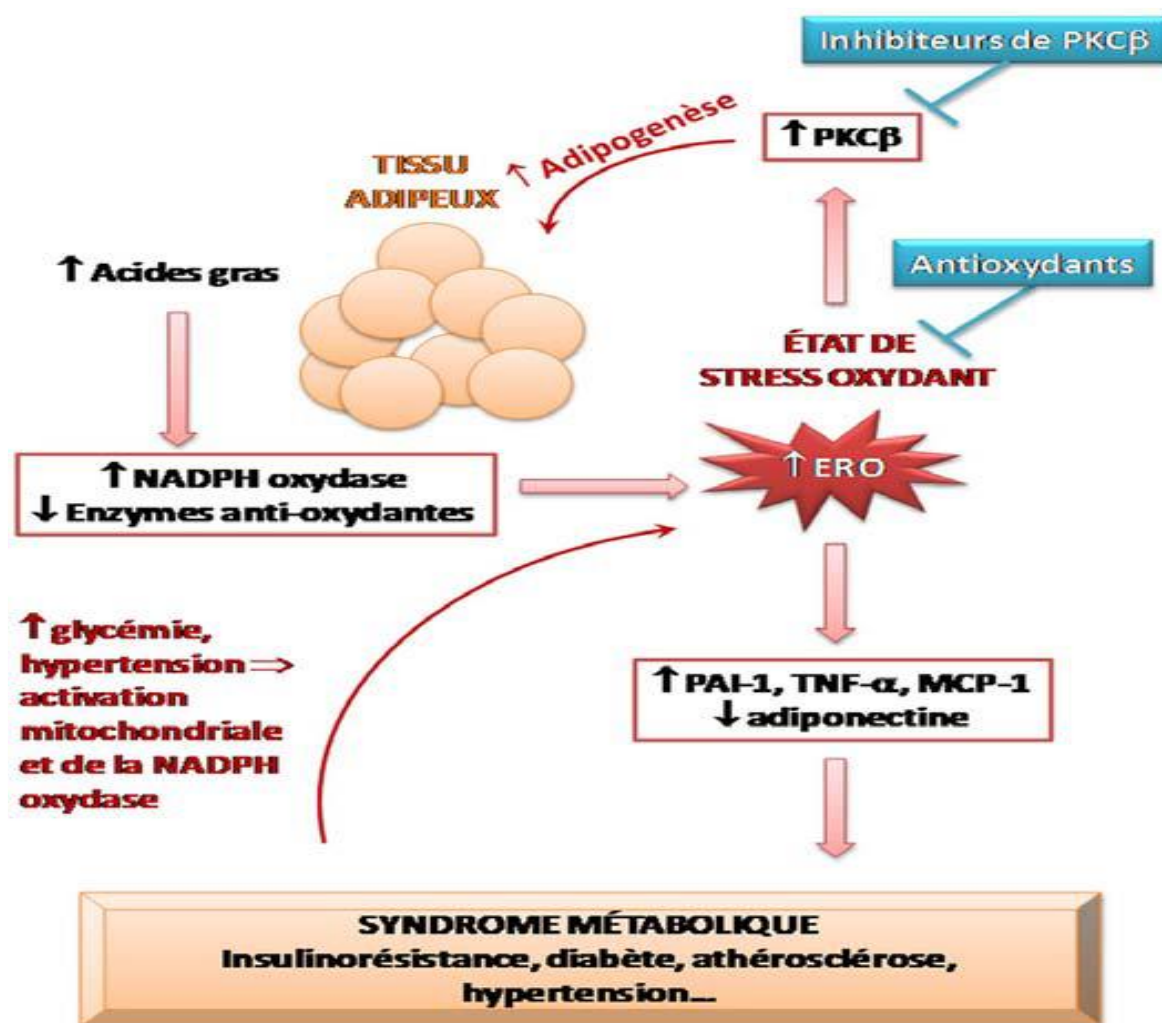


Figure 9. Relation entre obésité, stress oxydant et syndrome métabolique (Furukawa et al., 2004; De Marchi et al., 2013)

ERO : espèces réactives de l'oxygène ; PAI-1 : inhibiteur de l'activateur du plasminogène ; IL-6 : interleukine-6 ; TNF- α : « tumor necrosis factor- α » ; MCP-1 : facteur chimiotactique des monocytes ; PKC β : protéine kinase C β .

7.3. Hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (HTA) est un problème de santé fréquent dont les conséquences peuvent être graves pour les individus et sont très lourdes pour la population (El hassar et al 2015 ; Steinch et al., 2013). Selon l'OMS (2015), l'hypertension, ou tension artérielle élevée, se définit comme une maladie dans laquelle les vaisseaux sanguins subissent en permanence une pression élevée, ce qui peut les endommager. La tension artérielle normale d'un adulte est

établie à 120 mmHg quand le cœur se contracte (pression systolique) et à 80 mmHg quand le cœur se relâche (pression diastolique). Quand la tension artérielle systolique est supérieure ou égale à 140 mmHg et/ou que la tension artérielle diastolique est supérieure ou égale à 90 mmHg, la tension artérielle est considérée comme élevée. La plupart des personnes souffrant d'hypertension ne ressentent aucun symptôme. C'est pour cela qu'on parle de «tueur silencieux». Toutefois, l'hypertension cause parfois les symptômes suivants: maux de tête, essoufflement, étourdissement, douleur thoracique, palpitations cardiaques et saignements de nez.

L'HTA touche plus du quart des adultes dans le monde, et sa prévalence continue à augmenter (Kearney et al., 2005). Pour les pays à faible revenu, l'augmentation s'intègre dans la transition épidémiologique des maladies néonatales, maladies maternelles, maladies nutritionnelles et maladies transmissibles vers les maladies tumorales et les maladies cardiovasculaires. Pour les pays à forts revenus, elle est liée à l'allongement de l'espérance de vie, à la sédentarité et à une alimentation riche en calories, en sel, en produits d'origine animale, et pauvre en produits d'origine végétale. L'HTA occasionne un fardeau de santé qui a augmenté de 30 % dans le monde entre 1990 et 2010, responsable aujourd'hui de plus d'un décès prématuré sur 8 et de 8 % des années de vie en bonne santé perdues (Lawes et al., 2008; Lim et al., 2010). Elle est désormais le facteur de risque modifiable ayant les conséquences de santé les plus lourdes, devant le tabac et l'alcool.

Considérer l'HTA comme un facteur de risque cardiovasculaire et rénal a deux conséquences cliniques. Premièrement, la prise en charge des autres facteurs de risque, tabagisme, diabète, dyslipidémie, sédentarité, a autant d'importance que le traitement antihypertenseur pour réduire le risque global des patients hypertendus (Padwal et al., 2001; Jackson et al., 2005). Secondement, le nombre d'accidents prévenus par le traitement de l'HTA est d'autant plus important que le niveau initial de la PA est élevé. Cela explique que les recommandations relativisent l'indication du traitement antihypertenseur lorsque l'HTA est légère (PA systolique inférieure à 160 mmHg et PA diastolique inférieure à 100 mmHg en mesure clinique) chez des patients sans autre facteur de risque et sans antécédent cardiovasculaire (Mancia et al., 2009; Krause et al., 2011; Daskalopoulou et al., 2012).

L'exercice aérobie régulier et une alimentation à la fois riche en fruits et légumes et limitée en produits d'origine animale font baisser la PA de façon cliniquement significative chez les individus hypertendus (Stein et al., 2013). Par ailleurs, la perte de poids a un impact

significatif sur le niveau de PA en cas d'obésité. Toutes ces mesures sont bénéfiques même en l'absence d'HTA et à peu près dépourvues de risques. Elles peuvent donc être encouragées sans réserve. Concernant la consommation de sel, l'ensemble des données disponibles est en faveur d'un effet délétère sur la santé (Strazzullo et al., 2009). Une consommation de sel supérieure à 5 g/j en moyenne dans le groupe exposé par rapport au groupe témoin était associée à un risque relatif de 1,23 pour les accidents vasculaires cérébraux et 1,14 pour l'ensemble des événements cardiovasculaires.

Une interaction puissante entre le système nerveux autonome et le système immunitaire joue un rôle important dans l'initiation et le maintien de l'hypertension et elle contribue d'une manière significative aux maladies cardio-vasculaires, aux lésions des organes et à la mortalité (Singhet al., 2014). Des études ont montré une association constante entre l'hypertension, les cytokines pro-inflammatoires et les cellules des systèmes immunitaires inné et adaptatif (Toussirot et al., 2012; Yap et al., 2013).

Une forte association entre l'hypertension et l'inflammation, par l'intermédiaire des marqueurs tels que la CRP (protéine C-réactive), a été démontré dans de nombreux essais cliniques. Les patients hypertendus ont généralement des niveaux de CRP plasmatique élevés (Blake et al., 2003; Sung et al., 2003; Bautista et al., 2004; Stuvelling et al., 2004; Xu et al., 2008; Stumpf et al., 2009). La CRP est une protéine de la phase aiguë, impliquée dans les réponses immunitaires innées et a des rôles qui incluent l'activation du système du complément et l'amélioration des phagocytoses (Mortensen et al., 2000). La CRP peut stimuler les monocytes pour libérer des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, IL-1 β , et le TNF- α (Yap et al., 2013), ainsi que des cellules endothéliales pour exprimer la Molécule d'adhérence intracellulaire (ICAM-1) et la molécule d'adhérence vasculaire (VCAM-1) (Pasceri et al., 2000) dont les effets favorisent l'inflammation. La CRP est considéré comme le marqueur inflammatoire avec la plus forte association avec l'hypertension.

Le rôle des lymphocytes dans le développement de l'hypertension a été étudié par plusieurs auteurs. L'activation et l'expansion des lymphocytes exige le système immunitaire inné (Singh et al., 2014). Par exemple, dans des modèles induits (ANG-II et DOCA-sel) de l'hypertension artérielle, l'élimination des monocytes / macrophages ou l'inhibition de leur activation atténue l'augmentation de la pression artérielle (Vasquez-Vivar et al., 1998; Hassoun et al., 2001).

Au cours de l'HTA, une accumulation des cellules T activées est observée dans la graisse périvasculaire et dans les reins. Dans ces sites, ces cellules libèrent des cytokines qui agissent sur les cellules vasculaires adjacentes et l'épithélium tubulaire du rein (Harrison et al., 2010).

Conformément à ce concept, plusieurs études récentes ont appuyé l'idée que les cytokines produites par les cellules T et d'autres cellules inflammatoires contribuent à l'HTA. Le traitement par des antagonistes du $\text{TNF}\alpha$ diminue la pression artérielle de rats spontanément hypertendus (Tran et al., 2009), prévient la dysfonction vasculaire et l'HTA provoquée par l'Ang-II (Guzik et al., 2007), et abaisse la pression artérielle de souris présentant une inflammation chronique (Venegas-Pont et al., 2010).

Chez des rats rendus hypertendus par l'infusion d'Ang II, il a été montré que la production d'IFN- γ (produit par les Th1), au niveau des reins et de la rate, augmente parallèlement à une diminution de la production d'IL-4 (cytokine produite par les Th2) (Shao et al., 2003).

Le stress oxydatif peut-être à l'origine d'une augmentation de la pression artérielle par plusieurs mécanismes. Les ROS provoquent une oxydation non enzymatique de l'acide arachidonique des lipoprotéines et des phospholipides de la membrane cellulaire, ce qui conduit à la génération des produits vasoconstricteurs pro-inflammatoires (tels que l'isoprostane) pouvant contribuer à l'augmentation de la pression artérielle et aux complications cardiovasculaires. L'installation de l'HTA est observée dans diverses situations pathologiques comme l'insuffisance rénale chronique (IRC), le diabète et le syndrome métabolique (Vaziri, 2008). Inversement, l'élévation de la pression artérielle provoque un stress oxydatif (Barton et al., 2001). Ces observations suggèrent que le stress oxydatif est impliqué dans un cercle vicieux dans la pathogénèse de l'HTA (Vaziri, 2008).

Les ERO et les espèces radicalaires de l'azote (ERN) les plus souvent impliquées en physiopathologie de l'hypertension sont l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle ($\text{OH}\bullet$), l'oxyde nitrique ($\bullet\text{NO}$) et le peroxyde nitrite (ONOO^-). Ils ont un rôle majeur dans la survenue de la dysfonction endothéliale. Une source importante de dérivés actifs de l'oxygène est représentée par les oxydases NADH/NADPH qui sont régulées en partie par l'Ang II et certaines cytokines.

Des patients hypertendus présentent au niveau sanguin et au niveau de cellules mononucléaires périphériques non seulement une déficience en antioxydants (SOD, CAT, GPx) mais aussi des quantités importantes de sous produits de la peroxydation des lipides (MDA) et de l'oxydation de l'ADN génomique et mitochondriale (El-hassar et al., 2015 ; Redon et al., 2003). Par conséquent, ces altérations pourraient affecter la fonction des cellules endothéliales et ainsi contribuer au développement et maintien des complications cardiovasculaires durant l'hypertension.

MATERIELS ET METHODES

1. Population étudiée

Notre étude porte sur des patients hommes venant consulter au niveau du service d'endocrinologie et médecine interne du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Algérie).

Cinq populations sont choisies et incluses dans ce travail :

- hommes témoins en bonne santé, ne présentant aucune pathologie (n= 50).
- hommes diabétiques (n=26) atteints de diabète de type 1. Le diabète sucré de type 1 a été diagnostiqué, par le médecin endocrinologue, suite à la présence d'une glycémie supérieure à 1,26 g/L à jeun, et suite à la présence de symptômes du diabète (polyurie, polydypsie, amaigrissement).
- hommes diabétiques (n=15) atteints de diabète de type 2.
- hommes hypertendus (n=15). Ces hommes sont atteints d'hypertension artérielle essentielle définie par des chiffres d'une pression artérielle systolique PAS supérieure à 140 mmHg et/ou une pression artérielle diastolique PAD supérieure à 90 mmHg.
- hommes obèses (n=32) avec un IMC supérieur à 30.

Un interrogatoire minutieux est mené auprès des patients. Dans chaque dossier sont relevés les paramètres suivants : l'âge, la taille, le poids, l'indice de masse corporelle (IMC : poids/ taille², kg/m²), la tension artérielle et la glycémie. Au moment du recrutement des patients, les critères d'inclusion sont :

- Les cas pathologiques recrutés et interrogés doivent être de la même région.
- Les patients sélectionnés sont suivis par les médecins spécialistes qui affirment la présence de la pathologie et le traitement adéquat.

Les hommes témoins sont sélectionnés en même temps que les cas pathologiques. Les critères d'inclusion pour les témoins sont :

- Les hommes recrutés et interrogés doivent être de la même région.
- Les témoins doivent être indemnes de toute pathologie.
- Les témoins sont de la même tranche d'âge que les cas pathologiques et ils ont un IMC < 25 kg /m².

Toutes les personnes participant à ces protocoles sont informées du but de ces recherches, et leur consentement écrit est demandé préalablement (formulaire en annexe).

Cette étude a été réalisée entre le mois de septembre 2013 et le mois de septembre 2014.

Les caractéristiques de la population étudiée sont données dans le Tableau 4.

Tableau 4. Caractéristiques de la population étudiée

Caractéristiques	Témoins	Diabète Type 1	Diabète Type 2	HTA	Obésité
Nombre	50	26	15	15	32
Age (ans)	31,62 ± 2,65	30,25 ± 3,79	38,37 ± 2,40	37,87 ± 2,80	32,37 ± 4,82
IMC (Kg/m ²)	23,00 ± 1,76	22,50 ± 1,45	27,11 ± 1,33*	24,27 ± 1,08	33,84 ± 2**
PAS (mmHg)	120,43 ± 3,26	122 ± 3,35	130,27 ± 3,41	175,22 ± 5,44**	124 ± 2,84
PAD (mmHg)	73,50 ± 2,44	75,52 ± 2,33	80,25 ± 5,32	111,25 ± 3,47**	74,58 ± 3,27
Traitement	-	Insuline	Antidiabétiques oraux	Anticalciques Diurétiques thiazidiques	-

Chaque valeur représente le nombre ou la moyenne ± Ecart type. HTA : hypertension artérielle ; IMC : indice de la masse corporelle, Poids/Taille², Kg/m² ; PAD : pression artérielle diastolique ; PAS : pression artérielle systolique. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de student:

* P < 0,05 ; ** P < 0,01.

2. Analyses biochimiques

2.1. Prélèvements sanguins et Préparation des échantillons

Les prélèvements sanguins se font le matin à jeun, au niveau de la veine du pli du coude chez les hommes témoins et les hommes atteints de diabète (type 1 et 2), d'HTA et d'obésité dans le service d'endocrinologie, et médecine interne du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Le sang prélevé est recueilli à raison de 4 ml dans des tubes à EDTA, préalablement étiquetés et numérotés pour chaque patient. Les échantillons collectés sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 15 min, à température ambiante pour séparer le plasma du culot cellulaire.

Le plasma sert à la détermination des paramètres biochimiques et des marqueurs du stress oxydatif plasmatiques. Le culot restant est lavé avec l'eau physiologique. Les érythrocytes sont lysés par addition d'eau distillée glacée. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 4000 tours / min pendant 10 minutes. Le lysat érythrocytaire est ensuite récupéré afin de doser les paramètres du statut oxydant / antioxydant intracellulaire.

Le dosage du glucose se fait le jour même du prélèvement. Les échantillons ont été stockés au congélateur pendant un temps très court, ne dépassant pas un mois, afin d'éviter la dégradation des protéines et des lipides.

2.2. Détermination des teneurs plasmatiques en glucose (Kits SPINREACT, Ctra. Santa Coloma, Espagne)

Le glucose plasmatique est déterminé 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) incolore en couleur rouge à structure quinonéimine. La coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 505nm.

2.3. Détermination des teneurs plasmatiques en créatinine (Kits SPINREACT, Ctra. Santa Coloma, Espagne)

La créatinine plasmatique est dosée par une méthode colorimétrique basée sur la réaction de l'acide picrique avec la créatinine en milieu basique formant un complexe coloré en jaune orange. L'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm.

2.4. Détermination des teneurs plasmatiques en urée (Kits SPINREACT, Ctra. Santa Coloma, Espagne)

L'urée plasmatique est dosée par une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du diacétyl monooxine et des ions Fe^{3+} . En présence d'ions Fe^{3+} et d'un réducteur, l'urée réagit avec le diacétyl monooxine pour donner un complexe coloré en rose. La coloration obtenue est proportionnelle à la quantité d'urée présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 525 nm.

2.5. Détermination des teneurs en cholestérol (Kits SPINREACT, Ctra. Santa Coloma, Espagne)

Le cholestérol du plasma est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique. Les esters de cholestérol sont hydrolysés par la cholestérol ester hydrolase en cholestérol libre et acides gras. Le cholestérol libre produit et celui préexistant est oxydé par une enzyme cholestérol oxydase en Δ^4 cholesterone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier en présence de peroxydase, oxyde le chromogène en un composé coloré en rouge. La concentration en quinoneimine colorée mesurée à 510 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon.

2.6. Détermination des teneurs en triglycérides (Kits SPINREACT, Ctra. Santa Coloma, Espagne)

Les triglycérides sont dosés par une méthode colorimétrique enzymatique au niveau du plasma. Les triglycérides sont hydrolysés par une lipase en glycérol et en acides gras. Après phosphorylation et oxydation du glycérol, la réaction aboutit au peroxyde d'hydrogène. L'indicateur est la quinoneimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, le 4-amino-antipyrine et du 4-chlorophenol sous l'action catalytique de la peroxydase. La concentration en triglycérides est déterminée à une longueur d'onde de 505 nm.

2.7. Détermination du statut oxydant / antioxydant

2.7.1. Dosage du Malondialdéhyde (Draper et Hadley, 1990)

Le malondialdéhyde (MDA) érythrocytaire représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm.

La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm).

2.7.2. Dosage des protéines carbonylées (Levine et al., 1990)

Les protéines carbonylées (PC) érythrocytaires, marqueurs de l'oxydation protéique, sont mesurées par la réaction au 2-4 dinitrophénylhydrazine (DNPH) qui aboutit à la formation de la dinitrophényl hydrazone colorée.

Les concentrations érythrocytaires en protéines carbonylées (PC) sont déterminées par lecture à des longueurs d'onde de 350 et 375 nm. Les concentrations en PC, analysées sur le lysat sont calculées en utilisant le coefficient d'extinction des PC ($\epsilon = 21,5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$).

2.7.3. Dosage du Glutathion réduit (GSH) (Ellman, 1959)

Le dosage du glutathion réduit (GSH) érythrocytaire est réalisé par la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB).

L'acide thionitrobenzoïque (TNB) à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412 nm avec un coefficient d'extinction égal à $13,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

2.7.4. Détermination de l'activité enzymatique antioxydante de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) (Aebi, 1974)

Cette activité enzymatique est mesurée dans le lysat érythrocytaire par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène. En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H_2O_2 en fonction du temps.

Après incubation, les concentrations du H_2O_2 (substrat de l'enzyme) restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H_2O_2 . La lecture se fait à 420 nm. L'activité de la catalase est exprimée en Unité/ ml ou en Unité/mg de protéine.

3. Etude in vitro

3.1. Choix des nutriments et du modèle d'étude in vitro

Pour notre étude, nous avons choisi de tester les vitamines (C, E) du NADH et des huiles riches en acides gras mono insaturés (n-9) et en acides gras polyinsaturés (n-3) et (n-6) présentes et utilisées dans notre région, à savoir l'huile de nigelle, l'huile d'olive, l'huile de lin et l'huile de tournesol. La composition des huiles est donnée dans le Tableau 5.

Tableau 5. Composition des huiles utilisées

	Huile de lin	Huile d'olive	Huile de nigelle	Huile de tournesol
AGS (%)	9	15	15	15
AGMI (%)	18	60	28	25
C18:2 n-6 (%)	14	22	55	54
C18:3 n-3 (%)	57	1	1	2
C20:4 n-6 (%)	2	2	1	4
Tocophérol (mg/kg)	570	288	361	80
Caroténoïdes (mg/Kg)	8	-	100	-

La composition en acides gras est réalisée par CPG au laboratoire UPRES lipides, Faculté des sciences Gabriel, Université de Bourgogne, Dijon, France. Les teneurs en vitamines sont déterminées par HPLC (Tlemcen, Algérie).

Les concentrations des vitamines et du NADH utilisées sont choisies après l'étude bibliographique: la vitamine C à 50 μM , la vitamine E à 50 μM et le NADH à 500 μM . Les concentrations utilisées dans notre étude ont été choisies selon des études précédentes qui ont montré que ces concentrations n'affectent pas la viabilité cellulaire (Liu et al., 2003; Hernandez et al., 2008; Molina et al., 2014).

Une solution mère de chaque huile à 10 mM TG est préalablement préparée dans de l'éthanol absolu et est gardée à -20°C jusqu'à utilisation. A partir de chaque solution mère, une solution à 30 μM TG est utilisée pour les différentes incubations. Cette concentration est déjà utilisée dans notre laboratoire sans affecter la viabilité des cellules en culture (Djelti et al., 2014).

Pour étudier les effets des vitamines, du NADH et des huiles *in vitro*, nous avons travaillé sur un modèle de cellules humaines d'origine lymphocytaire extraites du sang total prélevé des hommes volontaires témoins, diabétiques (type 1 et 2), hypertendus, et obèses. Le suivi *in vitro* de la prolifération des lymphocytes est un test simple largement utilisé pour apprécier la réponse immune.

3.2. Isolement des lymphocytes

L'isolement des lymphocytes se fait à partir d'un prélèvement sanguin réalisé au niveau de la veine du pli du coude des patients. Le sang prélevé est recueilli dans des tubes héparinés. Un gradient d'Histopaque (Sigma) est utilisé afin de récolter les lymphocytes après centrifugation. L'histopaque, dont la densité est de 1,075, permet l'agrégation des hématies. La migration différentielle durant la centrifugation résulte en la formation de différentes couches contenant les différents types de cellules sanguines. Ainsi, les globules rouges et les granulocytes sédimentent complètement et se retrouvent dans le culot. Les lymphocytes ayant une densité inférieure à celle d'histopaque (Tableau 6) se trouvent à l'interface entre l'histopaque et le plasma après centrifugation.

Ils sont par contre contaminés par d'autres cellules à sédimentation lente (Monocytes, plaquettes) (Figure 10). Les lymphocytes sont récupérés de l'interface puis sont lavés pour éliminer les contaminants (Histopaque, plasma, plaquettes,...). Le lavage se fait avec une solution saline équilibrée.

Après mélange et centrifugation, le surnageant est éliminé. Le lavage est recommencé deux fois, et les lymphocytes isolés sont prêts à l'emploi.

Les lymphocytes lavés sont par la suite remis en suspension dans 400µl de milieu de culture RPMI 1640.

Afin de tester la viabilité des cellules isolées, 50µl de cette suspension cellulaire sont prélevés dans un tube sec et sont mélangés à 50µl d'une solution de bleu de trypan 0,4 % et 50µl de milieu RPMI 1640. La numération cellulaire est effectuée sur une chambre quadrillée «Cellule de Malassez ». Par la suite, la suspension cellulaire est ajustée à une concentration de 4.10^6 cellules/ml.

Tableau 6. Taille et densité des cellules sanguines

	Taille (μM)	Densité	Vitesse de sédimentation	
Globules rouges	7 (6.5-7.5)	1.098 (1.098-1.105)	+	
Éosinophiles	12 (12-15)	1.091 (1.087-1.096)	↑	
Neutrophiles	12 (12-15)	1.088 (1.082-1.097)		
Basophiles	9.5 (9-10)	1.078 (1.074-1.082)		
Monocytes	15 (15-20)	1.071 (1.065-1.075)		
Lymphocytes	9 (8-10)	1.063 (1.057-1.067)		
Plaquettes	2-3	1.040		-

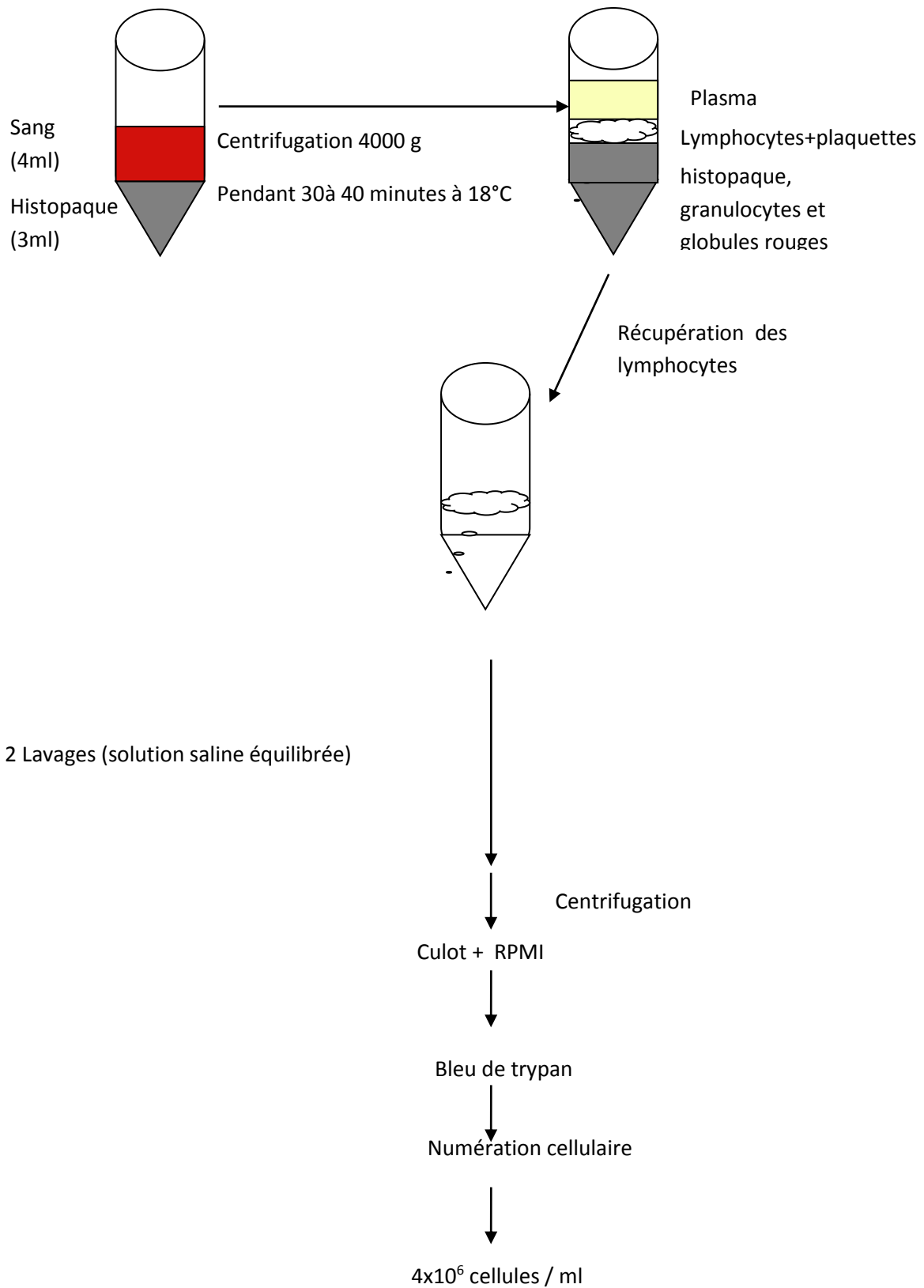


Figure 10. Méthode d'isolement et purification des lymphocytes

3.3. Test de transformation lymphoblastique (TTL)

Le TTL permet d'étudier la prolifération *in vitro* des lymphocytes T stimulés par des agents mitogènes spécifiques. La Concanavaleine A (Con A, Sigma, St. Louis, MO, USA), mitogène spécifique des cellules T est utilisée à une concentration finale de 5 µg/ml. Les cultures sont réalisées sur des plaques ELISA de 96 puits à fond plat (Nunc- Elisa).

Les lymphocytes sont mis en culture (4×10^5 cellules/puit) dans le milieu RPMI 1640 au quel sont ajoutés le tampon HEPES (25 mM), 10% sérum du veau fœtal, L - Glutamine (2mM), 2-mercaptoethanol (5×10^{-5} M), pénicilline (100 UI/ml) et streptomycine (100 µg/ml) en présence ou en absence de la Con A (5 µg/ml).

Les essais sont réalisés en triples. Afin de déterminer les effets des vitamines du NADH et des huiles sur la prolifération *in vitro* des lymphocytes, les cellules sont mises en culture en présence des deux vitamines (vitamine C, E), du NADH et des quatre huiles (lin, olive, nigelle, tournesol) à une concentration finale de 50µM pour les vitamines C, E et 500µM pour le NADH, et de 30 µM TG pour les huiles. Les plaques sont ensuite mises à incuber 48 heures à 37°C, 5% de CO₂.

A la fin de l'incubation, les cellules sont prélevées dans une nouvelle plaque Elisa 96 puits. Les puits sont lavés avec le milieu RPMI 1640 afin de récupérer l'ensemble des cellules.

La détermination de la prolifération lymphocytaire se fait par comptage des cellules (cellule de malassez), confirmée par la méthode du MTT [3-(4,5-Dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide].

La vérification du taux des dommages au niveau de l'ADN se fait selon la méthode de Fenech et al. (2003). Après incubation, 20µl de la suspension cellulaire sont prélevés et déposés sur une lame. La fixation se fait par le mélange méthanol/ acide acétique (3/1, V/V) pendant 5 minutes et la coloration est réalisée par le Giemsa pendant 30 minutes. Après séchage, les observations se font au microscope optique à un grossissement de $\times 100$ avec l'huile d'immersion.

Les cellules présentant des micronoyaux (noyaux fragmentés) sont comptées sur un ensemble de 200 cellules présentes sur la lame.

Une prise aliquote des suspensions cellulaires est centrifugée à 6000 tours/min pendant 5 minutes. Le surnageant est récupéré pour le dosage des interleukines IL-2, IL-4, et INF γ .

3.3.1. Comptage des lymphocytes

Le comptage des lymphocytes se fait à l'aide de la cellule de Malassez. Le principe est basé sur le décompte au microscope optique des cellules, après coloration au bleu de Trypan, contenues dans un volume de suspension cellulaire déterminé et à dilution connue.

3.3.2. Détermination de la prolifération lymphocytaire par la méthode MTT

La méthode MTT est une méthode colorimétrique basée sur la capacité des enzymes mitochondriales (succinate déshydrogénase) dans les cellules vivantes à transformer les sels de tétrazolium (couleur jaune) en produits insolubles de formazan (couleur bleue violacée).

La concentration de Formazan obtenue est directement proportionnelle au nombre de cellules présentes dans la suspension cellulaire. Cette technique permet de mesurer la viabilité et la prolifération lymphocytaire, et les résultats sont parallèles à ceux obtenus par la méthode de référence utilisant la thymidine radioactive incorporée dans l'ADN (Mosmann, 1983). La solution de MTT [3-(4,5-Diméthyl thiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide] (Sigma, USA) est préparée à une concentration de 5 mg/ml dans le tampon phosphate (PBS, PH 7.5), filtrée puis conservée à 4° C à l'abri de la lumière.

A la fin des incubations et après récolte des cellules, une prise aliquote de la suspension cellulaire est de nouveau incubée en présence du MTT (5 mg/ml) à 37° C, 5% CO₂ pendant 3 heures. L'addition du HCL 0,04M dans l'isopropanol permet la dissolution des cristaux bleus Formazan. La lecture des densités optiques se fait au spectrophotomètre à 630 nm. L'indice de stimulation (IP) est calculé :

$IP = (\text{densité optique des cellules stimulées} / \text{densité optique des cellules non stimulées}) \times 100$
(Moussa et al., 2000).

NB : Cellules stimulées: cellules prélevées des puits après les incubations en présence de l'agent mitogène.

Cellules non stimulées: cellules provenant de la suspension cellulaire initiale avant incubation, ou cellules incubées sans l'agent mitogène.

3.4. Dosage des cytokines

3.4.1. Dosage des Interleukines 2 (IL-2)

Le dosage des interleukines 2 (IL-2) se fait selon le protocole du kit ELISA (Invitrogen, Canada.) pour IL2. Le principe est basé sur l'utilisation de deux anticorps : un anticorps monoclonal anti-IL-2 et un polyclonal conjugué à la biotine. Un revêtement d'anticorps

monoclonal anti- IL-2 est administré dans les micropuits de la plaque ELISA. L'IL-2 présente dans l'échantillon ou le standard, se lie aux anticorps absorbés dans les micropuits. L'anticorps anti- IL2 polyclonal conjugué à la biotine est ajouté et se lie à IL2 capturée par le premier anticorps. L'anti- IL2 conjugué à la biotine non lié est enlevé pendant l'étape de lavage. La streptavidine-HRP est ajoutée et se lie à l'anti- IL2 conjugué à la biotine. Pour l'incubation suivante, la streptavidine-HRP non lié est enlevée durant le lavage, et la solution de substrat réagissant avec le HRP est ajoutée aux puits. Un produit coloré est formé proportionnellement à la quantité des IL2 présents dans l'échantillon. La réaction est terminée par l'addition d'acide et l'absorbance est mesurée à 450 nm. Une courbe étalon est préparée à partir du standard IL-2 fourni par le Kit de dosage.

3.4.2. Dosage des Interleukines 4 (IL-4)

Le principe du dosage des interleukines 4 (IL-4) repose sur l'utilisation d'un anticorps monoclonal anti-IL-4 et un polyclonal anti- IL-4 conjugué à la biotine. La technique utilisée est comparable à celle du dosage des IL-2. La gamme étalon est préparée à partir d'un standard IL-4 (Invitrogen, Canada).

3.4.3 Dosage de l'interféron γ (INF γ)

Le principe du dosage de l'interféron γ (INF γ) repose sur l'utilisation d'un anticorps monoclonal anti-INF γ et un polyclonal anti- INF γ conjugué à la biotine. La technique utilisée est comparable à celle du dosage des IL-2 et IL-4. La gamme étalon est préparée à partir d'un standard INF γ fourni dans le Kit (Invitrogen, Canada).

3.5. Détermination des marqueurs du stress oxydatif au niveau des lymphocytes

3.5.1. Détermination des taux en Glutathion réduit des lymphocytes

Les taux en Glutathion réduit (GSH) sont mesurés par une méthode colorimétrique suivant le protocole du Kit BIOXYTECH GSH-400 (OXIS International, Inc., Portland, OR, USA). Les lymphocytes sont suspendus dans l'acide métaphosphorique (5%, P/V). Après centrifugation à 3000g pendant 10 min, le surnageant est mélangé au tampon phosphate de potassium contenant l'acide diethylene triamine, Penta-acétique et le lubrol (pH 7,8). Le chromogène est par la suite ajouté dans le milieu réactionnel. Le mélange est incubé à 25°C pendant 10 min à l'abri de la lumière. La lecture se fait à 400 nm. Les concentrations en GSH sont obtenues grâce à courbe étalon préparé avec le GSH standard.

3.5.2. Détermination de l'activité de la Catalase des lymphocytes (CAT ; EC 1.11.1.6)

Cette activité enzymatique est mesurée dans le lysat lymphocytaire par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (Aebi, 1974), comme cité ci-dessus.

3.5.3. Teneurs en malondialdéhyde (MDA) des lymphocytes

Le MDA est dosé au niveau du lysat lymphocytaire en utilisant l'acide thiobarbiturique selon la méthode de Draper et Hadley (1990), cité ci-dessus.

3.5.4. Teneurs en Protéines Carbonylées des lymphocytes

Les protéines carbonylées sont mesurées dans le lysat lymphocytaire par la réaction au 2,4-dinitrophénylhydrazine selon la méthode de Levine et al. (1990), comme cité ci-dessus.

3.5.5. Dosage de l'anion superoxyde lymphocytaire

Les teneurs en anion superoxyde sont dosées dans le lysat des lymphocytes en utilisant la méthode d'Auclair et Voisin (1985). La méthode est basée sur la réduction de nitro blue tetrazolium (NBT) en monoformazon en présence des radicaux superoxydes. La couleur jaune obtenue est mesurée à 550 nm.

4. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart type. L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel STATISTICA (version 4.1, Statsoft, Paris, France). La comparaison entre deux groupes (patient versus témoin) est réalisée par le test « t » de Student. Les multiples comparaisons sont réalisées par le test ANOVA. Lorsque des changements significatifs sont observés dans les tests ANOVA, cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes.

RESULTATS ET INTERPRETATION

1. Paramètres biochimiques chez la population étudiée

1.1. Teneurs plasmatiques en glucose, cholestérol et triglycérides chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses, et hypertendus (Figure 11 et Tableau A1 en annexes)

Les teneurs plasmatiques en glucose sont augmentées significativement chez les patients diabétiques de type 1 et 2 et chez les obèses par rapport aux valeurs obtenues chez les témoins hommes. Par contre aucune différence significative n'est trouvée chez les patients hypertendus comparés aux témoins.

Les teneurs plasmatiques en cholestérol et en triglycérides chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus varient significativement comparées aux valeurs obtenues chez leurs témoins. Une augmentation significative des teneurs plasmatiques en lipides est notée au cours du diabète, de l'obésité et de l'hypertension ; les valeurs les plus élevées sont notées chez les diabétiques de type 2.

1.2. Teneurs plasmatiques en urée et en créatinine chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus (Figure 12 et Tableau A1 en annexes)

Aucune variation significative concernant les teneurs plasmatiques en urée et en créatinine n'est notée chez les hommes diabétiques de type 1 et 2 ou obèses comparés aux hommes témoins. Par contre les teneurs plasmatiques en créatinine et en urée chez les sujets hypertendus sont significativement augmentées par rapport aux valeurs des témoins.

2. Statut oxydant / antioxydant chez la population étudiée

2.1. Teneurs érythrocytaires en malondialdéhyde et en protéines carbonylées chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus (Figure 13 et Tableau A2 en annexes)

Chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus, une augmentation hautement significative est notée concernant les taux érythrocytaires en malondialdéhyde comparés au groupe témoin.

Une augmentation hautement significative des teneurs érythrocytaires en protéines carbonylées est aussi notée chez les hommes diabétiques de type de 1 et 2, obèses et hypertendus par rapport aux valeurs témoins.

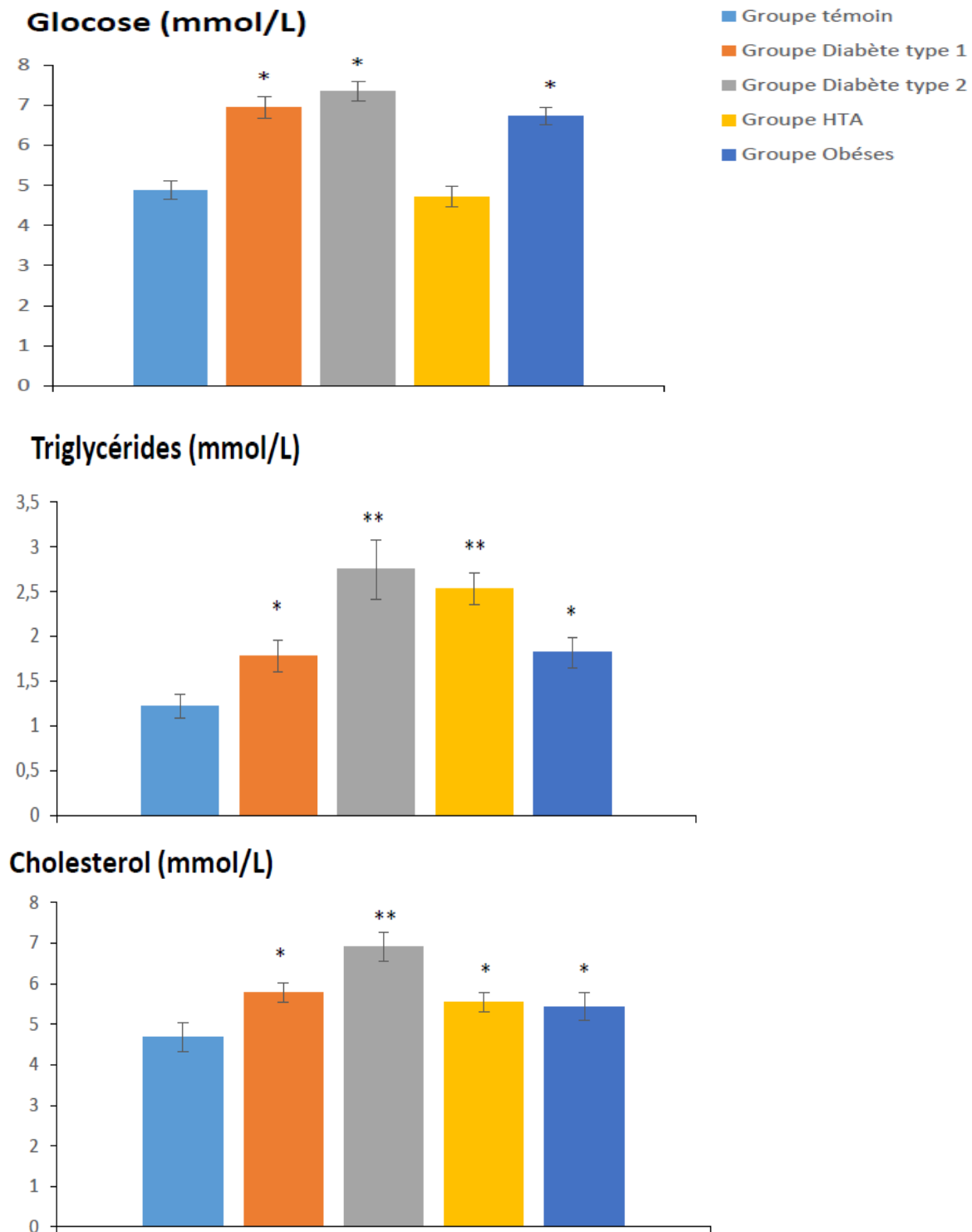


Figure 11. Teneurs plasmatiques en glucose, cholestérol et triglycérides chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type. HTA : hypertension artérielle. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

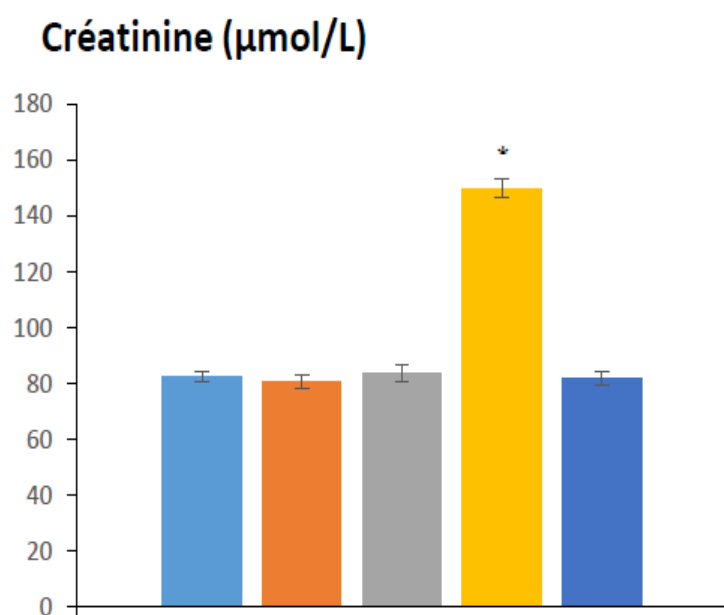
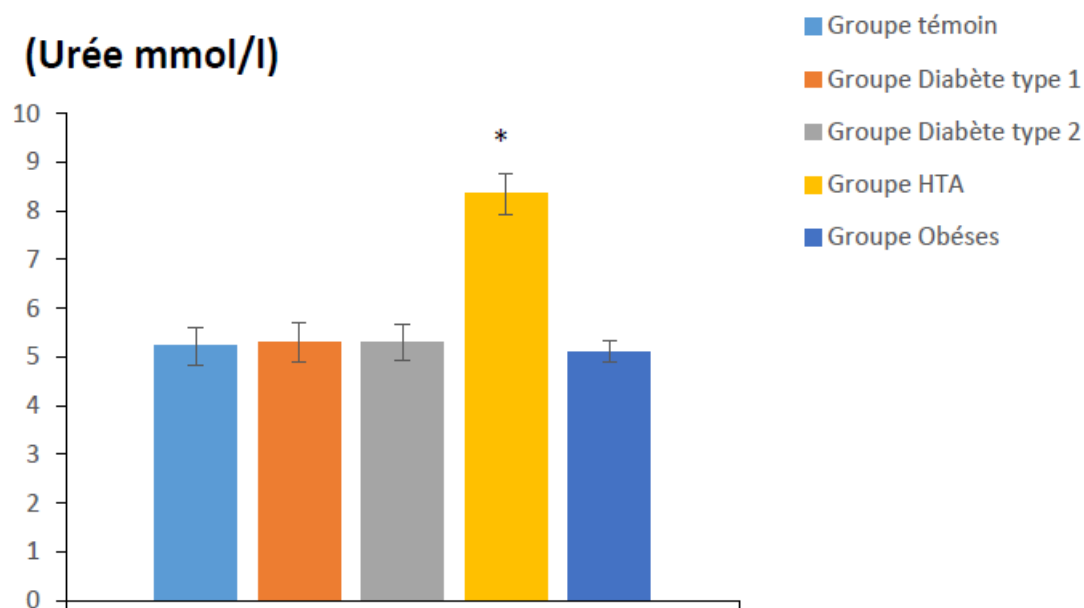


Figure 12. Teneurs plasmatiques en urée et créatinine chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses, hypertendus et témoins

Chaque valeur représente le nombre ou la moyenne \pm Ecart type. HTA : hypertension artérielle. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de student : * P < 0,05; ** P < 0,01.

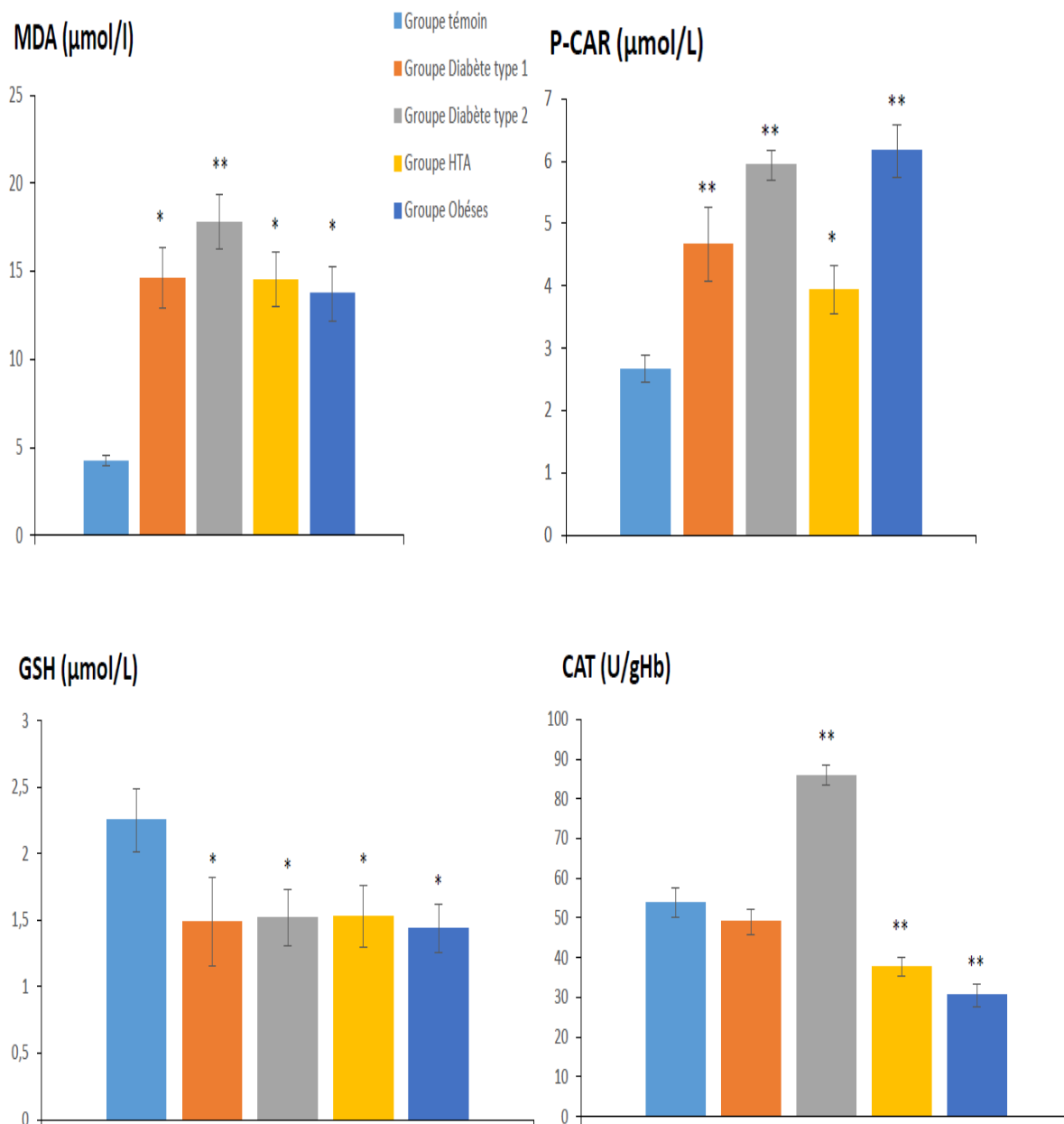


Figure 13. Statut oxydant/antioxydant chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses, hypertendus et témoins

Chaque valeur représente le nombre ou la moyenne \pm Ecart type. HTA : hypertension artérielle ; MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; CAT : catalase ; GSH : glutathion réduit. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de student: * P < 0,05 ; ** P < 0,01.

2.2. Teneurs érythrocytaires en glutathion réduit et activité de la catalase chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, obèses et hypertendus (Figure 13 et Tableau A2 en annexes)

Les activités érythrocytaires de l'enzyme catalase montrent une diminution hautement significative chez les hommes diabétiques de type 1, chez les obèses et les hypertendus comparés aux hommes témoins. Par contre, les patients diabétiques de type 2 présentent une activité de la catalase élevée par rapport à l'activité obtenue chez les témoins.

Chez les hommes diabétiques de type 1 et 2, les obèses, et les hypertendus, les teneurs érythrocytaires en glutathion réduit sont diminuées significativement comparées aux valeurs témoins.

3. Etude in vitro : effets des nutriments sur les cellules en culture

3.1. Cas du diabète de type 1

3.1.1. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération lymphocytaire (Figure 14 et Tableau A3 en annexes)

La prolifération lymphocytaire in vitro en présence d'agent mitogène, la Concanavaline A (Con A) est représentée sous forme de l'indice de prolifération en présence ou en absence des vitamines (vitamine C, E), du NADH et des huiles (l'huile d'olive l'huile de lin, l'huile de nigelle, l'huile de tournesol).

La prolifération des lymphocytes est significativement diminuée chez le groupe diabétique de type 1 comparé au groupe témoin en présence de la Con A et de l'huile d'olive alors qu'elle est significativement augmentée en présence de NADH. Par contre, aucune différence significative entre les deux groupes n'est remarquée en présence de la vitamine C, E, ou des huiles de lin, nigelle et tournesol.

La présence de la vitamine C, E, le NADH ou de l'huile de nigelle dans le milieu de culture stimule la prolifération lymphocytaire chez le groupe diabétique de type 1. Par contre, l'huile d'olive, de lin et de tournesol n'ont aucun effet sur la prolifération lymphocytaire in vitro.

Les variations entraînées par la vitamine E, le NADH et l'huile d'olive, de nigelle et l'huile de tournesol sont similaires chez le groupe témoin et le groupe diabétique. De plus, l'huile de lin provoque une réduction de la prolifération cellulaire chez le groupe témoin et aucun effet n'est observé en présence de la vitamine C.

3.1.2. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (Figure 15 et Tableau A4, A5, A6 en annexes)

La sécrétion des cytokines (IL-2, INF- γ et IL-4) par les lymphocytes des deux groupes témoins et diabétiques type 1 est modulée significativement par la présence des vitamines, du NADH et des huiles.

La sécrétion des IL-2 par les lymphocytes chez les diabétiques de type 1 est significativement réduite comparée à celle des témoins en présence de l'agent mitogène Con A et de l'huile d'olive, significativement augmentée en présence du NADH et normalisée en présence de la vitamine C, E et l'huile de lin, nigelle, et tournesol.

Chez les diabétiques de type 1, en présence de la vitamine C, E, NADH et de l'huile de nigelle, la sécrétion de l'IL-2 est significativement augmentée comparée à celle en présence de la Con-A. Par contre, en présence de l'huile d'olive, de lin et de nigelle, aucune différence significative n'est observée.

Chez les témoins, la présence de la vitamine C, du NADH, l'huile d'olive et l'huile de tournesol n'a aucun effet sur la sécrétion de l'IL-2, alors que la vitamine E et l'huile de nigelle induisent une augmentation, de la sécrétion de l'IL-2, par contre elle diminue en présence de l'huile de lin.

La sécrétion de l'interleukine-4, IL-4, par les lymphocytes du groupe témoin et diabétique ne présente pas de variations significatives en présence des huiles olive, nigelle et lin. Par contre, la présence d'huile de tournesol induit une diminution de la sécrétion de l'IL-4. La présence des vitamines C, E et NADH dans le milieu de culture augmentent significativement la sécrétion de l'IL-4 par rapport à celle en présence de la Con A chez les diabétiques de type 1. On note aussi que dans ce cas, les taux d'IL-4 sont significativement plus élevés chez les diabétiques de type 1 comparés aux témoins.

La sécrétion d'INF- γ en présence de la Con A est diminuée significativement chez le groupe diabétique de type 1 par rapport au groupe témoin.

La présence des vitamines, le NADH et l'huile nigelle augmente significativement la sécrétion d'INF- γ chez les diabétiques de type 1. Par contre, elle diminue en présence de l'huile d'olive. De plus, aucune différence n'est observée en présence d'huile de lin, et de tournesol. Chez le groupe témoin, la vitamine E et l'huile de nigelle induisent une augmentation significative de la sécrétion de l'INF- γ . Par contre, les taux de l'INF- γ diminuent en présence de l'huile de lin, et aucun effet n'est observé en présence de l'huile d'olive, de tournesol, vitamine C et le NADH.

La sécrétion de l'INF- γ est significativement diminuée chez les diabétiques par rapport aux témoins en présence des huiles : d'olive, de nigelle, de tournesol et des vitamines. De plus, la présence du NADH normalise la sécrétion de l'INF- γ , et aucun effet n'est noté en présence de l'huile de lin.

Chez les diabétiques, le rapport Th1/Th2 représenté par le rapport INF- γ /IL-4 (Figure 16 et Tableau A7 en annexes) est augmenté significativement en présence de la vitamine E, du NADH et de l'huile de nigelle et de tournesol par rapport à l'incubation en présence de la Con A seule. Par contre, ce rapport ne varie pas significativement en présence de la vitamine C, et de l'huile de lin, et il diminue en présence de l'huile d'olive par rapport à l'incubation basale. Chez les témoins, la présence de la vitamine E, de l'huile de nigelle et de tournesol induisent une augmentation de ce rapport, alors que l'huile de lin le diminue significativement. Par contre, l'huile d'olive, la vitamine C et le NADH n'ont aucun effet sur ce rapport. Chez les diabétiques de type 1, le rapport INF- γ /IL-4 est diminué par rapport aux valeurs chez les témoins en présence de la vitamine E, de l'huile d'olive et de l'huile de tournesol, alors que les autres variations de ce rapport sont non significative.

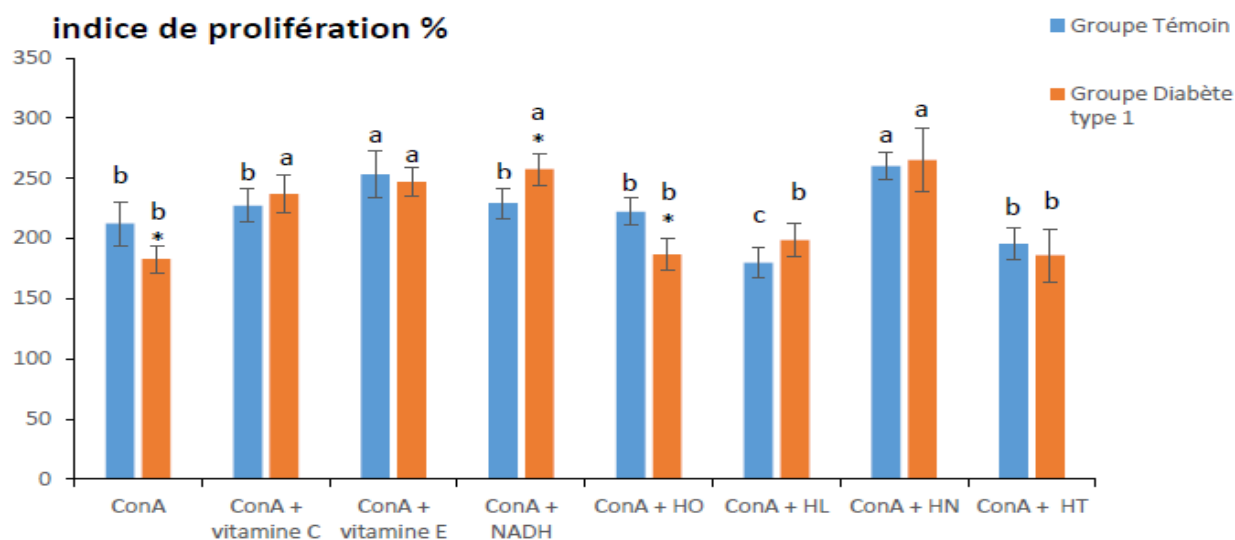


Figure 14. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération des lymphocytes in vitro chez les diabétiques de type 1 et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

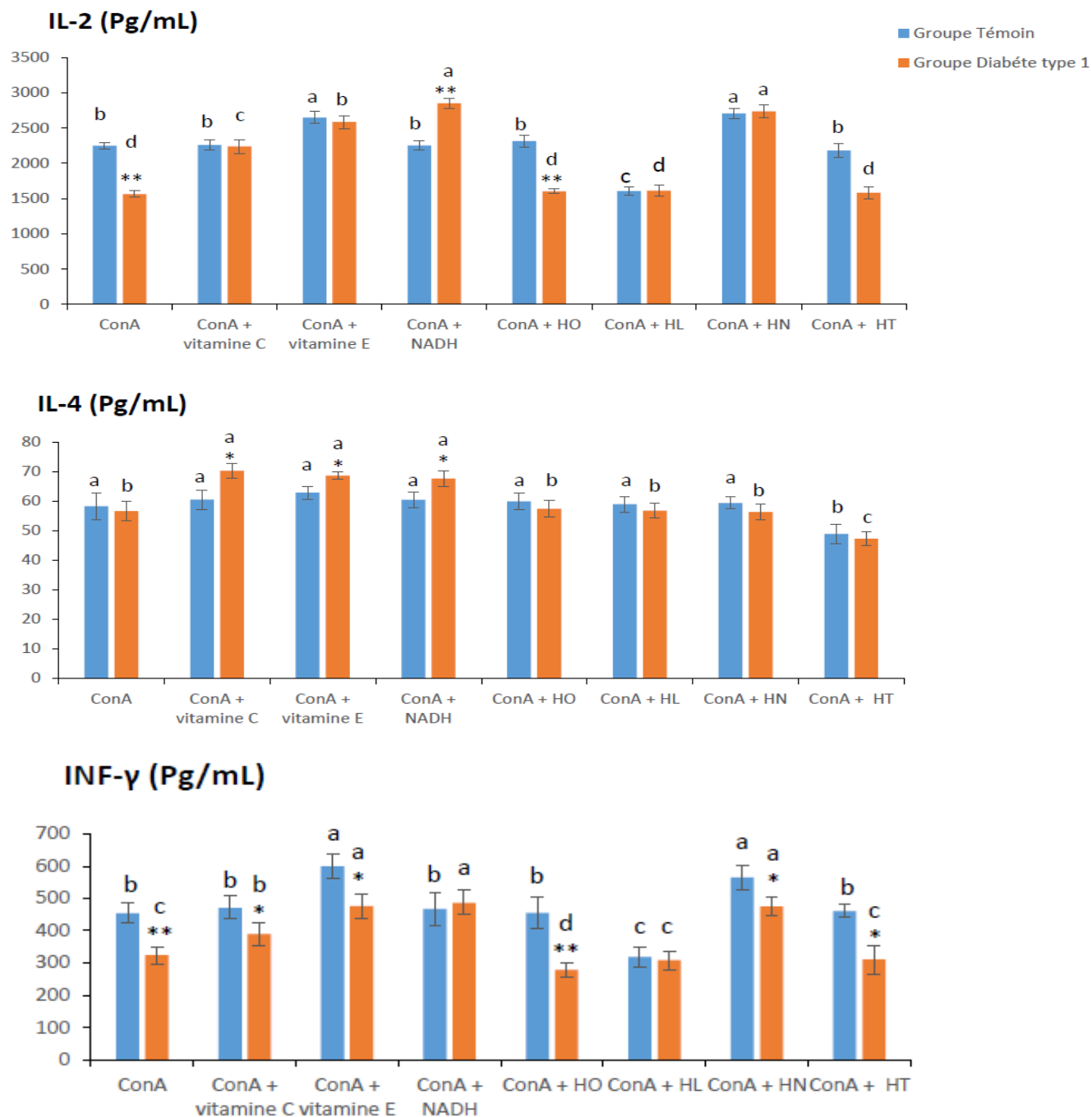


Figure 15. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (IL-2, IL-4, INF- γ) par les lymphocytes chez les diabétiques de type 1 et leurs témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

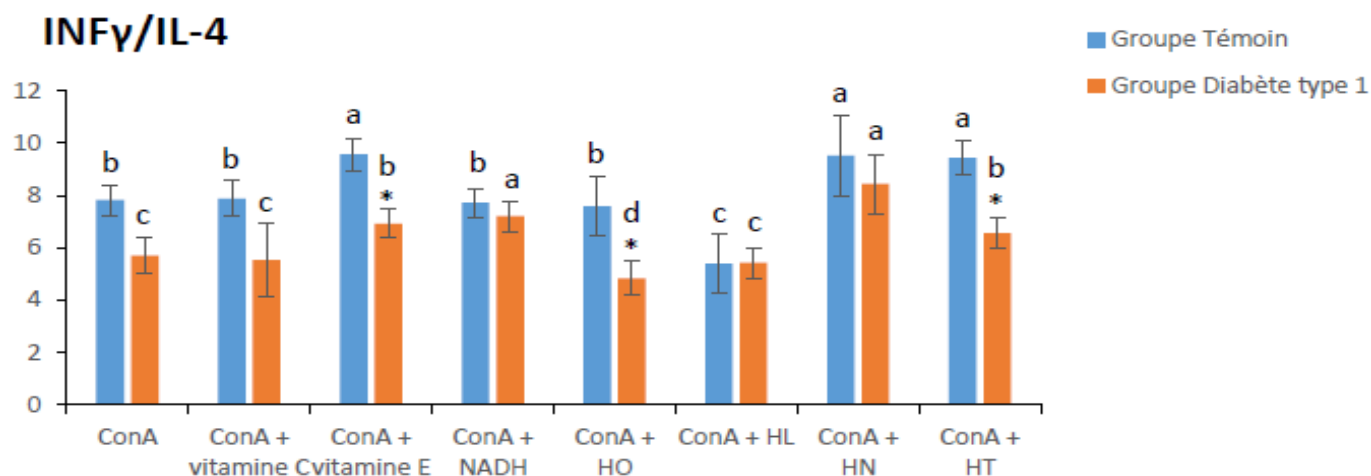


Figure 16. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le rapport INFγ/IL-4 chez les diabétiques de type 1 et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; O₂⁻ : anion superoxyde ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

3.1.3. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant (Figure 17 et Tableau A8 en annexes)

Les teneurs en MDA lymphocytaires sont augmentés significativement chez les diabétiques par rapport à leurs témoins en présence de la Con-A, du NADH et de l'huile de tournesol. Chez le groupe diabétique, les teneurs en MDA diminuent significativement en présence des vitamines, du NADH et des huiles d'olive, de lin et de nigelle, et aucun effet n'est observé en présence de l'huile de tournesol. Par contre chez les témoins, aucune différence significative n'est observée. Une augmentation significative des teneurs en protéines carbonylées est observée chez les lymphocytes des diabétiques de type 1 par rapport à leurs témoins en présence de la Con A, vitamine C, le NADH, huile d'olive, nigelle, lin et tournesol. Par contre, en présence de la vitamine E, une normalisation des teneurs en protéines carbonylées est notée chez les diabétiques par rapport à leurs témoins.

Chez les diabétiques, une diminution significative des teneurs en protéines carbonylées est induite par la vitamine C, E, le NADH, l'huile de lin et de nigelle. Par contre, l'huile d'olive

et de tournesol ne provoquent aucune variation. Ces micronutriments n'ont aucun effet sur les taux lymphocytaires en protéines carbonylées chez le groupe témoin.

Les teneurs en anion superoxyde sont augmentées significativement chez les diabétiques de type 1 en présence de la Con-A, de l'huile d'olive et de tournesol et du NADH par rapport aux valeurs chez les témoins. En présence de la vitamine C, E, de l'huile de lin et de nigelle, une normalisation des teneurs en anion superoxyde est observée chez les diabétiques par rapport à leurs témoins.

En présence de la vitamine C, E, le NADH, de l'huile de lin et de nigelle, une diminution significative des teneurs en anion superoxyde est observée chez les diabétiques. Chez le groupe témoin, la présence de la vitamine E, de l'huile de lin et de nigelle induit une diminution des teneurs en anion superoxyde. Les autres variations sont non significatives.

3.1.4. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant (Figure 18 et Tableau A9 en annexes)

Chez les diabétiques de type 1, les taux de GSH lymphocytaire sont diminués d'une manière significative en présence de la Con A seule, du NADH, de l'huile d'olive et de tournesol et il est augmenté en présence de la vitamine C comparés aux valeurs des témoins. Une normalisation des taux de GSH en présence de la vitamine E, de l'huile de lin et de nigelle est observée. Chez les diabétiques de type 1, les vitamines C, E, les huiles de lin et de nigelle induisent une augmentation significative des taux de GSH par rapport aux valeurs basales. Chez les témoins, la vitamine E, l'huile de nigelle et de lin augmentent significativement les taux de GSH comparés aux valeurs basales.

Une diminution significative de l'activité de la catalase en présence de la Con-A, vitamine C, NADH, huile d'olive et de tournesol est observée chez les diabétiques de type 1 comparés aux témoins. De plus, une normalisation de cette activité est induite par la vitamine E, l'huile de lin et de nigelle.

La vitamine E, l'huile de lin et de nigelle potentialisent l'activité de la catalase, alors qu'aucun effet n'est noté en présence de la vitamine C, le NADH, de l'huile d'olive et de tournesol chez les diabétiques de type 1. Chez les témoins, une augmentation significative en présence de l'huile de lin et de nigelle est notée par rapport aux valeurs basales. Par contre, les autres variations sont non significatives.

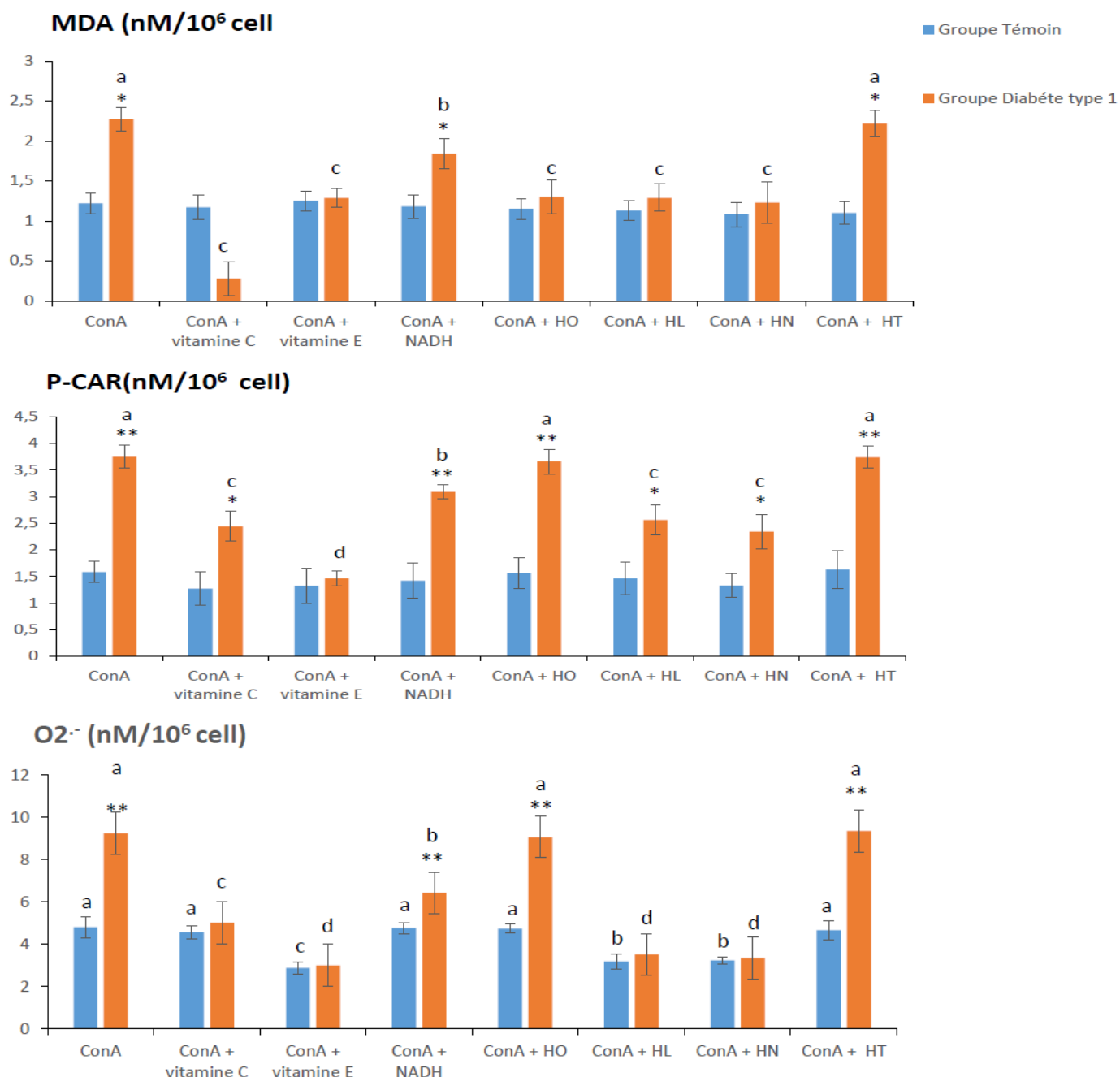


Figure 17. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant chez les diabétiques de type1 et leurs témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; O₂⁻ : anion superoxyde ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P< 0,05).

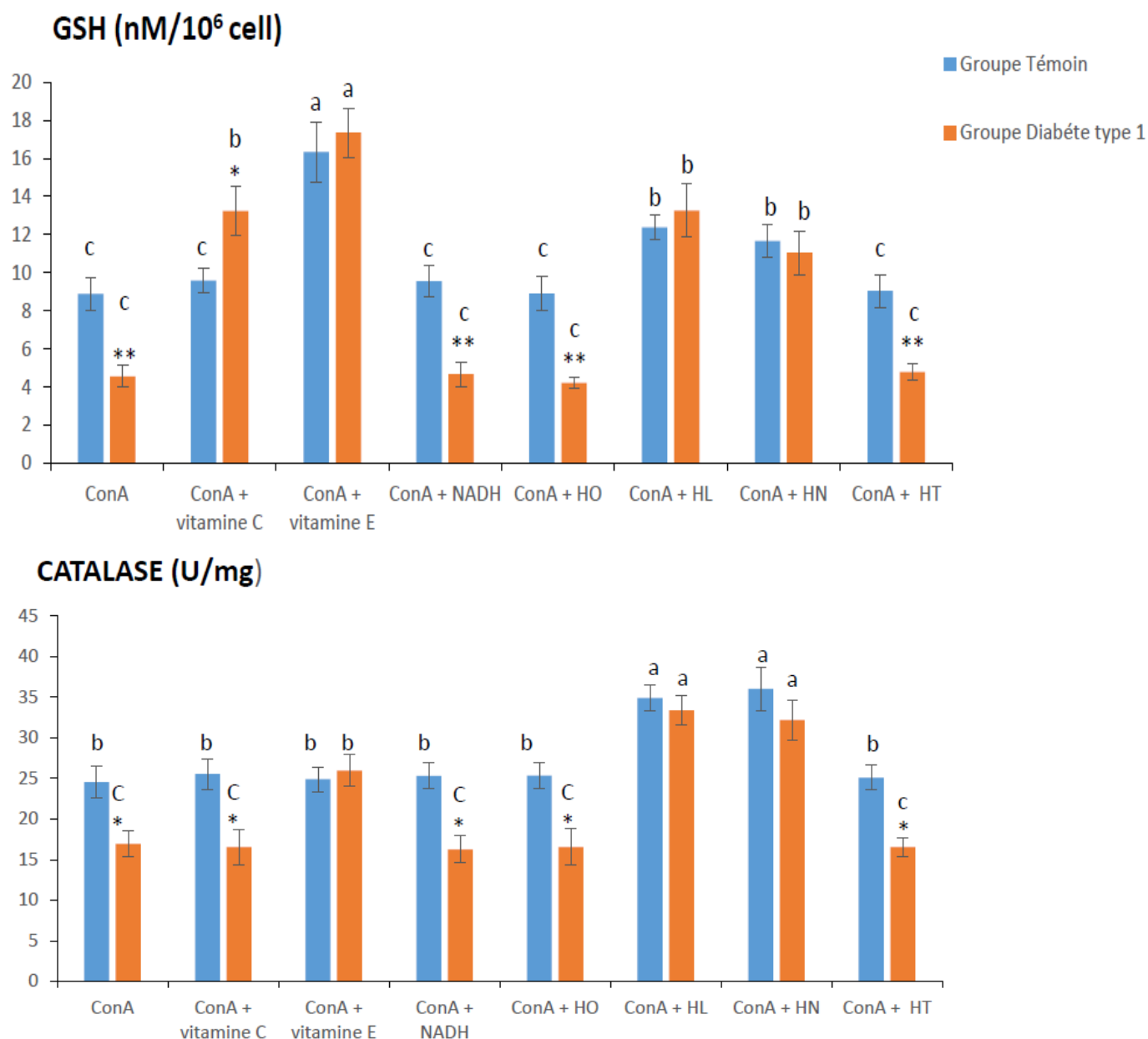


Figure 18. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant chez les diabétiques de type1 et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. GSH : glutathion réduit ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

3.2. Cas du diabète type 2

3.2.1. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération lymphocytaire (Figure 19 et Tableau A3 en annexes)

Quel que soit l'incubation et quel que soit la présence des nutriments, la prolifération lymphocytaire chez les diabétiques type 2 est similaire à celle de leurs témoins.

La présence de la vitamine E et de l'huile de nigelle stimule la prolifération lymphocytaire chez le groupe diabétique de type 2. Par contre, la vitamine C, le NADH, l'huile d'olive, de lin et de tournesol n'ont aucun effet sur la prolifération lymphocytaire.

3.2.2. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (Figure 20 et Tableau A4, A5, A6 en annexes)

L'huile de lin et de nigelle ainsi que la vitamine E modulent significativement la sécrétion des IL-2 chez les diabétiques de type 2. La vitamine E et l'huile de nigelle augmentent significativement alors que l'huile de lin diminue significativement la sécrétion de l'IL-2. Aucune variations significatives en présence des vitamines, du NADH et des huiles n'est notée entre les diabétiques de type 2 et les témoins, à l'exception de la présence de l'huile de tournesol qui augmente significativement les taux de l'IL2 chez le groupe diabétique 2 comparé au groupe témoin.

La sécrétion des IL-4 par les lymphocytes à l'état basal chez les diabétiques de type 2 est similaire à celle des témoins. Par contre, elle devient significativement plus élevée chez les diabétiques en présence de vitamine E et de l'huile de nigelle comparée aux valeurs témoins. Chez les diabétiques de type 2, la vitamine E et l'huile de nigelle augmentent significativement alors que l'huile de tournesol diminue les taux de l'IL-4 par rapport aux valeurs basales. La vitamine C, le NADH, l'huile d'olive et de lin n'ont aucun effet.

La vitamine E, le NADH et l'huile nigelle induisent une augmentation significative de la sécrétion d'INF- γ chez les diabétiques de type 2. Par contre, la sécrétion est diminuée en présence de l'huile d'olive et de lin et de tournesol. Aucune différence significative n'est observée en présence de la vitamine C par rapport aux valeurs basales.

La sécrétion de l'INF- γ est diminuée chez les diabétiques de type 2 par rapport aux témoins en présence de la Con A, des huiles et des vitamines, à l'exception du NADH et de l'huile de lin qui normalisent la sécrétion de cette cytokine.

Chez les diabétiques de type 2, le rapport $\text{INF-}\gamma / \text{IL-4}$ est diminué par rapport aux valeurs témoins en présence de la vitamine E, de l'huile d'olive, de nigelle et de tournesol, alors que les autres variations sont non significatives (Figure 21 et Tableau A7 en annexes).

Chez les diabétiques de type 2, le rapport $\text{INF-}\gamma / \text{IL-4}$ est augmenté significativement en présence de la vitamine E et du NADH par rapport à l'incubation en présence de la Con A seule. Par contre, ce rapport est réduit en présence de l'huile d'olive et de lin. Les variations en présence de la vitamine C, de l'huile de nigelle et de tournesol sont non significatives.

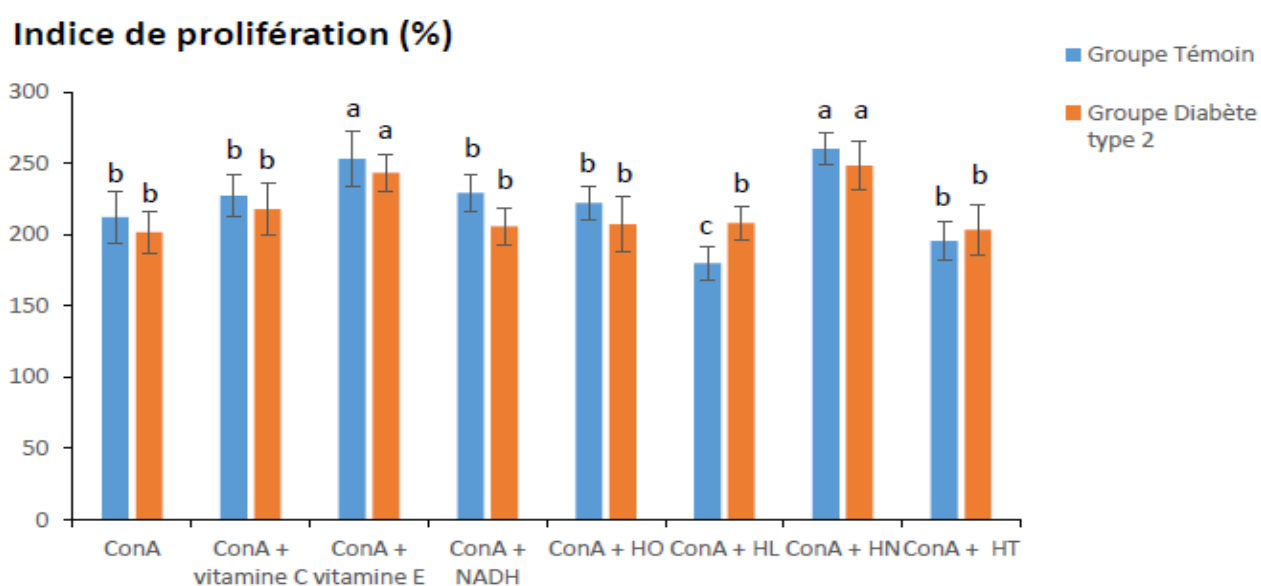


Figure 19. Effets des différentes vitamines, du NADH et huiles sur la prolifération des lymphocytes in vitro chez les diabétiques de type 2 et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

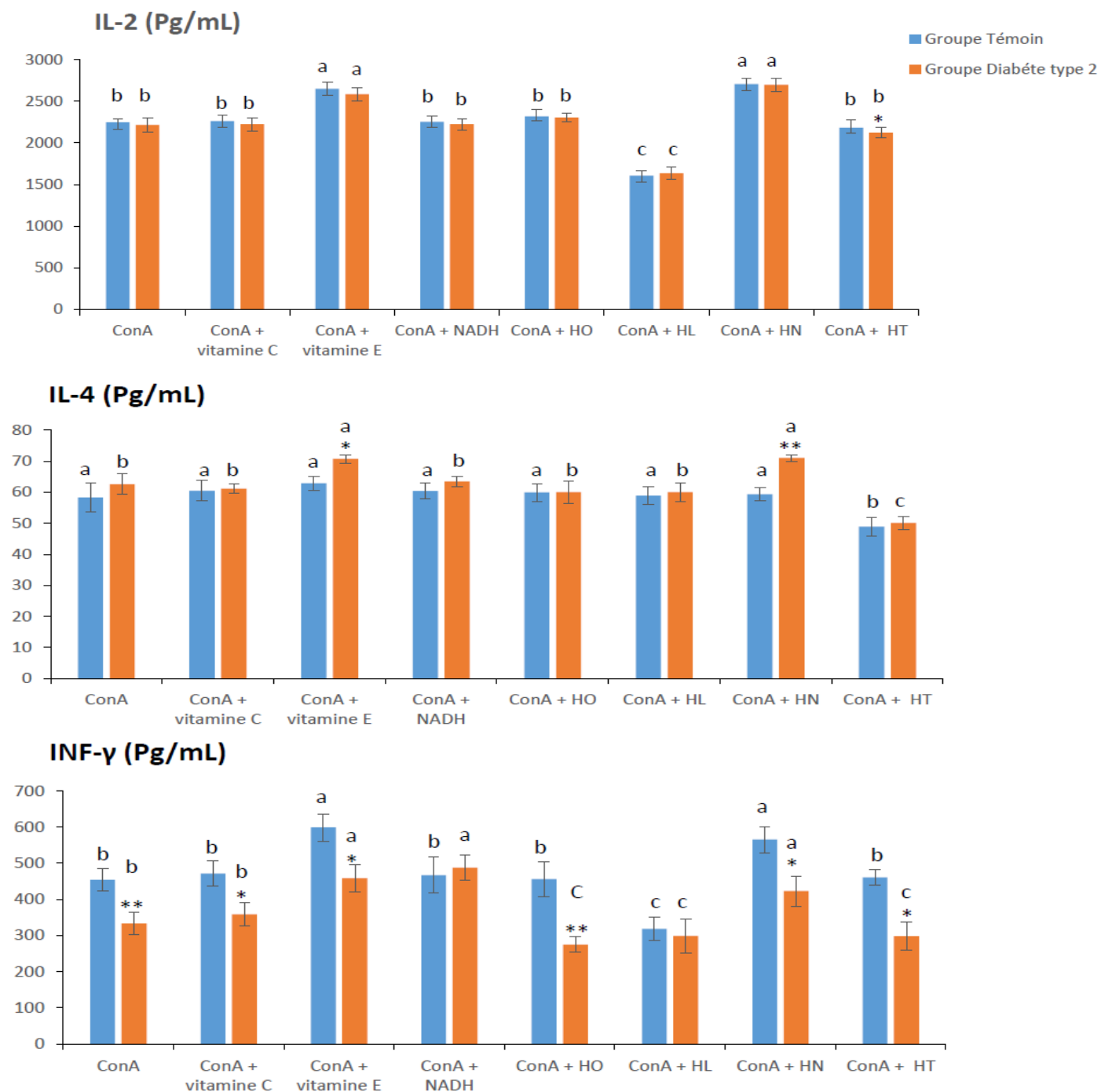


Figure 20. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (IL-2, IL-4, INF-γ) par les lymphocytes chez les diabétiques de type 2 et leurs témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

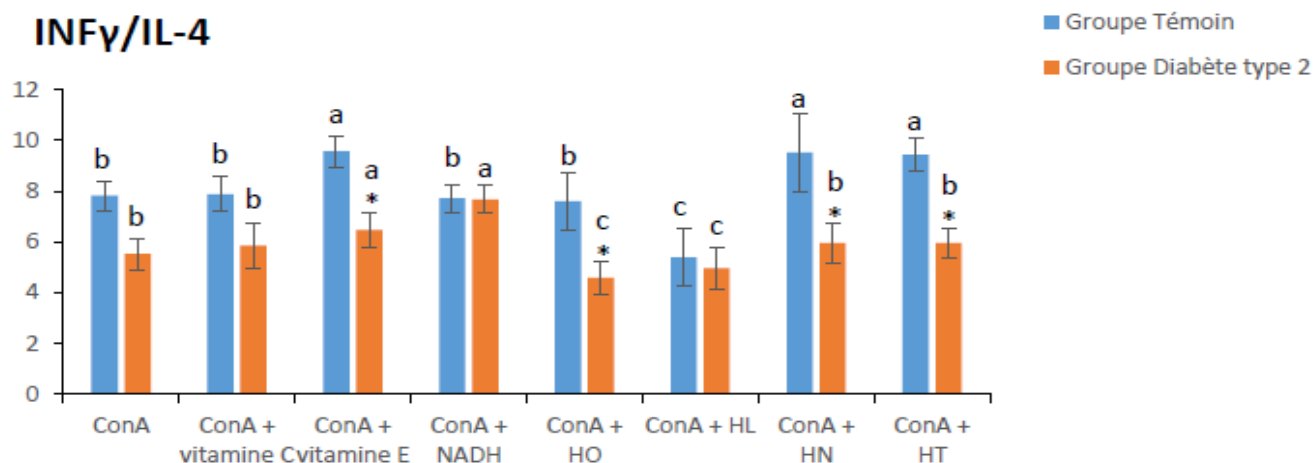


Figure 21. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le rapport INF γ /IL-4 chez les diabétiques de type 2

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; O $_2^-$: anion superoxyde ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

3.2.3. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant (Figure 22 et Tableau A8 en annexes)

Les teneurs en MDA lymphocytaire augmentent significativement chez les diabétiques de type 2 par rapport à leurs témoins en présence de la Con A, du NADH et de l'huile de tournesol. Chez le groupe diabétique de type 2, les teneurs en MDA lymphocytaire diminuent significativement en présence des vitamines du NADH et des huiles d'olive, de lin et de nigelle par rapport aux valeurs basales. Aucun effet n'est observé en présence de l'huile de tournesol. Une augmentation significative des teneurs en protéines carbonylées est marquée chez les lymphocytes des diabétiques de type 2 par rapport à leurs témoins en présence de la Con A, vitamine C, le NADH, l'huile d'olive, de nigelle, de lin et de tournesol.

Par contre, en présence de la vitamine E, une normalisation de ces teneurs est notée chez les diabétiques de type 2 par rapport aux témoins. Chez les diabétiques type 2, une diminution significative des teneurs en protéines carbonylées est induite par la vitamine C, E, le NADH, l'huile de lin et de nigelle. Par contre, aucun effet n'est noté en présence de l'huile d'olive et tournesol.

Les teneurs en anion superoxyde sont augmentées significativement chez les diabétiques de type 2 en présence de la Con-A, de l'huile d'olive, de tournesol et du NADH comparées aux valeurs témoins. La vitamine C, E, l'huile de lin et de nigelle entraînent une normalisation des teneurs en anion superoxyde chez les diabétiques de type 2 par rapport à leurs témoins. En présence de la vitamine C, E, le NADH, l'huile de lin et de nigelle, une diminution significative des teneurs en anion superoxyde est observée chez les diabétiques de type 2 par rapport aux valeurs basales. Aucun effet n'est noté en présence de l'huile d'olive et de tournesol.

3.2.4. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant (Figure 23 et Tableau A9 en annexes)

Chez les diabétiques de type 2, les taux de GSH lymphocytaire sont diminués d'une manière significative en présence de la Con A seule, du NADH, de l'huile d'olive et de tournesol par rapport aux valeurs chez les témoins. Par contre, le taux de GSH est augmenté en présence de la vitamine C alors qu'il est normalisé en présence de la vitamine E, de l'huile de lin et de nigelle chez les diabétiques de types 2 comparés aux témoins.

Chez les diabétiques de type 2, la vitamine C, E, l'huile de lin et de nigelle augmentent significativement les taux de GSH par rapport à la Con-A seule. Par contre, aucun effet n'est observé en présence du NADH, de l'huile d'olive et de tournesol.

Une diminution significative de l'activité de la catalase est observée chez les diabétiques de type 2 en présence de la Con-A, vitamine C, NADH, huile d'olive et de tournesol comparés aux valeurs témoins. Une normalisation de l'activité catalase est obtenue chez les diabétiques de type 2 en présence de la vitamine E, de l'huile de lin et de nigelle par rapport aux activités témoins. La présence de la vitamine E, de l'huile de lin et de nigelle potentialise l'activité de la catalase, et aucun effet n'est noté en présence de la vitamine C, du NADH, de l'huile d'olive et de tournesol chez les diabétiques de type 2 par rapport aux valeurs basales.

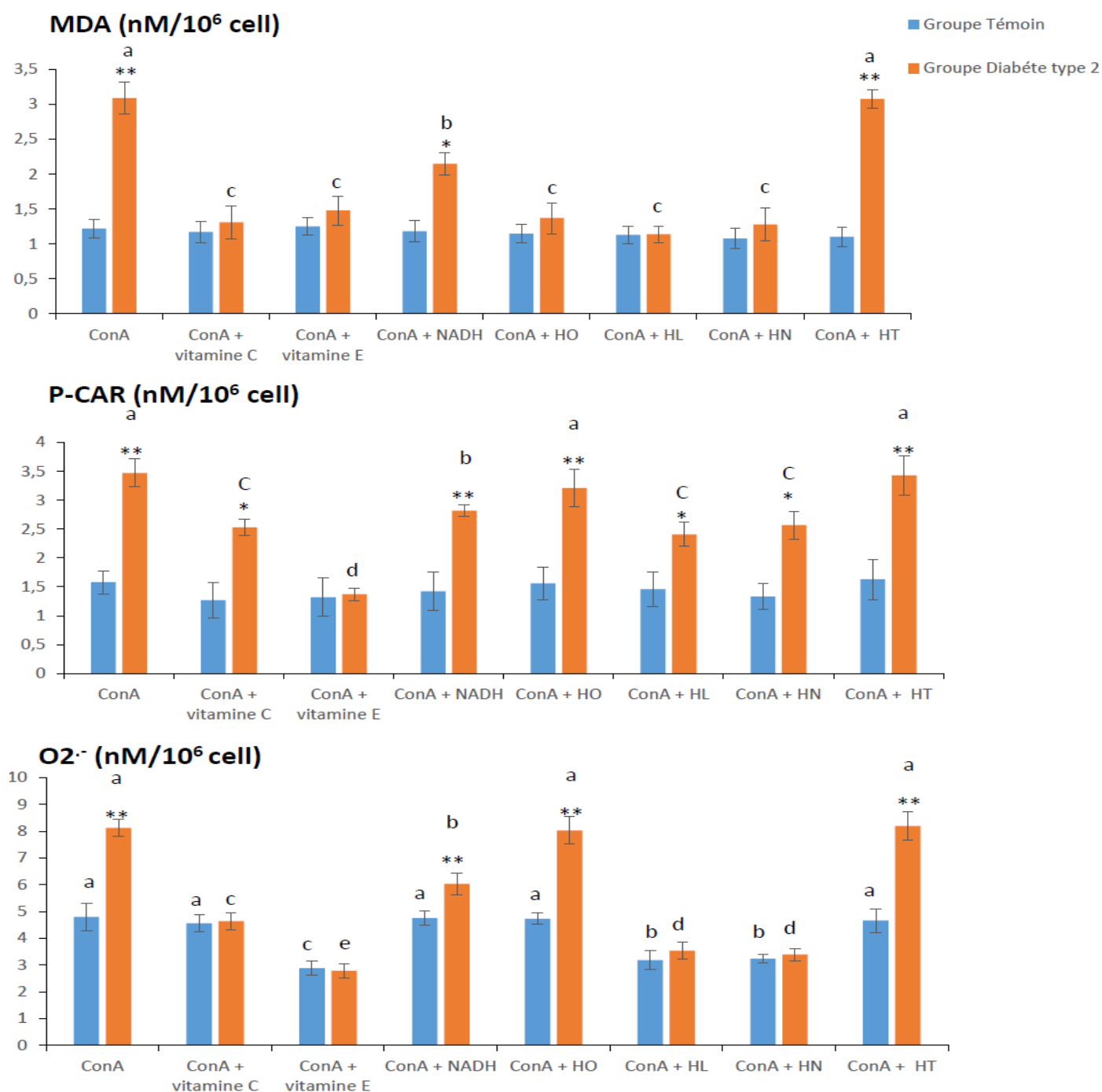


Figure 22. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant chez les diabétiques de type 2 et les témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; O₂⁻ : anion superoxyde ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

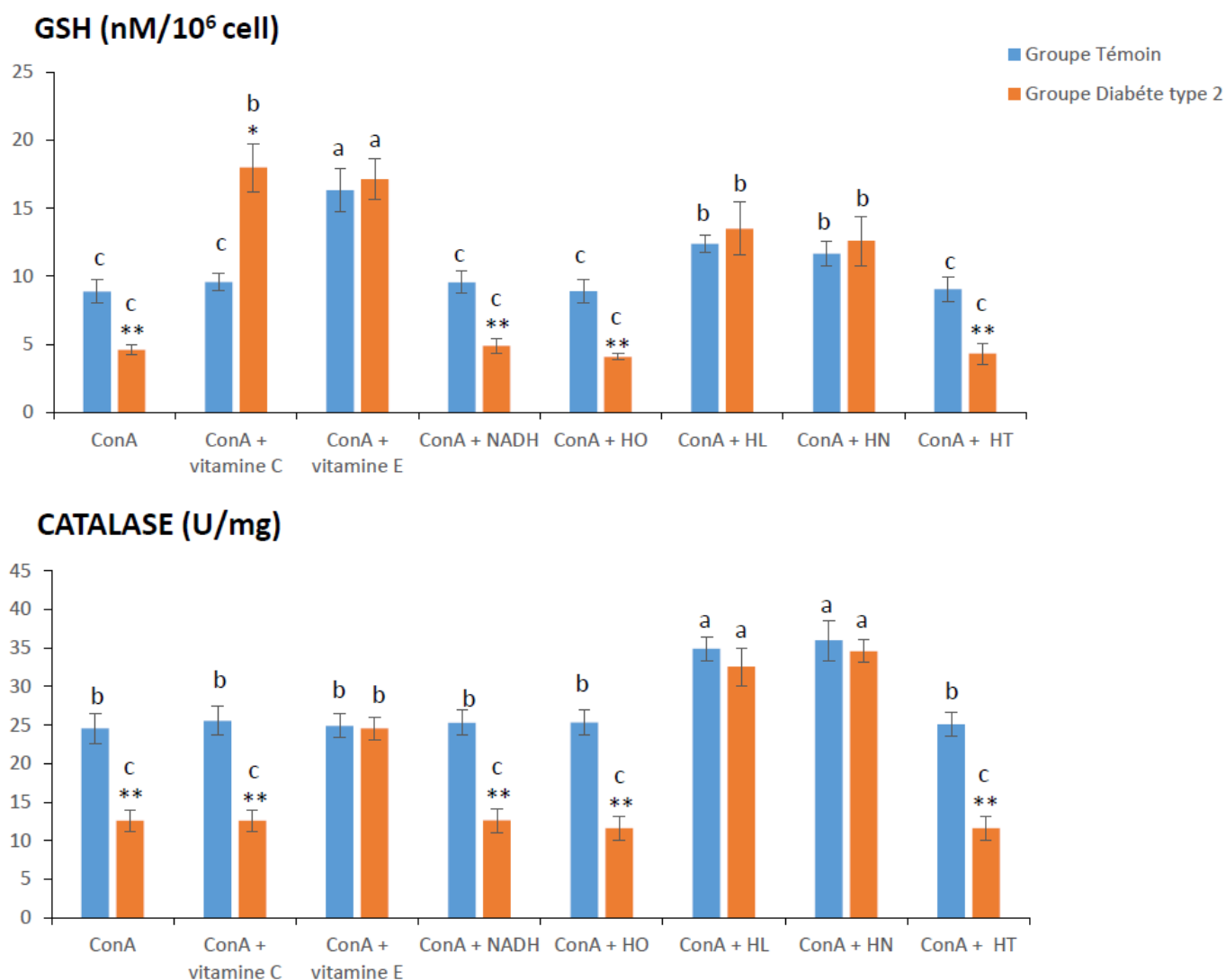


Figure 23. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant chez les diabétiques de type 2 et les témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. GSH : glutathion réduit ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

3.3. Cas de l'hypertension

3.3.1. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération lymphocytaire (Figure 24 et Tableau A3 en annexes)

La prolifération lymphocytaire basale en présence de la Con A chez les patients hypertendus est similaire à celle des témoins. En présence des vitamines, du NADH et des huiles de lin, nigelle et tournesol, cette prolifération reste toujours similaire entre les hypertendus et les témoins. Cependant, en présence de l'huile d'olive, ce paramètre est significativement réduit chez les hypertendus comparés aux témoins.

La vitamine E et l'huile de nigelle stimulent la prolifération lymphocytaire chez les hypertendus par rapport à la prolifération basale. Par contre, les autres nutriments testés n'ont aucun effet significatif sur la prolifération lymphocytaire au cours de l'hypertension.

3.3.2. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (Figure 25 et Tableau A4, A5, A6 en annexes)

Les taux de l'IL-2 chez les hypertendus sont identiques à ceux des témoins, en présence de la Con A, des vitamines C, E du NADH, et des huiles de lin et de nigelle. Cependant, ces taux d'IL-2 sont réduits en présence de l'huile d'olive et sont élevés en présence de l'huile de tournesol chez les hypertendus comparés aux témoins.

La vitamine E et l'huile de nigelle augmentent significativement la sécrétion de l'IL-2 chez les hypertendus par rapport aux valeurs basales avec la Con A seule. Cependant, l'huile de lin et l'huile d'olive induit une diminution significative de la sécrétion de l'IL2 chez les hypertendus. La sécrétion de l'IL-4 par les lymphocytes des patients hypertendus est similaire à celle des témoins, à l'état basal ou en présence des nutriments, à l'exception de la vitamine E et de l'huile de nigelle qui provoquent une augmentation de la sécrétion de l'IL-4 chez les hypertendus par rapport aux témoins.

Chez les hypertendus, la présence de la vitamine E et de l'huile de nigelle augmente significativement les taux de l'IL-4 par rapport à l'incubation basale. Par contre, elle diminue en présence de l'huile de tournesol. De plus, la présence de la vitamine C, du NADH, de l'huile d'olive et de lin n'ont aucun effet significatif sur la sécrétion de l'IL-4.

Les taux d'INF- γ sont significativement réduits chez les hypertendus comparés aux témoins, en présence de la Con A, vitamine C, E, huile d'olive, de nigelle et de tournesol. Cependant, en présence du NADH et de l'huile de lin, les taux d'INF- γ chez les hypertendus sont similaires à ceux des témoins.

Le NADH et l'huile nigelle induisent une augmentation significative de la sécrétion d'INF- γ chez les hypertendus par rapport aux valeurs basales. Par contre, elle diminue en présence de la vitamine C, l'huile d'olive et l'huile de lin. De plus, la sécrétion d'INF- γ n'est pas affectée par la présence de la vitamine E, et l'huile de tournesol chez les hypertendus.

Le rapport INF- γ /IL-4 chez les hypertendus est semblable à celui des témoins à l'état basal et en présence du NADH et de l'huile de lin (Figure 26 et Tableau A7 en annexes). Il devient cependant réduit chez les hypertendus comparés aux témoins en présence de la vitamine C, E, de l'huile d'olive, nigelle et tournesol. Ce rapport est augmenté significativement chez les hypertendus en présence du NADH par rapport à l'incubation basale en présence de la Con A seule. Par contre, il est réduit en présence de la vitamine C et de l'huile d'olive et de lin, et non modifié en présence de la vitamine E, l'huile de nigelle et de tournesol chez les hypertendus.

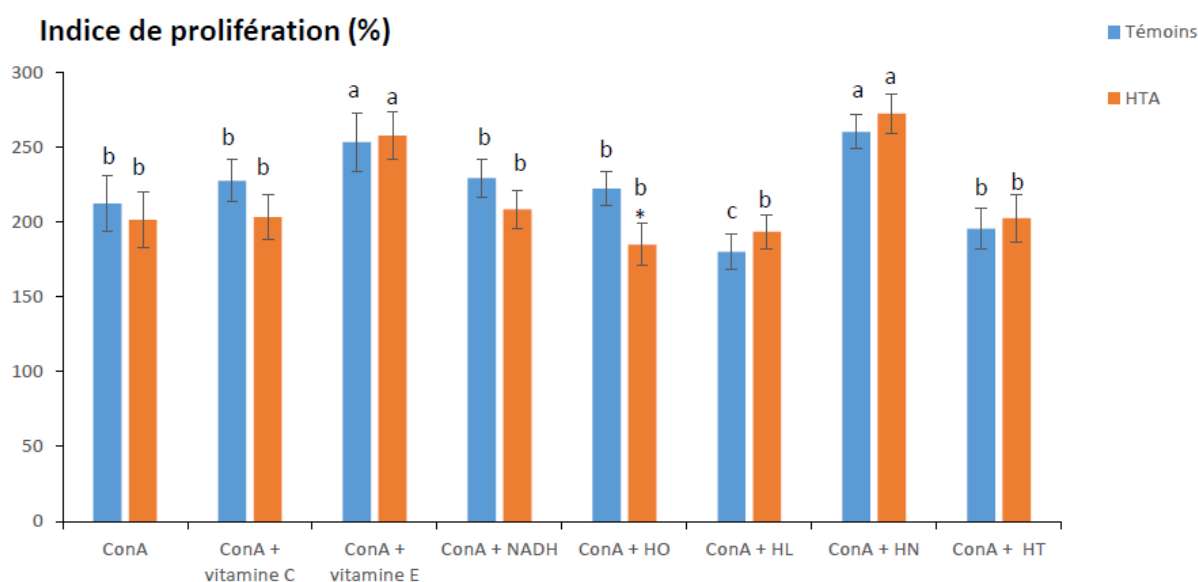


Figure 24. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération des lymphocytes in vitro chez les hypertendus et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol ; HTA : hypertendus. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

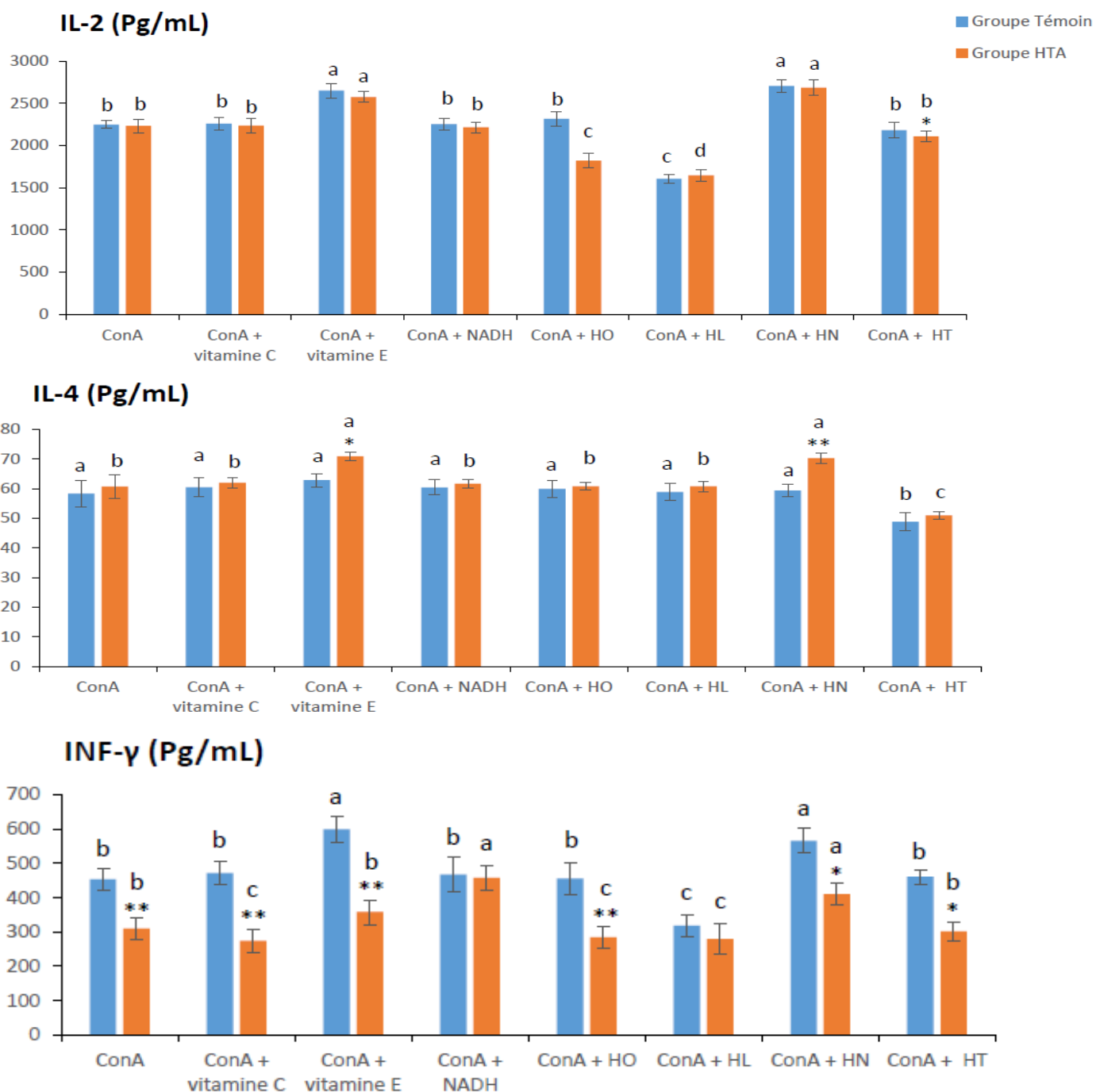


Figure 25. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (IL-2, IL-4, INF-γ) par les lymphocytes chez les hypertendus et leurs témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

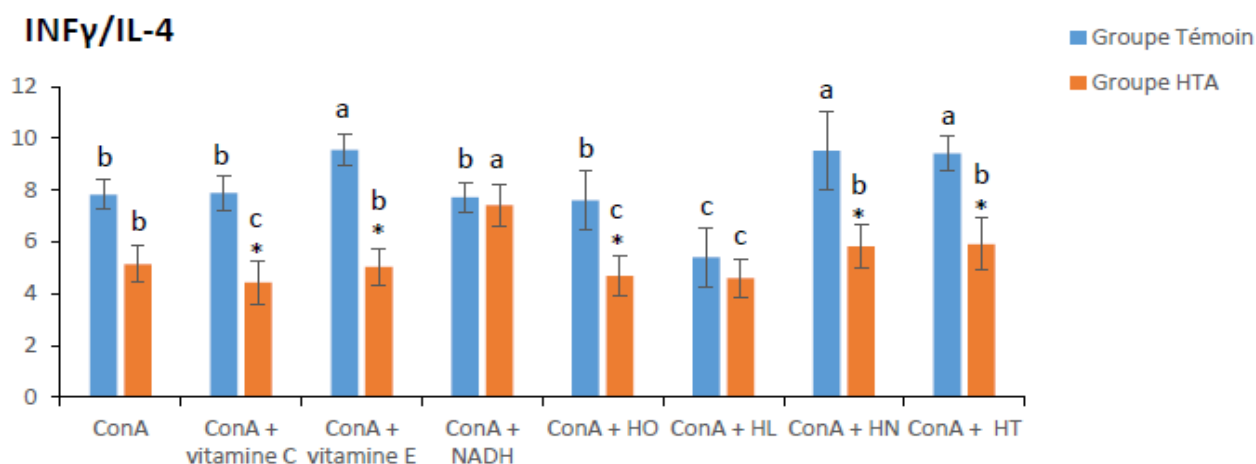


Figure 26. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le rapport INFγ/IL-4 chez les hypertendus et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; O₂⁻ : anion superoxyde ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

3.3.3 Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant (Figure 27 et Tableau A8 en annexes)

Les teneurs en MDA lymphocytaire sont significativement augmentées chez les hypertendus par rapport à leurs témoins en présence de la Con-A, du NADH et de l'huile de tournesol. Chez le groupe des hypertendus, les taux en MDA lymphocytaire diminuent significativement par les vitamines, le NADH et les huiles d'olive, de lin et de nigelle, et aucun effet n'est observé par l'huile de tournesol.

Une augmentation significative des teneurs en protéines carbonylées est marquée chez les lymphocytes des hypertendus par rapport à leurs témoins en présence de la Con A, vitamine C, NADH, et l'huile de tournesol, de nigelle, de lin et d'olive.

Cependant, une normalisation des teneurs en protéines carbonylées est observée en présence de la vitamine E chez les hypertendus par rapport à leurs témoins. Chez les hypertendus, une diminution significative des teneurs en protéines carbonylées est induite par la vitamine C, E, le NADH, l'huile de lin et de nigelle.

Les teneurs en anion superoxyde sont augmentées significativement chez les hypertendus en présence de la Con A, de l'huile d'olive, de tournesol et du NADH par rapport à leurs témoins. En présence de la vitamine C, E, de l'huile de lin et de nigelle, une normalisation des teneurs en anion superoxyde est observée chez les hypertendus par rapport à leurs témoins.

Comparés aux valeurs basales, la vitamine C, E, le NADH, l'huile de lin et de nigelle induisent une diminution significative des teneurs en anion superoxyde chez les hypertendus, mais pas de modification en présence de l'huile d'olive et de tournesol.

3.3.4. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant (Figure 28 et Tableau A9 en annexes)

Chez les hypertendus, le taux de GSH lymphocytaire est similaire à celui des témoins à l'état basal, et en présence de l'huile d'olive et de tournesol. Il devient cependant augmenté d'une manière significative en présence de la vitamine C, E, le NADH, de l'huile de lin et de nigelle chez les hypertendus par rapport à leurs témoins. Chez les hypertendus, la vitamine C, E, le NADH, l'huile de lin et de nigelle augmentent significativement le taux de GSH par rapport à la Con A seule.

Une diminution significative de l'activité de la catalase chez les hypertendus comparés aux témoins est notée en présence de la Con A, de la vitamine C, du NADH, de l'huile d'olive et de tournesol. Une normalisation de l'activité catalase chez les hypertendus est observée en présence de la vitamine E, de l'huile de lin et de nigelle par rapport aux valeurs témoins. La vitamine E, l'huile de lin et de nigelle provoquent une augmentation significative de l'activité de la catalase, alors qu'aucun effet n'est noté par la vitamine C, le NADH, l'huile d'olive et de tournesol chez les hypertendus par rapport aux incubations basales.

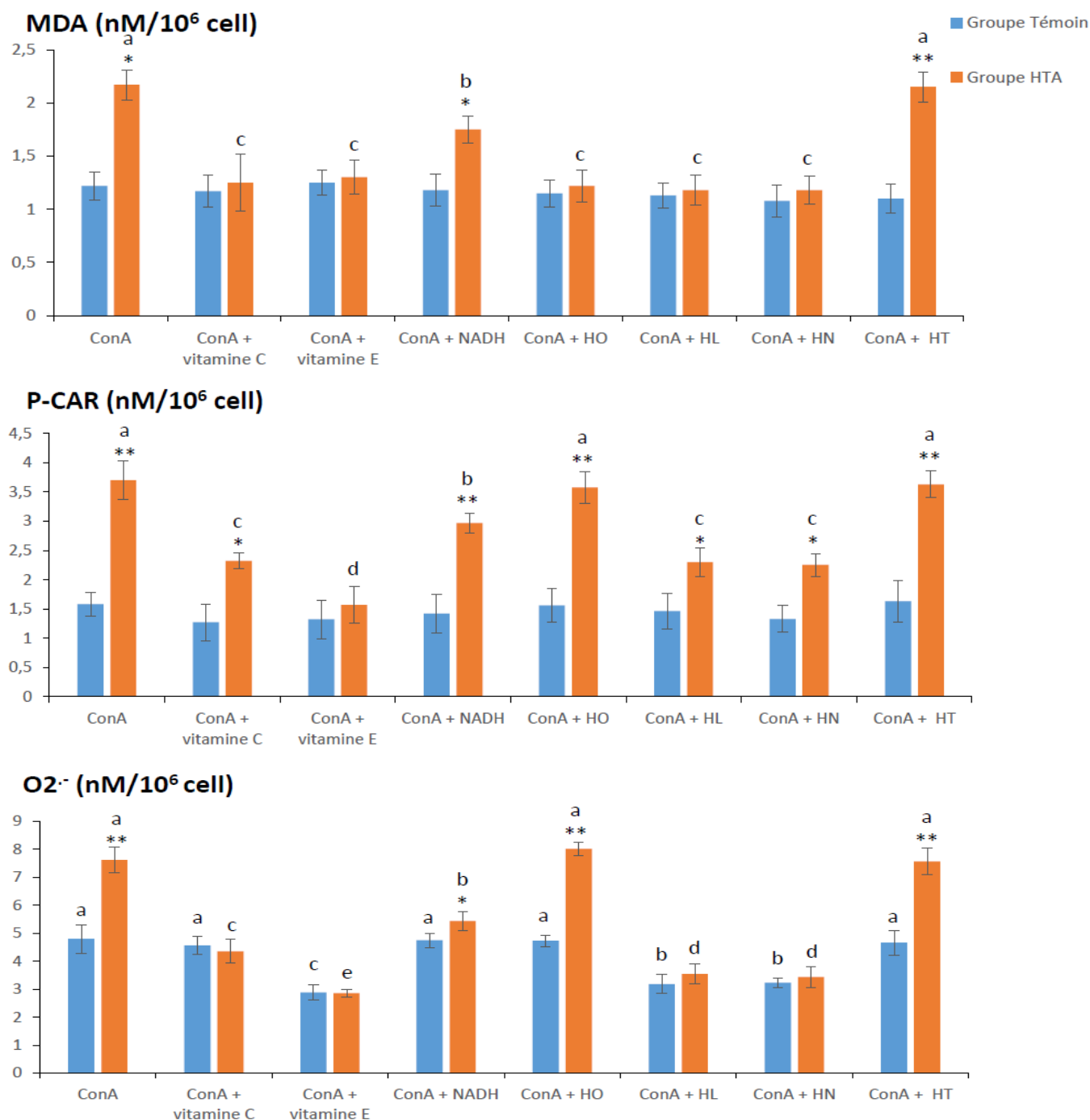


Figure 27. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant chez les hypertendus et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; O₂·⁻ : anion superoxyde ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

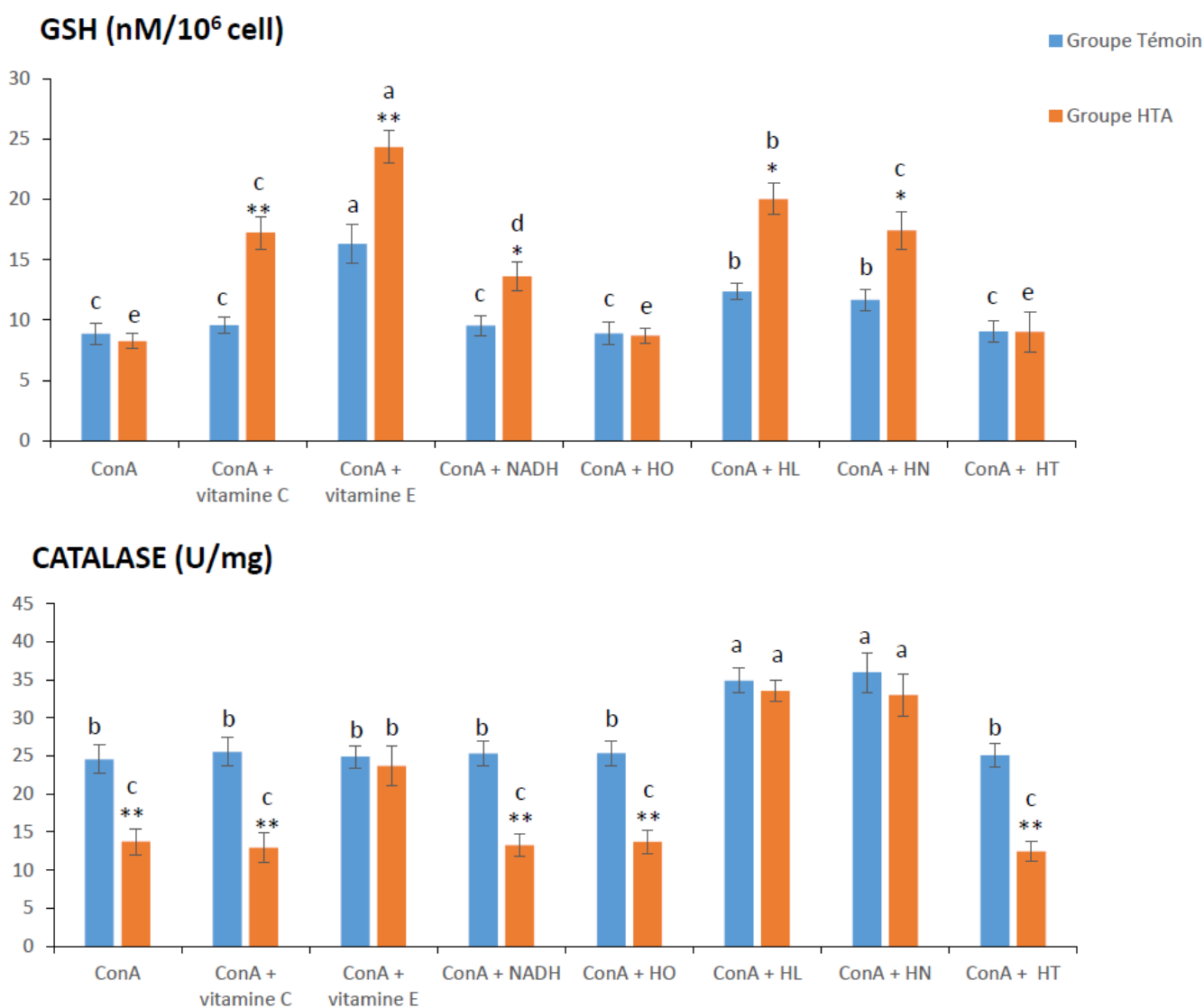


Figure 28. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant chez les hypertendus et les témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. GSH : glutathion réduit ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

3.4. Cas de l'obésité

3.4.1. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération lymphocytaire (Figure 29 et Tableau A3 en annexes)

Chez les patients obèses, la prolifération basale et en présence de la vitamine E et des huiles est similaire à celle obtenue chez les témoins. Néanmoins, en présence de la vitamine C et du NADH, elle devient plus importante chez les obèses comparés aux témoins.

La vitamine C, E, le NADH et huile de nigelle induisent une stimulation de la prolifération des cellules chez les obèses par rapport à la prolifération basale. Cependant, l'huile d'olive et de tournesol n'ont aucun effet sur la prolifération lymphocytaire alors qu'elle est diminuée par l'huile de lin chez les obèses.

3.4.2. Effets des différentes vitamines, du NADH et huiles sur la sécrétion des cytokines (Figure 30 et Tableau A4, A5, A6 en annexes)

Chez les obèses, les taux d'IL-2 en présence de Con A seule, de la vitamine E et des huiles d'olive, de lin et de nigelle sont similaires à celles obtenues chez les témoins. Néanmoins, en présence de la vitamine C, du NADH et de l'huile de tournesol, ces taux deviennent plus importants chez les obèses comparés aux témoins. La vitamine C, E, le NADH et huile de nigelle induisent une augmentation de la sécrétion d'IL-2 chez les obèses par rapport à celle liée à la prolifération basale. Cependant, l'huile d'olive et de tournesol n'ont aucun effet alors que l'huile de lin diminue les taux d'IL-2 chez les obèses.

La sécrétion d'IL-4 par les lymphocytes des obèses est réduite comparée aux valeurs témoins, quelque soit l'incubation et le nutriment testé. Chez les obèses, la vitamine C, E, le NADH et l'huile de nigelle augmentent significativement les taux de l'IL-4 comparés aux valeurs basales. Par contre, l'huile d'olive, de lin et de tournesol n'ont pas d'effet significatif sur la sécrétion des IL-4.

Les taux d'INF- γ sont diminués chez les obèses par rapport aux témoins à l'état basal et en présence de la vitamine C, E, huile d'olive, de nigelle et de tournesol. En présence du NADH et de l'huile de lin, les taux d'INF- γ chez les obèses deviennent proches des témoins. La présence de la vitamine C, E, le NADH et d'huile nigelle augmente significativement la sécrétion d'INF- γ chez les obèses. Par contre, l'huile d'olive, de lin et de tournesol n'ont pas d'effet significatif. Chez les obèses, le rapport Th1/Th2 est similaire à celui des témoins, à l'exception de sa valeur élevée en présence du NADH et l'huile de lin, et sa valeur diminuée en présence de la vitamine E.

Comparé à la valeur basale, ce rapport est non affecté par l'addition des quatre huiles, par la présence de la vitamine C et la vitamine E, par contre il augmente en présence du NADH chez les obèses (Figure 31 et Tableau A7 en annexes).

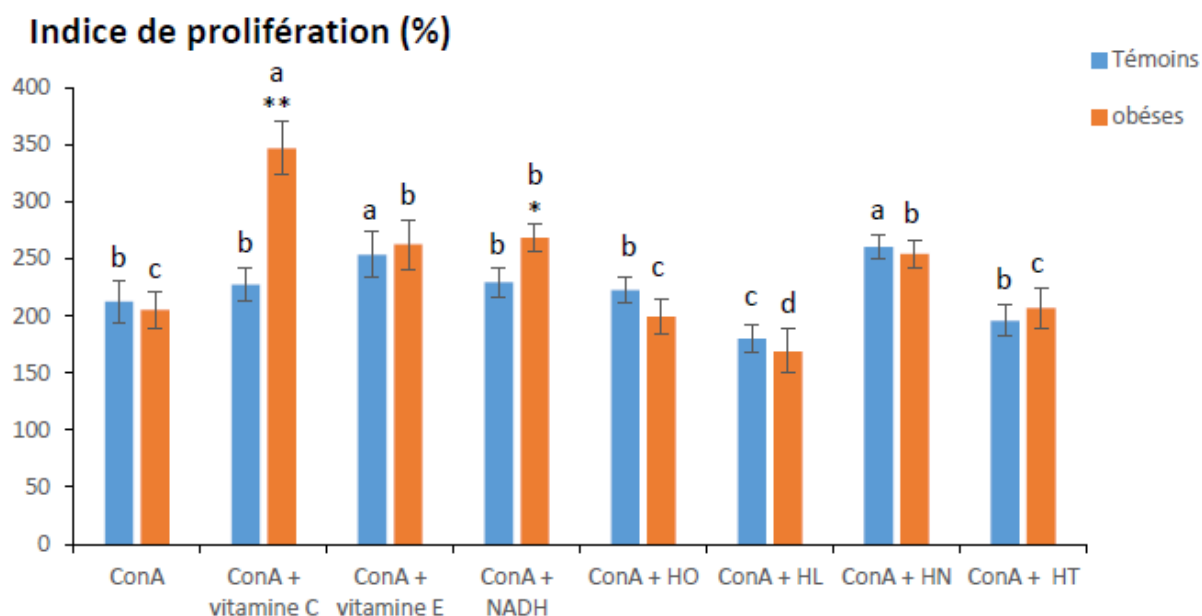


Figure 29. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la prolifération des lymphocytes in vitro chez les obèses et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol ; HTA : hypertendus. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

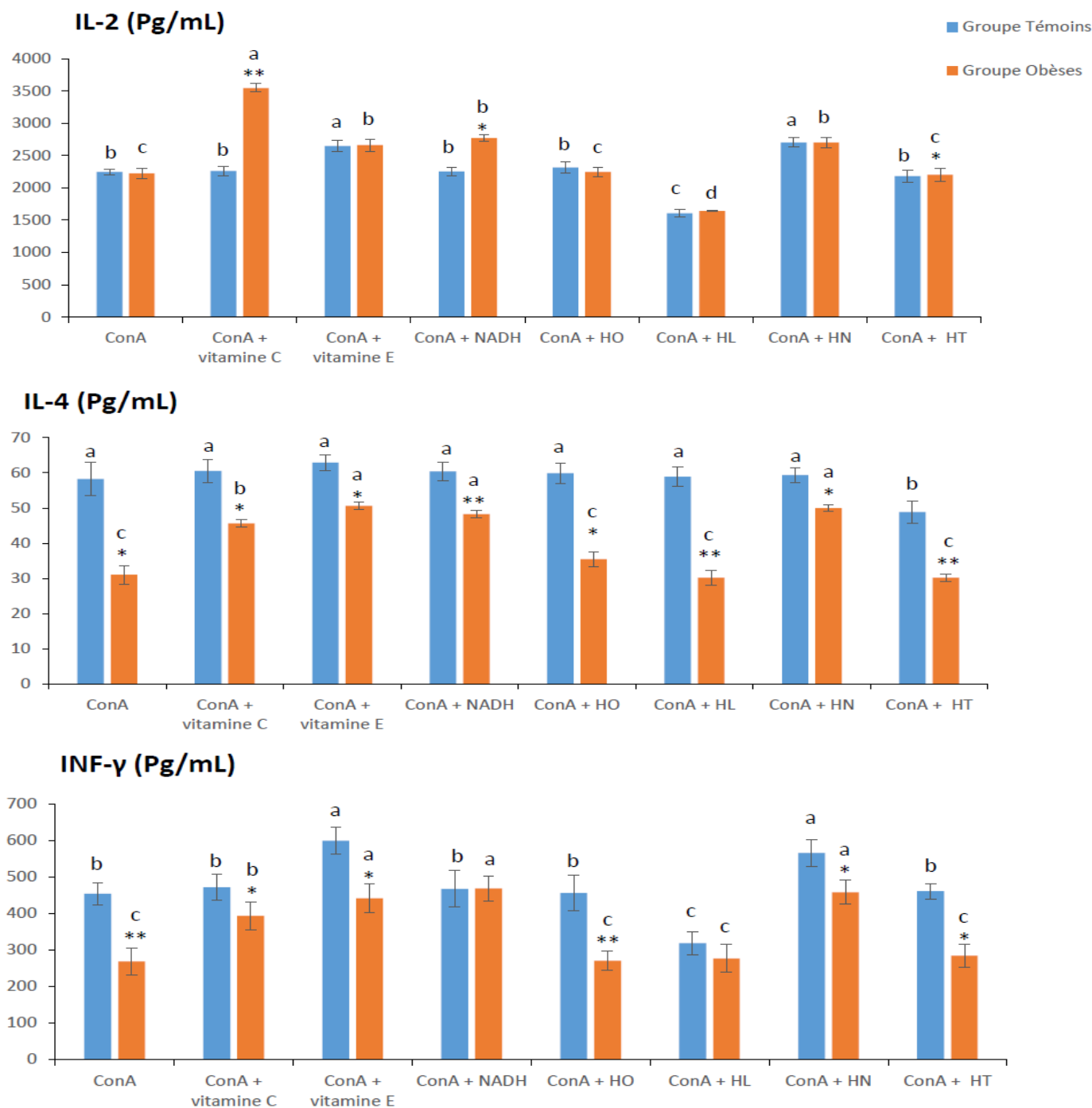


Figure 30. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur la sécrétion des cytokines (IL-2, IL-4, INF-γ) par les lymphocytes chez les obèses et leurs témoins.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

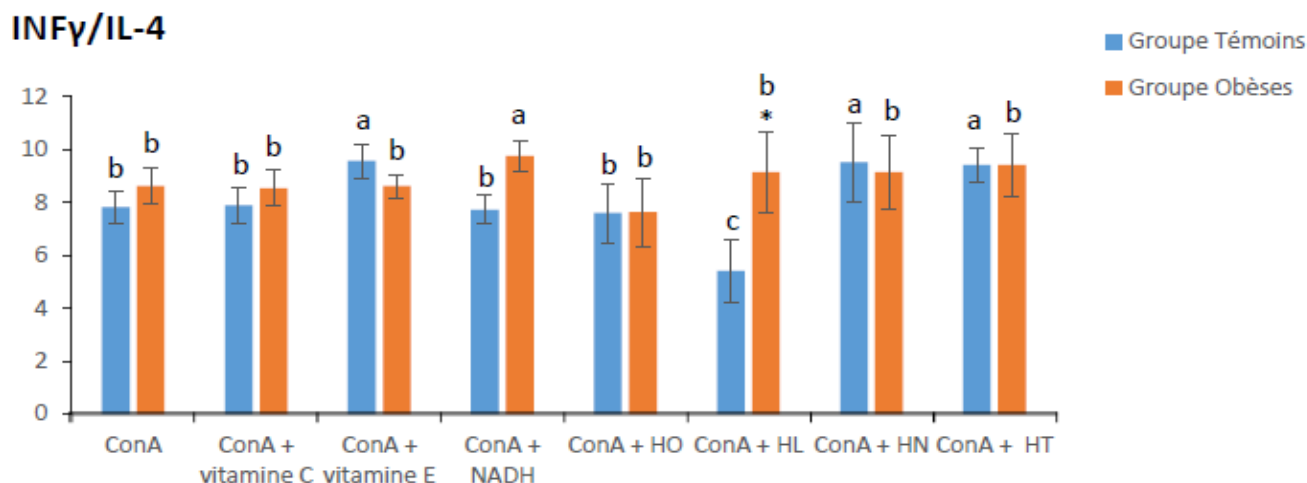


Figure 31. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le rapport INF γ /IL-4 chez les obèses et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; O $_2^-$: anion superoxyde ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

3.4.3 Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant chez les obèses et les témoins (Figure 32 et Tableau A8 en annexes)

Les teneurs en MDA lymphocytaire sont augmentées significativement chez les obèses par rapport à leurs témoins en présence de la Con A, du NADH et de l'huile de tournesol. Elles deviennent cependant similaires aux valeurs témoins en présence de la vitamine C, E et l'huile d'olive, de lin et de nigelle. Chez les obèses, les teneurs en MDA diminuent significativement en présence des vitamines, du NADH et des huiles d'olive, de lin et de nigelle, et aucun effet n'est observé en présence de l'huile de tournesol.

Une augmentation significative des teneurs en protéines carbonylées est marquée chez les lymphocytes des obèses par rapport à leurs témoins en présence de la Con A, vitamine C, NADH, et de l'huile de tournesol, de nigelle, de lin et d'olive. Seule la vitamine E induit une normalisation des teneurs en protéines carbonylées chez les obèses par rapport à leurs témoins. Chez les obèses, une diminution significative des teneurs en protéines carbonylées est obtenue par la vitamine C, E, le NADH, l'huile de lin et de nigelle. Par contre, l'huile d'olive et de tournesol n'ont pas d'effets.

Chez les obèses, les teneurs en anion superoxyde sont significativement plus élevées que celles des témoins en présence de la Con A, de l'huile d'olive, de tournesol et du NADH. En présence de la vitamine C, E, l'huile de lin et de nigelle, une normalisation des teneurs en anion superoxyde est observée chez les obèses par rapport à leurs témoins. En présence de la vitamine C, E, le NADH, l'huile de lin et de nigelle, une diminution significative des teneurs en anion superoxyde est observée chez les obèses, et aucun effet n'est noté en présence de l'huile d'olive et de tournesol.

3.4.4 Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant (Figure 33 et Tableau A9 en annexes)

Chez les obèses, le taux lymphocytaire de GSH est similaire à celui des témoins à l'état basal, et en présence du NADH, de l'huile d'olive et de tournesol. Il devient cependant augmenté d'une manière significative en présence de la vitamine C, E, de l'huile de lin et de nigelle chez les obèses par rapport à leurs témoins. Chez les obèses, la vitamine C, E, l'huile de lin et de nigelle augmentent significativement le taux de GSH par rapport à la Con A seule.

Une diminution significative de l'activité de la catalase chez les obèses comparés aux témoins est notée en présence de la Con A, de la vitamine C, du NADH, de l'huile d'olive et de tournesol. Une normalisation de l'activité catalase chez les obèses est observée en présence de la vitamine E, de l'huile de lin et de nigelle par rapport aux valeurs témoins. La vitamine E, l'huile de lin et de nigelle provoquent une augmentation significative de l'activité de la catalase, alors qu'aucun effet n'est noté par la vitamine C, le NADH, l'huile d'olive et de tournesol chez les obèses par rapport aux incubations basales.

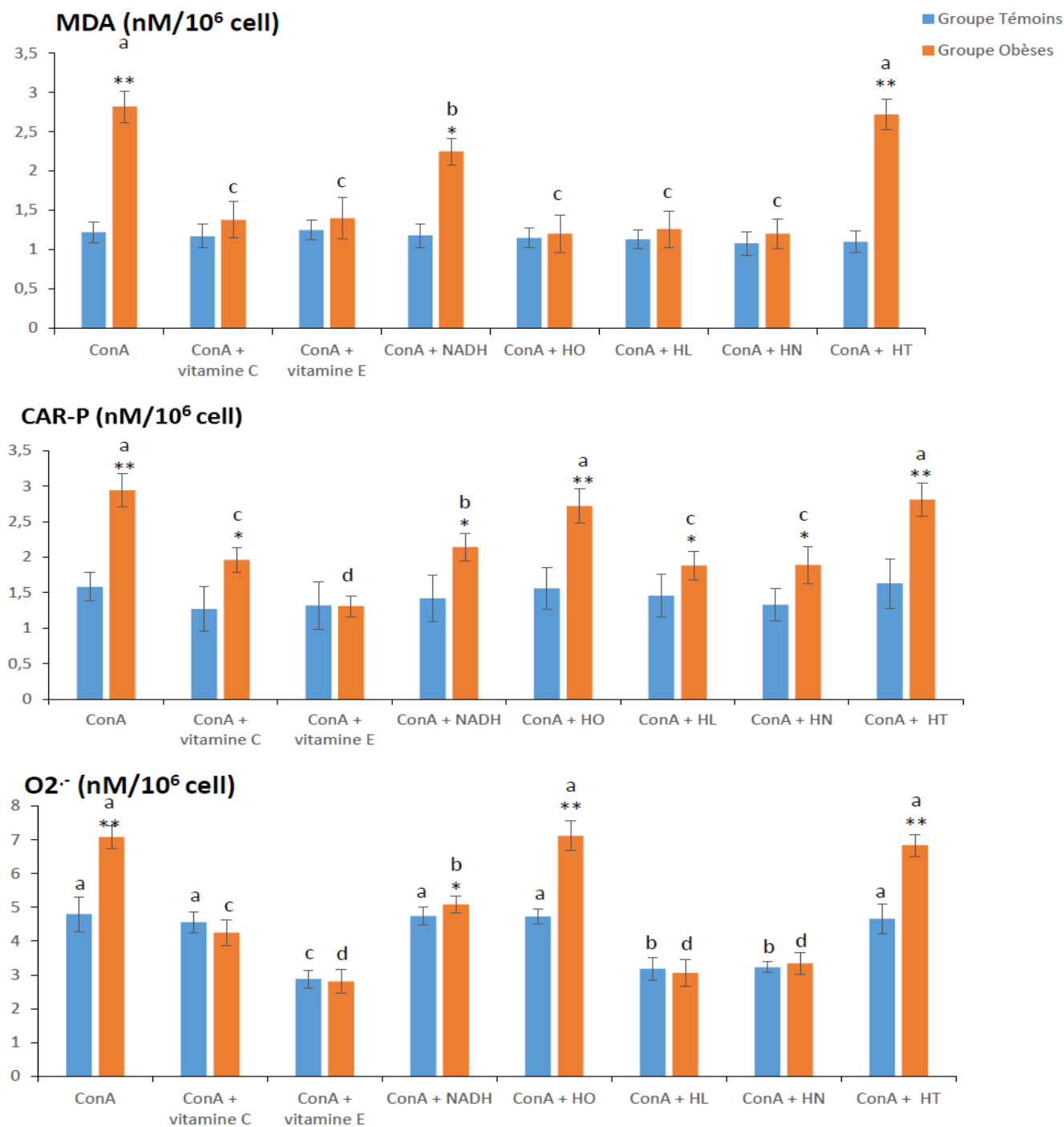


Figure 32. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut oxydant chez les obèses et leurs témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; O₂·⁻ : anion superoxyde ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

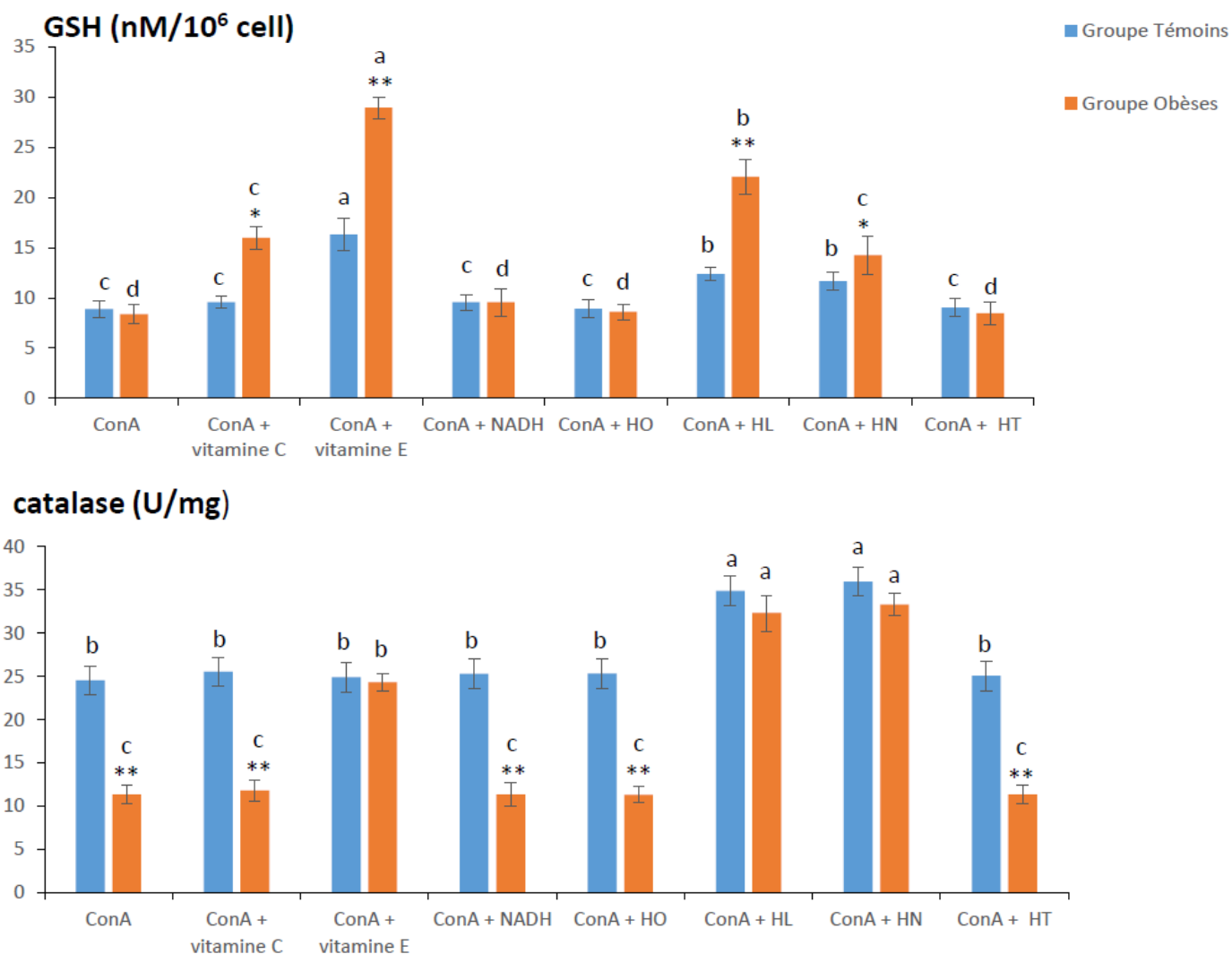


Figure 33. Effets des différentes vitamines, du NADH et des huiles sur le statut antioxydant chez les obèses et les témoins

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. GSH : glutathion réduit ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

3.5. Formation des Micronoyaux chez les diabétiques de type 1, 2, hypertendus et obèses (Tableau 7)

A l'état basal, les fréquences de la formation des micronoyaux sont significativement augmentées chez les diabétiques de type 1, 2, chez les hypertendus, et chez les obèses par rapport aux témoins.

Chez les diabétiques de type 1 et 2, les hypertendus et les obèses, la vitamine C, E, le NADH, l'huile de nigelle et de lin provoquent une diminution significative des taux de micronoyaux par rapport à la prolifération basale avec la ConA seule. De plus, aucun effet n'est observé par l'huile d'olive et de tournesol. Chez les témoins, tous les nutriments testés n'ont pas d'effet sur la formation des micronoyaux.

Néanmoins, en présence du NADH, de l'huile d'olive et de tournesol, une augmentation significative des taux de micronoyaux est observée chez les diabétiques de type 1, 2, les hypertendus et les obèses comparés aux témoins. La vitamine C, E, l'huile de lin et nigelle induisent une normalisation des taux de micronoyaux chez les diabétiques de type 1, 2 et chez les obèses par rapport aux témoins. Par contre chez les hypertendus, en présence de la vitamine C, une augmentation significative des micronoyaux est observée par rapport aux valeurs témoins, et une normalisation est obtenue seulement en présence de la vitamine E, de l'huile de lin et de nigelle.

Tableau 07. Formation des micronoyaux dans les lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.

MN (%)	Témoins	Diabète type1	Diabète type2	HTA	Obésité
ConA	4,38±0,45	9,55±0,84 ^{*a}	8,50±1,12 ^{*a}	16±1,82 ^{***a}	7,56±0,55 ^{*a}
ConA + VitC	4,84±0,35	4,57±0,67 ^c	4,51±0,61 ^c	7,67±0,79 ^{*c}	4,89±0,98 ^c
ConA + VitE	4,46±0,42	4,63±0,51 ^c	4,68±0,82 ^c	4,22±0,80 ^d	4,32±0,36 ^c
ConA + NADH	4,65±0,48	7,86±0,51 ^{*b}	6,62±0,71 ^{*b}	9,58±1 ^{*b}	6,49±0,54 ^{*b}
ConA + HO	4,48±0,79	9,77±1,03 ^{*a}	8,56±0,40 ^{*a}	15,27±2,44 ^{***a}	7,94±0,90 ^{*a}
ConA + HL	4,37±0,66	4,45±0,30 ^c	4,99±0,81 ^c	4,34±0,34 ^d	4,89±0,98 ^c
ConA + HN	4,58±0,63	4,84±0,79 ^c	4,93±0,45 ^c	4,29±0,41 ^d	4,62±0,36 ^c
ConA + HT	4,88±0,65	9,13±1,89 ^{*a}	8,78±1,51 ^{*a}	17,56±2,03 ^{***a}	7,98±0,85 ^{*a}
P (ANOVA)	0,247	0,008	0,007	0,005	0,006

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

DISCUSSION

Le diabète, l'hypertension et l'obésité sont des problèmes de santé publique du fait de leurs prévalences en augmentation préoccupantes au cours du temps qui intéressent le monde entier, les pays industrialisés, comme les pays en voie de développement. De nombreuses complications sont associées à ces pathologies tant sur le plan physiopathologique comme un dysfonctionnement du système immunitaire et un stress oxydatif, que dans la prise en charge. Il est bien admis qu'une mauvaise alimentation et une activité physique insuffisante figurent parmi les principaux facteurs de risque pour diverses pathologies. De plus, des carences en micronutriments et en antioxydants sont à l'origine de l'installation du stress oxydatif. Par conséquent, au cours de diabète, de l'hypertension et de l'obésité, la supplémentation en antioxydants et en AGPI peut réduire le stress oxydant et renforcer le système immunitaire.

De nombreux nutriments sont reconnus pour leur capacité à moduler les fonctions immunitaires, en particulier en situation inflammatoire, et en présence du stress oxydatif. De nombreux travaux, tant expérimentaux que cliniques, ont pu ainsi démontrer le rôle bénéfique de certains acides aminés (glutamine, arginine), des lipides (acides gras polyinsaturés des séries n-3 et n-6), des vitamines antioxydantes et des oligoéléments.

La relation existant entre le système immunitaire (SI) et les nutriments est connue depuis de nombreuses années. En effet, l'ensemble des fonctions essentielles du SI (activation, prolifération cellulaire, synthèses protéiques...) requièrent de l'énergie, des acides aminés, des lipides, des vitamines et des oligoéléments. Ainsi, toute altération du statut nutritionnel (telle observée au cours de la réponse métabolique à l'agression) aura des conséquences importantes sur les fonctions immunitaires.

De cette observation, il a été proposé que l'élaboration d'une stratégie nutritionnelle adaptée puisse contribuer à l'amélioration du pronostic de ces patients (Moinard, 2006).

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactives, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants. Les modifications génomiques, métaboliques et fonctionnelles induites par un stress oxydant ont été impliquées dans le développement de différentes pathologies. Les suppléments en antioxydants, de manière nutritionnelle (i.e. accessibles par l'alimentation) ou à doses plus fortes, de type pharmacologique, ont connu dès lors un véritable engouement scientifique (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Dans ce contexte, s'inscrit notre travail de recherche dont l'objectif principal est de déterminer les conséquences métaboliques du diabète de type 1 et 2, de l'hypertension et de

l'obésité chez les hommes dans la région de Tlemcen située à l'ouest de l'Algérie, et de rechercher des moyens nutritionnels pour corriger les anomalies des réponses immunitaires, inflammatoires et oxydatives observées chez les patients atteints de ces pathologies.

Dans ce travail de doctorat, nous avons été orienté vers la recherche des effets *in vitro* de certaines vitamines (C, E) le NADH et de certains acides gras polyinsaturés et monoinsaturés (AGPI, AGMI) présents dans les huiles (huile d'olive, lin, nigelle et tournesol) sur la prolifération lymphocytaire, la sécrétion des cytokines et le statut redox intracellulaire des lymphocytes au cours du diabète de type 1 et 2, de l'hypertension, et de l'obésité.

La première partie de ce travail consiste en une étude *in vivo* afin d'analyser les anomalies métaboliques et redox induites par le diabète (type 1 et 2), l'hypertension et l'obésité chez les hommes.

Nos résultats montrent une augmentation significative des teneurs plasmatiques en glucose chez les sujets diabétiques de type 1 et 2 et chez les obèses par rapport aux valeurs obtenues chez les hommes témoins. Cette hyperglycémie est une caractéristique du diabète sucré et de l'obésité. Nos résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs (Karaouzene et al., 2010; Fenger et al., 2013; Revierno et al., 2016). Cette hyperglycémie est expliquée par la déficience en insuline dans le diabète de type 1 et par la résistance à l'insuline dans le diabète de type 2 et l'obésité.

Par contre, aucune différence significative n'est trouvée chez les sujets hypertendus comparés aux témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux d'El Hassar et al. (2015) qui trouvent une glycémie normale chez la population d'hypertendus de la région de Tlemcen.

Nos résultats montrent une augmentation significative du cholestérol total et des triglycérides plasmatiques chez les patients diabétiques de type 1, et 2, hypertendus et obèses par rapport à leurs témoins respectifs. Ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs (Baykal et al., 2003; Merzouk et al., 2004; Ukoh et al., 2007; Karaouzene et al., 2010; Fenger et al., 2013; Ubetagoyena et al., 2013; El Hassar et al., 2015; Revierno et al., 2016) qui ont montré des altérations au niveau des concentrations en lipides telles que des niveaux plasmatiques élevés en cholestérol et en triglycérides comparés aux témoins. Ces altérations ont été expliquées par une augmentation de synthèse ou une réduction du catabolisme des lipoprotéines riches en cholestérol et en triglycérides.

Dans notre étude, les diabétiques de type 1, 2, et les obèses ont des niveaux plasmatiques en urée et créatinine similaires aux valeurs des témoins. Nos résultats sont en accord avec des études antérieures (Roestenberg et al., 2004; Karouezene et al., 2010; Matheus et al., 2011;

Fenger et al., 2013; Esteghamati et al., 2016) qui confirment une fonction rénale non altérée par ces pathologies. Ces résultats sont aussi en accord avec Monnier et Colette (2010) qui indiquent que dans la population diabétique les concentrations en urée et créatinine plasmatiques étaient inchangées, signe d'une fonction rénale normale.

Par contre, les hypertendus ont des niveaux plasmatiques élevés en urée et en créatinine comparés aux valeurs des témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs (Aribi et al., 2010; El Hassar et al., 2015). Les investigations biochimiques comme l'urée et la créatinine plasmatiques sont utilisées pour évaluer les fonctions rénales lors de l'hypertension qui est un important facteur de risque pour les complications rénales (Appel et al., 2005). De plus, les teneurs plasmatiques en créatinine et en urée sont généralement élevées dans l'hypertension (Gurav et al., 2001; Appel et al., 2005).

Le stress oxydant est l'un des acteurs de la physiopathologie du diabète de type 1, 2, de l'obésité et de l'hypertension. C'est dans cette optique que nous contribuons à déterminer les marqueurs de statut oxydant (malondialdéhyde, protéines carbonylées) et antioxydant (catalase, glutathion) au niveau des érythrocytes chez les patients atteints des quatre pathologies.

Le malondialdéhyde (MDA) est considéré actuellement comme le principal bio-marqueur de la peroxydation des lipides et du stress oxydatif. Il cause des dommages importants au fonctionnement des cellules. De plus, les protéines carbonylées sont considérées comme des marqueurs de l'oxydation des protéines. Nos résultats confirment la présence d'un stress oxydatif chez les patients diabétiques de type 1, 2, les obèses et les hypertendus. Nos résultats indiquent une augmentation significative des taux de MDA et de protéines carbonylées chez ces malades. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études qui ont déjà montré une augmentation des marqueurs du stress oxydatif chez ces patients (Matteucci et Giampietro, 2000; Kocic et al., 2007; Karaouzene et al 2010; Kumawet et al., 2013; Lin et al., 2014; Shaeer et al., 2014; El Hassar et al., 2015). Ces résultats marquent l'existence d'un stress oxydatif intracellulaire élevé, avec oxydation des protéines qui est un signe de l'endommagement tissulaire, causé par le stress oxydatif, l'augmentation du taux des hydrates de carbone ou les deux (Vertuani et al., 2004).

Concernant, les marqueurs de la défense antioxydante, nous avons dosé les taux érythrocytaires du glutathion réduit (GSH) et l'activité de l'enzyme catalase. La catalase est un antioxydant enzymatique largement distribué dans tous les tissus animaux, et sa plus forte activité se trouve dans les globules rouges et le foie. De plus, le glutathion réduit est un autre

marqueur pris en considération pour évaluer le statut antioxydant. Sous sa forme réduite, il est l'antioxydant majeur des cellules, les protégeant notamment des radicaux libres. Ce tripeptide versatile qui est synthétisé par la cellule agit comme cofacteur réducteur pour certaines enzymes. Nos résultats révèlent une diminution significative de l'activité de la catalase érythrocytaire chez les patients hypertendus et les obèses, par contre elle augmente significativement chez les diabétiques de type 2 et aucun changement pour les diabétiques de type 1. Nos résultats montrent aussi que les teneurs en GSH sont significativement diminuées chez les patients diabétiques de type 1, 2, les obèses et les hypertendus. Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux (karaouezene et al., 2010; kumawat et al., 2013; Mishra et al., 2013; Stambouli-Guerriche et al., 2015; El-hassar et al., 2015; Remla et al., 2016). L'activité élevée de la catalase chez les diabétiques de type 2 pourrait être interprétée comme un mécanisme positif de rétroaction (feedback) qui reflète une réponse favorable de l'organisme contre le stress oxydatif. Une chute dans le contenu de GSH et de l'activité de la catalase a été préalablement établie au cours de l'obésité et l'hypertension par plusieurs travaux qui ont reporté également des perturbations du système antioxydant au cours de ces pathologies (Noeman et al., 2011; Bouanane et al., 2009 ; Ceriello. 2008).

La deuxième partie de cette thèse de doctorat est consacrée à l'étude des effets *in vitro* des vitamines (vitamine C, E), le NADH et les acides gras contenus dans les quatre huiles, l'huile d'olive, de lin, de nigelle et de tournesol. Ces nutriments sont utilisés à une concentration finale de 50 μ M pour les vitamines C, E et 500 μ M pour le NADH, et de 30 μ M TG pour les huiles. Leurs effets sur la fonction proliférative et sur la variation des marqueurs du statut oxydant / antioxydant intracellulaire sont déterminés sur des cellules T isolées des hommes atteints d'un diabète de type 1 et 2, d'obésité et d'hypertension et cultivées *in vitro* en présence d'un agent mitogène la Concanavaline A.

L'isolement des lymphocytes se fait à partir d'un prélèvement sanguin réalisé des patients, utilisant un gradient d'Histopaque pour la récolte des cellules qui sont par la suite mise en culture dans le milieu RPMI contenant tous les nutriments nécessaires pour permettre la survie cellulaire. L'utilisation de la Concanavaline A (Con A), agent mitogène spécifique des lymphocytes T, permet d'activer seulement la prolifération des cellules T. Le suivi *in vitro* de la prolifération cellulaire et de la production des cytokines sont largement utilisés et sont considérés comme des techniques indispensables afin de déterminer la réponse immunitaire suite à l'exposition des cellules à différentes concentrations des micronutriments comme les vitamines, le NADH et les acides gras issus des différentes huiles.

La prolifération des lymphocytes est significativement diminuée chez le groupe diabétique de type 1. Par contre, chez les diabétiques de type 2, obèses et les hypertendus, elle est normale comparée à celle des témoins, en présence de la Con A. Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux (Tanaka et al., 1993; Das et al., 2010; Djelti et al., 2014; Baba-Ahmed et al., 2016) qui rapportent des anomalies fonctionnelles des cellules T lors du diabète qui s'accompagne aussi à des modifications importantes du système immunitaire.

Les cytokines sont capables de stimuler ou d'inhiber la prolifération ou la survie cellulaire, d'orienter la différenciation, plus spécialement celle des lymphocytes T, ou d'activer les fonctions ou les capacités migratoires de cellules cibles (Béné, 2014). La mesure de la production des cytokines est précédemment utilisée dans différentes études comme un moyen efficace pour détecter la présence des différents types de lymphocytes, Th1 ou Th2.

Au niveau pathologique, un déséquilibre orienté vers un type cellulaire Th1 avec un profil de sécrétion pro-inflammatoire (IL-2, IFN- γ) ou Th2 avec un profil anti-inflammatoire (IL-4) a été mis en évidence dans la plupart des maladies inflammatoires chroniques. Nos résultats montrent que le diabète de type 1 provoque une diminution significative de la production de l'interleukine-2, alors qu'elle est normale chez les diabétiques de type 2, les obèses et les hypertendus. L'IL-2 est un facteur puissant de croissance lymphocytaire pour cette raison les résultats de la sécrétion de cette interleukine supporte ceux de la prolifération lymphocytaire. De plus, la sécrétion de l'IL-4 est normale chez les diabétiques de type 1, 2 et les hypertendus par rapport aux témoins, par contre elle est diminuée significativement chez les obèses. Nous avons aussi observé que la production l'INF- γ a diminuée significativement chez les quatre pathologies par rapport à leurs témoins. Nos résultats sont en accord avec des constatations antérieures (Mito et al., 2000; Avanzini et al., 2005; Djelti et al., 2014; Sanchez-zauco et al., 2014) qui montrent qu'il existe des déficit complexes de l'immunité qui touche les fonctions et l'activation des lymphocytes T avec une diminution de la capacité de la production des cytokines au cours des pathologies étudiées.

La connaissance du lien étroit unissant le statut immunitaire au statut nutritionnel a considérablement évolué en quelques décennies. La mise en évidence de l'immunodéficience secondaire à une malnutrition globale a ouvert la porte à l'identification de micronutriments essentiels à l'acquisition et au maintien de l'immunocompétence. Les progrès en immunologie ont permis de décrire les aspects fonctionnels de la réponse immunitaire susceptibles d'être altérés par des déficits nutritionnels, majeurs, modérés ou marginaux (Calder, 2001).

Vu l'importance des antioxydants sur le plan nutritionnelle et leurs effet modulateur sur le système immunitaire, nous avons testé les effets des vitamines (C, E), le NADH in vitro sur la prolifération lymphocytaire et la sécrétion des cytokines.

La présence de la vitamine C et du NADH stimule significativement la prolifération lymphocytaire chez les diabétiques de type 1 et les obèses, par contre aucun effet n'est noté chez les diabétiques de type 2, les hypertendues et chez les témoins. Ces résultats sont en accord avec des travaux précédents montrant le rôle de la vitamine C dans l'amélioration de la capacité prolifératrice des lymphocytes T et le rôle effecteur du NADH sur les monocytes et les macrophages (Kretowski et al., 2000; Chang et al., 2009; Vasdevet al., 2011; Badr et al., 2012; Molina et al., 2014). Il apparait clairement que les lymphocytes isolés des patients diabétiques type 1 et des obèses sont plus sensibles à la vitamine C et au NADH que les autres groupes étudiés. Selon Delmastro et al., (2013), L'effet stimulateur du NADH semble être lié à l'augmentation de la régénération de l'ATP cellulaire, sachant que l'ATP joue un rôle essentiel dans la prolifération cellulaire.

De plus, la vitamine E augmente significativement la prolifération lymphocytaire chez les quatre pathologies et chez les témoins. Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux qui confirment son effet puissant dans la stimulation de la prolifération cellulaire, la réduction de l'apoptose, l'amélioration de la fluidité membranaire et la protection des cellules (Lee et Wan, 2000; Sarafini, 2000; Hong et al., 2004).

Dans l'ensemble, les vitamines C, E et le NADH sont des micronutriments qui ont la capacité d'agir sur les phénomènes inflammatoires et immunitaires de par leur action antioxydante et modulatrice sur le système immunitaire à travers la sécrétion des cytokines. Les taux de l'IL-2 chez les diabétique de type 1 et les obèses augmentent significativement en présence de la vitamine C et le NADH; par contre aucun effet n'est noté chez les diabétiques de type 2 et les hypertendus et chez les témoins. De plus, le taux d'IL-2 a été normalisé en présence de la vitamine C chez les diabétiques de type 1 par rapport à leurs témoins. Cependant, chez les obèses, la vitamine C induit une stimulation de la sécrétion d'IL-2 dépassant les valeurs témoins. Le NADH provoque une surproduction d'IL-2 aussi bien chez les diabétiques de type 1 et les obèses. La vitamine E induit une augmentation significative des IL-2 chez les quatre pathologies et chez les témoins. Dans ces cas, les valeurs observées chez les cas pathologiques sont comparables à celles des témoins. Il apparait clairement que les lymphocytes répondent différemment aux nutriments selon la pathologie considérée.

La sécrétion de l'IL-4 par les lymphocytes est aussi affectée par les vitamines et le NADH en culture, à l'exception chez les témoins où aucun effet n'est noté. Nos résultats montrent que les taux d'IL-4 sécrétés par les lymphocytes isolés des patients diabétiques type 1 et des obèses sont augmentés par les vitamines C, E et le NADH. Par contre chez les hypertendus et les diabétiques de type 2, seule la vitamine E induit une stimulation de la sécrétion d'IL-4.

La sécrétion des interférons IFN- γ en présence de la vitamine C a augmenté significativement chez les diabétiques de type 1, et chez les obèses et aucun effet n'est noté chez les diabétiques de type 2 et les témoins. Par contre elle diminue chez les hypertendus. De plus, la vitamine E provoque aussi une augmentation du taux d'IFN- γ chez les diabétiques, les obèses et les témoins, mais aucun effet chez les hypertendus. Le NADH augmente significativement la sécrétion de l'IFN- γ par les lymphocytes isolés des patients dans les quatre pathologies et aucun effet n'est noté chez les témoins. Il est observé que malgré ces modulations, les taux d'IFN- γ restent réduits chez les cas pathologiques comparés aux témoins, à l'exception des taux obtenus en présence du NADH. Seul le NADH restaure la sécrétion de l'IFN- γ au cours du diabète, de l'hypertension et de l'obésité.

Au cours d'hypertension, le rapport INF- γ /IL-4 est diminué de façon significative en présence de la vitamine C. La vitamine C semble induire un phénotype Th2, du type anti-inflammatoire. Par contre, ce rapport n'a pas été affecté chez les diabétiques, les obèses et les témoins par la présence de la vitamine C. La vitamine E augmente le rapport Th1/Th2 chez les diabétiques et les témoins, elle semble induire un phénotype Th1 ; par contre aucun changement dans le rapport chez les hypertendus et les obèses. Le NADH augmente le rapport chez les quatre pathologies et aucun changement chez les témoins. Le NADH semble aussi induire un phénotype Th1 pro-inflammatoire au cours des pathologies.

Nos résultats sont en accord avec d'autres résultats qui démontrent la modulation de la sécrétion des cytokines par les vitamines C, E et le NADH à travers le rôle de la vitamine C dans la réduction de l'inflammation et l'amélioration de la capacité des cellules T par la sécrétion des IL-2 (Chang et al., 2009; Molina et al., 2014; Ellulu et al., 2015) et par l'effet stimulant de la vitamine E sur la production d'IL-2 et d'IFN- γ (Han et al., 2000; Kaisar et al., 2012). De plus, d'autres travaux ont démontré que le NADH pourrait influencer la fonction des monocytes / macrophages par la modulation et la production d'IL-12 et de TNF-alpha (Ademoglu et al., 2004). Il est important de noter que la vitamine E a un effet pro-inflammatoire chez les diabétiques de type 1 et 2 et les témoins. De plus, la présence du NADH a aussi un effet pro-inflammatoire chez les quatre pathologies. Ces résultats sont

intéressants et montrent que les lymphocytes répondent différemment à la présence des vitamines C, E et le NADH dans le milieu de culture. Les profils engendrés peuvent être pro-inflammatoire ou anti-inflammatoire. Il est donc impératif de prendre en considération le type de pathologie en cas de supplémentation en vitamines ou en NADH.

En général, nos résultats démontrent que les vitamines et le NADH induisent une augmentation de la sécrétion des cytokines IL-4 et INF- γ au cours des quatre pathologies. Il est à noter que l'IL-4 est sécrétée par les lymphocytes Th2 et a un rôle important dans la régulation du métabolisme lipidique, dans l'inhibition de l'adipogénèse et la promotion de la lipolyse (Tsao et al., 2014). De plus, une autre étude a démontré que l'INF- γ est important pour le maintien des valeurs normales de tension artérielle (Van Heuven-Nolsen et al., 1999). Ainsi, si les effets obtenus in vitro existent aussi in vivo, les vitamines et le NADH peuvent à travers la modulation des cytokines affecter le métabolisme des lipides, la lipolyse et la tension artérielle au cours des maladies métaboliques.

L'immunomodulation par les AG alimentaires peut être soit par l'immunosuppression soit par l'immunostimulation. Il a été démontré que le DHA, EPA, l'acide oléique, et l'acide linoléique inhibent in vitro la prolifération des lymphocytes stimulés par des mitogènes. Cette inhibition dépend de la concentration et du degré d'insaturation de l'acide gras utilisé. Les acides gras les plus inhibiteurs sont de la série n-3 (Calder, 2006).

Nos résultats montrent que les AGPI de l'huile de lin ou de Nigél ont des effets modulateurs importants sur la fonction des cellules T in vitro, alors que les effets immunomodulatrices de l'huile d'olive et l'huile de tournesol n'étaient pas évidents concernant la prolifération des lymphocytes et la sécrétion des cytokines chez certaines pathologies. Par contre, ces effets ont été mis en évidence dans d'autres pathologies.

La présence de l'huile de lin réduit significativement la prolifération lymphocytaire chez les obèses et les témoins alors qu'aucun effet n'est observé chez les diabétiques et les hypertendus. De même, les AG de l'huile d'olive et de tournesol n'ont aucun effet. De plus, L'huile de nigelle induit une augmentation significative de la prolifération des lymphocytes chez les diabétiques hypertendus, obèses et les témoins. Les effets immuno-modulateurs des huiles sur la sécrétion de l'IL-2 supportent celles de la prolifération lymphocytaire. En présence de l'huile de nigelle chez les quatre pathologies et les témoins, la sécrétion de l'IL-2 augmente par contre elle diminue significativement en présence de l'huile de lin, à l'exception du cas du diabète de type 1 où aucun effet n'est noté.

La diminution de la prolifération lymphocytaire au cours de l'obésité en présence de l'huile de lin est en accord avec les données antérieures montrant que les AGPI n-3 réduisent significativement la prolifération des lymphocytes et autres types de cellules (Calder, 2011; Kaithwas et al., 2013; Djelti et al., 2014; Mezouar et al., 2016). Nous avons aussi observé la réduction de la prolifération et la sécrétion de l'IL-2 induite par l'huile de lin au cours de l'obésité (Meraou et al., 2016). L'explication possible des effets inhibiteurs de l'huile de lin peut être due à la réduction de la sécrétion d'IL-2 par les lymphocytes stimulés, sachant que l'IL-2 est requise pour la prolifération des lymphocytes T (Park et al., 2011; Jang et al., 2014). Nos résultats montrent que l'huile de lin n'a pas d'effet sur la prolifération lymphocytaire et sur la sécrétion des IL-2 chez les diabétiques de 1. Cependant, d'autres études utilisant des AGPI n-3 purifiés indiquent une inhibition la prolifération lymphocytaire et sur la sécrétion des IL-2 chez les diabétiques de type 1 et 2 (Merzouk et al., 2008). Il est à noter que nous avons utilisé l'huile au lieu des AGPI purifiés. Les huiles contiennent des combinaisons d'acides gras différents et aussi la vitamine E, ce qui peut affecter différemment la fonction lymphocytaire in vitro.

Plusieurs mécanismes sont impliqués dans les effets suppressifs des AGPI n-3 tels que l'altération des récepteurs cellulaires et de la sécrétion des cytokines, la stimulation de l'apoptose, la modification de la fluidité membranaire, la production des eicosanoïdes, la modulation des voies de transcription et de signalisation, l'inhibition des divisions cellulaires et l'augmentation du stress oxydatif (De Pablo et al., 2000; Switzera et al., 2004).

Les effets des acides gras contenus dans les huiles sur la sécrétion des IL-4 et INF- γ ont montré des profils cinétiques différents dans les lymphocytes des sujets témoins, diabétiques, hypertendus et obèses. La présence de l'huile de lin n'a aucun effet sur la sécrétion des IL-4 chez les quatre pathologies et les témoins. De plus, la sécrétion des INF- γ diminue significativement chez les diabétiques de type 2, les hypertendus et les témoins et aucun effet n'est noté chez les diabétiques de type 1 et les obèses. Le rapport INF- γ /IL-4 n'a pas été affecté chez les obèses et les diabétiques de type 1 par contre il diminue chez les diabétiques de type 2, les hypertendus et les témoins.

L'huile de lin semble induire un phénotype Th2 ce qui reflète l'effet anti-inflammatoire de cette huile comme il a été indiqué précédemment (Park et al., 2011; Djelti et al., 2014; Samina et al., 2015). L'effet anti-inflammatoire des AGPI n-3 est déjà bien connu (Merzouk et al., 2008).

L'absence d'effets de l'huile d'olive et l'huile de tournesol sur la prolifération lymphocytaire s'accompagne par une absence de modification de la sécrétion des l'IL-2. En présence de l'huile d'olive, la sécrétion des cytokines IL-4 et INF- γ et le rapport INF- γ /IL-4 n'ont pas été affectés, sauf la sécrétion des INF- γ qui a diminué chez les diabétiques de type 1 et type 2 et les hypertendus et qui se traduit par une diminution du rapport INF- γ /IL-4. L'huile d'olive semble induire un phénotype Th2 ce qui reflète un effet anti-inflammatoire au cours de ces pathologies.

Nos résultats sont en accord avec des études antérieures qui n'ont pas trouvé de différences significatives de la prolifération des lymphocytes dans des modèles humains et animaux ayant un régime riche en huile d'olive (Yaqoob et al., 1998; Granato et al 2000; De Pablo et al 2004; Kontogianni et al., 2013; Rozati et al 2015). Les mêmes résultats ont été observés avec l'huile d'olive in vitro et qui ne montrent aucun effet sur la prolifération des lymphocytes et la production des cytokines, par contre d'autres résultats montrent un effet immunosuppressive de cette huile (Yaqoob et al., 1999; Granato et al., 2000; Bogani et al., 2007; Djelti et al., 2014). Par contre, des résultats contradictoires mais intéressants ont été observés en présence de l'huile d'olive chez les diabétiques et les hypertendus expliquant un effet anti-inflammatoire traduit par une réduction du rapport Th1/Th2. Ces résultats sont en accord avec d'autres qui ont prouvé que la consommation d'huile d'olive induit une diminution des marqueurs de l'inflammation telle que l'IL-6 (Fito et al., 2008 ; Esposito et al., 2004).

De plus, l'huile de tournesol n'a aucun effet sur la sécrétion des INF- γ durant le diabète de type 1, l'hypertension et l'obésité. Par contre, elle diminue chez les diabétiques de type 2.

L'huile de tournesol réduit la sécrétion de l'IL-4 chez les diabétiques, hypertendus et les témoins, par contre aucun effet chez les obèses. Le rapport INF- γ /IL-4 a augmenté significativement chez les diabétiques de type 1 et les témoins en présence de l'huile de tournesol. Cette huile semble induire un phénotype Th1. Par contre aucun effet sur le rapport Th1/Th2 n'a été signalé chez les diabétiques de type 2, les hypertendus et les obèses. Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux (Masi et al., 2012) qui montrent une modulation des cytokines par cette huile.

Nos résultats montrent que l'huile de nigelle augmente significativement le taux des INF- γ chez les quatre pathologies et les témoins. L'huile de nigelle n'a aucun effet sur la sécrétion des IL-4 chez les diabétiques de type 1 et les témoins par contre elle l'augmente chez les diabétiques de type 2, les hypertendus et les obèses. De plus, l'huile de nigelle augmente

significativement le rapport Th1/Th2 vers le profil Th1 ce qui reflète un effet inflammatoire de cette huile chez les diabétiques de type 1 et les témoins.

L'huile de nigelle a un effet d'immuno-stimulation sur les lymphocytes sans aucun effet sur la balance Th1/Th2 chez les obèses, les diabétiques de type 2 et les hypertendus. Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux (Djelti et al., 2014; Dorucu et al., 2009; EL Kadi t al., 1990; Salem. 2005; El-Tahir et Baleet, 2006; Wang et al., 2011). Cependant, d'autres études suggèrent que l'huile de Nigelle peut avoir un effet immunosuppresseur puisqu'il a prouvé son efficacité dans le traitement de l'allergie (Shahzad et al., 2009). Il apparait clairement que les lymphocytes répondent différemment aux différentes huiles selon la pathologie considérée.

Les altérations dans la prolifération lymphocytaire et la sécrétion des cytokines après un traitement par les huiles sont liée à la modification de la composition en acides gras des membranes cellulaires. Certains auteurs ont suggéré que l'activation de la phospholipase D peut être responsable de l'effet antiprolifératif du DHA dans les cellules lymphoïdes et que la surexpression de la phospholipase D dans les cellules T inhibe l'expression de l'ARNm des IL-2 (Diaz et al., 2005).

D'autres études ont montré que l'EPA et DHA inhibent la prolifération lymphocytaire en inhibant l'activité de la MAP kinase (Denys et al., 2002).

La dernière partie de notre travail porte sur un concept important, le stress oxydatif, reconnu aujourd'hui comme la base moléculaire de toutes les pathologies. Le stress oxydatif s'installe quand la production des radicaux libres dépasse la capacité de la défense antioxydante. Les radicaux libres font partie intégrante du fonctionnement de l'organisme et jouent un rôle important. En effet, les phénomènes radicalaires sont impliqués dans la multiplication, la différenciation, la croissance et le fonctionnement des différents types de cellules. Mais un déséquilibre entre la production intense et leur élimination peut engendrer un stress oxydant. Ce dernier peut conduire à l'altération des fonctions vitales de l'organisme (Myatt et Cui, 2004). Dans le même sens, les résultats de notre travail montrent l'existence d'un stress oxydant intracellulaire qui se manifeste par une augmentation des taux de MDA, protéines carbonylées, superoxyde d'anion et une chute significative des teneurs en glutathion réduit (GSH) et dans l'activité de la catalase dans les lymphocytes isolés des patients atteints de diabète, d'hypertension et d'obésité.

La peroxydation lipidique entraîne la libération de plusieurs produits d'oxydation comme des diènes conjugués et des aldéhydes qui à fortes concentrations, s'avèrent toxiques pour les

cellules. La plupart de ces aldéhydes sont très réactifs et peuvent être considérés comme des seconds messagers toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. L'aldéhyde le mieux étudié est le MDA, aldéhyde formé lors de la coupure des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons (Esterbauer et al., 1989). De plus, les protéines carbonylées sont considérées comme des marqueurs de l'oxydation des protéines qui sont aussi des molécules chimiquement stables. Cette caractéristique les rend facile à détecter (Jamel et al., 2010). L'anion superoxyde (O_2^-) est une espèce oxygénée réactive qui réagit rapidement avec le monoxyde d'azote (NO) dans le système vasculaire pour produire du peroxynitrite ayant des effets destructeurs sur les biomolécules à fortes doses.

Dans notre étude, nos résultats indiquent que les niveaux de MDA et des protéines carbonylées dans les lymphocytes stimulés par la Con-A sont augmentés chez les diabétiques, les hypertendus et les obèses par rapport aux témoins. Cette augmentation résulte probablement d'une surproduction de radicaux libres et la perturbation du système d'évacuation.

Une augmentation de l'anion superoxyde lymphocytaire a été noté chez ces patients ; cette augmentation est en faveur de l'augmentation de la formation du peroxynitrite, responsable de nombreuses altérations des molécules biologiques (Zhu et al., 2015). Nos résultats sont en accord avec d'autres résultats qui confirme la présence de ces marqueurs du stress oxydatif au cours de ces pathologies (Karaouzene et al., 2010; Lappas et al., 2011; Djelti et al., 2014 ; El-Hassar et al 2015; Habib et al., 2015; Baba-Ahmad et al., 2016; Zuccarella-Hackl et al., 2016).

Le niveau de GSH lymphocytaire et la catalase sont significativement réduits au niveau des lymphocytes des diabétiques, hypertendus et obèses par rapport aux témoins, à l'exception des hypertendus et des obèses où les taux de GSH sont similaires à ceux des témoins. Ces résultats reflètent une diminution de la défense antioxydante dans le cas de ces pathologies, et ils sont en accord avec des études antérieures (Viroonudomphol et al., 2000; Fernandez-Sanchez et al., 2011; Lappas et al., 2011; Djelti et al., 2014; Shaeer et al., 2014; El-hassar et al., 2015). Il est bien connu que dans des situations de production intense de radicaux libres, les antioxydants intracellulaires sont consommés puisqu'ils sont utilisés pour essayer de protéger les cellules. La correction par les micronutriments des anomalies liées au stress oxydant est un moyen thérapeutique mais aussi préventif pour freiner la progression de ces maladies.

Dans les lymphocytes cultivés en présence des vitamines (C, E) et du NADH chez les groupes diabétiques, hypertendus et obèses, une diminution des marqueurs du stress oxydatif comme le MDA, les protéines carbonylées et l'anion superoxyde a été observée. Aucun effet n'est noté chez les témoins, à l'exception du fait qu'en présence de la vitamine E, le taux d'anion superoxyde a diminué significativement. Nos résultats prouvent que les vitamines (C, E) et le NADH ont un effet puissant dans la protection des lymphocytes contre le stress oxydatif par la diminution des taux de ces marqueurs oxydants. Ces résultats sont en accord avec des travaux antérieurs (Cavallini et al., 1983; Cadenas et al., 1994; Lee et Wan, 2000; franco-comodo et al., 2003; Ademoglu et al., 2004; Olek et al., 2004; Block et al., 2008 ; Alpsyoy et al., 2009; Yasir et al., 2009).

La présence des vitamines (C et E) dans les milieux de culture a induit une augmentation des teneurs lymphocytaires en GSH par rapport aux valeurs trouvées chez les lymphocytes incubés avec la Con A seule des diabétiques, hypertendus, obèses et les témoins, par contre la vitamine C n'a aucun effet chez les témoins. De plus le NADH induit une augmentation du taux de GSH chez les hypertendus alors aucun effet n'est noté chez les diabétiques, les obèses et leurs témoins. Ces résultats confirment le rôle important du NADH comme étant un coenzyme qui est un élément nécessaire pour l'activation des enzymes.

La présence de la vitamine E augmente d'une façon significative l'activité de la catalase chez les quatre pathologies et aucun effet observée chez les témoins. Par contre la vitamine C et le NADH n'ont aucun effet sur l'activité de la catalase.

Nos résultats confirment que les vitamines (C et E) et le NADH renforcent la capacité antioxydante des cellules issues des patients atteints de ces maladies métaboliques par leur puissant effet contre la génération des radicaux libres. Nos résultats sont en accord avec des travaux qui précèdent (Faria et al., 2005; Barros et al., 2007; Alpsyoy et al., 2009; Goyal et al., 2009) et confirment les effets bénéfiques la vitamine C par son effet antioxydant qui protège les cellules contre les dommages infligés par les radicaux libres et le NADH, ce coenzyme qui a été utilisé en tant qu'agent antioxydant protégeant les cellules contre les dommages provoqués par les oxydants endogènes ou exogènes (Olek et al., 2004; Ying, 2008).

L'étude de Lu et al. (2016) montre que la vitamine E alimentaire augmente les performances de croissance et le statut antioxydant. De plus, une autre étude montre que la vitamine E protège les acides gras polyinsaturés contre les agressions oxydatives surtout que ces acides gras entrent dans la structure des phospholipides qui forment les bicouches des membranes biologiques (Sebei et al., 2007).

De plus, à côté de leurs effets bénéfiques, certaines vitamines ont un double caractère vis-à-vis de leur effet antioxydant telle que la vitamine C qui est un antioxydant diététique puissant à caractère double où elle présente un effet pro-oxydant qui génère des radicaux libres réactifs et qui induisent des effets cytotoxiques à des concentrations élevées pharmacologiques. Des examens systématique de l'acide ascorbique dans certaines tumeurs permettraient clairement de savoir les effets bénéfiques et néfastes de la vitamine C in vitro et in vivo, comme il a été démontré par des travaux précédents qui notent que la vitamine C est un agent cytotoxique efficace contre les cellules néoplasiques sans effets potentiellement nuisibles sur les cellules normales (Harada et al., 1987; Migliozi., 1977; Putchala et al., 2013). Les doses utilisées lors des suppléments doivent être donc bien étudiées afin d'éviter les effets pro-oxydants des vitamines.

Nos résultats montrent aussi que le taux du MDA, des protéines carbonylées et de l'anion superoxyde diminuent tandis que le taux de GSH et l'activité de la catalase augmentent dans les lymphocytes cultivés présence de l'huile de lin et de l'huile de nigelle chez les groupes diabétiques, hypertendus et obèses alors qu'aucun effet n'est observé chez les témoins concernant le taux du MDA et les protéines carbonylées. Par contre, le statut antioxydant s'améliore en faveur d'une augmentation de la défense antioxydante et une réduction de l'anion superoxyde par les deux huiles.

Nos résultats sont en accord avec des rapports antérieurs indiquant les effets bénéfiques de l'huile de lin et de nigelle sur le stress oxydatif en favorisant l'expression des enzymes antioxydantes (Salem, 2005; Hussein et al., 2012; Jangale et al., 2013 ;Djelti et al., 2014; Saidi et al., 2016). L'huile de nigelle empêche la peroxydation lipidique et augmente l'activité du système de défense antioxydant. De plus, l'huile de lin réduit le taux de MDA dans les érythrocytes de diabétiques (Yang et al., 2012).

De plus, en présence des huiles, particulièrement l'huile de lin et de nigelle, on remarque que les taux de protéines carbonylées sont diminués. Ceci est en faveur d'un effet bénéfique des huiles sur la balance oxydante/antioxydante. Les teneurs en MDA et en protéines carbonylées n'étaient pas affectées par ces huiles chez les témoins, soutenant un effet bénéfique seulement en présence d'un stress oxydatif évident tel que montré dans les quatre pathologies.

En effet, l'huile d'olive et l'huile de tournesol n'ont aucun effet sur les taux de protéines carbonylées alors que l'huile d'olive réduit les taux de MDA dans les lymphocytes issus des patients diabétiques, hypertendus et obèses et aussi par rapport aux témoins. De plus aucun effet de l'huile d'olive et de l'huile de tournesol sur l'anion superoxyde n'est observé. Les

effets bénéfiques de l'huile d'olive pourraient être liés à la teneur élevée en vitamine E contenue dans cette huile par rapport à celle trouvée dans l'huile de tournesol. Il a été démontré que les composants mineurs de l'huile d'olive ont plusieurs avantages pour la santé chez l'homme (Covas et al., 2006). Les effets bénéfiques de l'huile d'olive et de lin sur l'équilibre redox peut-être dû à la composition d'acides gras ou aux contenus phénoliques (Ayad et al., 2013).

Les marqueurs du statut oxydant augmentent significativement chez les patients par rapport aux témoins. Cependant, l'huile d'olive et l'huile de tournesol n'ont aucun effet sur les taux de GSH et sur l'activité de la catalase des lymphocytes chez les patients des quatre pathologies et les témoins. Le taux de GSH et l'activité de la catalase diminuent significativement en présence de ces deux huiles par rapport aux valeurs témoins. Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux (Shalini et Rajamohan, 2012; Baba-Ahmad 2016).

Par contre dans notre étude, l'huile d'olive a nettement restauré le statut antioxydant en diminuant la quantité des pro-oxydants (MDA) induit par les quatre pathologies. Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux (Omotayo et al., 2011; Abo Ghanema et Sadek. 2012; Ayad et al 2013; Djelti et al., 2014) qui ont démontré l'effet de correction de cette huile. Ces résultats contradictoires peuvent s'expliquer par le fait que nous avons utilisé des huiles naturelles alors que les études précédentes ont utilisé des acides gras purifiés.

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des radicaux libres. Il a été démontré qu'une consommation excessive d'acide arachidonique induit une augmentation des processus de lipoperoxydation, en particulier chez les sujets souffrant d'un stress oxydatif (Lagarde et Vericel, 2004). Plus un acide gras est polyinsaturé, plus il est fragile vis-à-vis des radicaux libres, et donc oxydable (Kharroubi et al., 2015). Ceci peut expliquer l'induction de la défense antioxydante et l'augmentation de certains marqueurs oxydants en présence des huiles.

Plusieurs études ont suggéré que l'exposition des cellules aux espèces oxygénées (EOR) peut être la cause des dommages au niveau de l'ADN (Yasir et al., 2009; Calviello et al., 2006). Le test des micronoyaux a été proposé pour détecter les dommages génétiques. Ce test est basé sur la numération d'entités nucléaires, les micronoyaux, présents dans le cytoplasme des cellules en interphase et dont le diamètre est inférieur au tiers du diamètre du noyau principal (Fenech et al., 2003). Les micronoyaux sont constitués de fragments de chromosomes ou de chromosomes entiers qui, lorsqu'ils ne sont pas inclus dans les noyaux interphasiques, forment un noyau distinct. Ces entités chromosomiques sont des fragments acentriques (c'est à dire dépourvus de centromère) ou des chromosomes entiers non rattachés au fuseau

mitotique et perdus au cours de la mitose. Les mécanismes d'apparition des micronoyaux peuvent être regroupés en effet clastogène d'une part et effet aneugène d'autre part. La clastogénèse est associée à la production de fragments acentriques, l'aneugénèse est associée à la perte de chromosomes, le plus souvent par altération de l'appareil mitotique.

Dans notre étude, le diabète, l'hypertension et l'obésité sont associées à une augmentation significative de la fréquence des micronoyaux (MN) dans les lymphocytes, suggérant un effet cytotoxique du stress oxydatif.

Nos résultats ont révélé que les vitamines C, E et le NADH induisent une diminution significative des fréquences des micronoyaux chez les diabétiques, les hypertendus et les obèses, par contre aucun effet n'est observé chez les témoins. Ces nutriments ont donc normalisé la formation des micronoyaux au cours des quatre pathologies par rapport aux témoins.

Nos résultats ont confirmé que les vitamines (C, E) et le NADH jouent un rôle important dans la protection des lymphocytes contre les dommages oxydatifs de l'ADN, en accord avec des résultats précédents (Hartmann et al., 1995; Yasir et al 2009; Konopacka. 2004).

Le traitement avec les huiles de lin et de nigelle a induit une réduction significative de la fréquence MN dans le groupe diabétique, hypertendu et obèse. Cet effet favorable pourrait être lié à la réduction du stress oxydatif intracellulaire avec les huiles de lin et de nigelle chez les quatre pathologies. En effet, les huiles de lin et de nigelle ont normalisé la fréquence MN et donc peuvent avoir un effet protecteur contre les dommages cellulaires durant les quatre pathologies. Cependant, en présence d'huiles d'olive et de tournesol, la fréquence MN reste élevée chez les diabétiques, les hypertendus et les obèses par rapport aux témoins, probablement en relation avec le stress oxydatif persistant dans ces cellules.

Une certaine similarité entre les résultats a été observée chez les quatre pathologies, le diabète de type 1 et 2, l'hypertension et l'obésité vis à vis l'état de stress oxydatif et les désordres métaboliques présents au cours de ces pathologies. Néanmoins, les lymphocytes isolés des patients atteints de ces pathologies répondent différemment aux nutriments testés, à savoir la prolifération, la sécrétion des cytokines et le statut redox. Mais, l'ensemble de nos résultats mettent en relief un certain effet correctif en présence des vitamines (C, E), du NADH et des huiles utilisés lors de ces pathologies.

CONCLUSION

Le diabète, l'hypertension et l'obésité sont reconnus comme des pathologies chroniques caractérisées par leurs origines multifactorielles et par leurs hétérogénéités en termes de déterminants métaboliques et de facteurs de risque. Suite aux conséquences néfastes de ces pathologies, les diabétiques, les hypertendus et les obèses sont exposés à des risques graves qui peuvent affecter leur santé. Nos résultats confirment que ces pathologies, sont associées à des perturbations métaboliques, un stress oxydant important lié à une hyperproduction d'ERO et un dysfonctionnement immunitaire, au niveau plasmatique et lymphocytaire. Etant donné le nombre croissant des patients atteints des maladies métaboliques dans le monde et dans toutes les régions du globe, l'étude des causes de ces pathologies, de leurs conséquences et la recherche d'un traitement adéquat revêt une importance majeure, dans le sens de la correction et la prévention.

De nombreux nutriments tels que les vitamines, les coenzymes et les AGPI/AGMI contenus dans les huiles sont reconnus pour leur capacité à moduler les fonctions immunitaires, en particulier en situation inflammatoire, et en présence du stress oxydatif. Un lien étroit unissant ces fonctions a considérablement évolué en quelques décennies vu aussi les carences en micronutriments et en antioxydants qui sont à l'origine de l'installation de plusieurs complications.

Nos résultats mettent en évidence les effets de certaines vitamines (C, E), le NADH et de certains acides gras issus de quatre huiles différentes (huile d'olive, huile de lin, huile de nigelle, huile de tournesol) sur la prolifération des lymphocytes T, la production de cytokines pro ou anti inflammatoires ainsi que sur le statut oxydant / antioxydant chez les patients diabétiques de type 1 et 2, les hypertendus et les obèses.

Il apparaît clairement que les lymphocytes isolés des patients diabétiques type 1 et des obèses sont plus sensibles à la vitamine C et au NADH que les autres groupes étudiés. De plus, la vitamine E augmente significativement la prolifération lymphocytaire chez les quatre pathologies et chez les témoins. Nos résultats démontrent aussi que les vitamines C, E et le NADH modulent de la sécrétion des cytokines à travers leurs rôles dans la réduction de l'inflammation et l'amélioration de la capacité des cellules T. Il est important aussi de noter que la vitamine E a un effet pro-inflammatoire chez les diabétiques de type 1 et 2 et les témoins. De plus, la présence du NADH a aussi un effet pro-inflammatoire chez les quatre pathologies. Ces résultats sont intéressants et montrent que les lymphocytes répondent différemment à la présence des vitamines et le NADH dans le milieu de culture. Les profils engendrés peuvent être pro-inflammatoire ou anti-inflammatoire. Il est donc impératif de

prendre en considération le type de pathologie en cas de supplémentation en vitamines et en NADH.

Nos résultats montrent que les AGPI de l'huile de lin ou de nigelle ont des effets modulateurs importants sur la fonction des cellules T in vitro, alors que les effets immunomodulateurs de l'huile d'olive et l'huile de tournesol n'étaient pas évidents concernant la prolifération des lymphocytes et la sécrétion des cytokines chez certaines pathologies. Cependant, ces effets ont été mis en évidence dans d'autres pathologies. Cette immunomodulation varie entre l'immunosuppression et l'immunostimulation. Il apparaît clairement que les lymphocytes répondent aussi différemment aux différentes huiles selon la pathologie considérée.

Nos résultats confirment que les vitamines et le NADH renforcent la capacité antioxydante des cellules issues des patients atteints de ces maladies métaboliques par leur puissant effet contre la génération des radicaux libres. De plus, le statut antioxydant s'améliore dans les lymphocytes cultivés en présence de l'huile de lin et l'huile de nigelle en faveur d'une augmentation de la défense antioxydante et une réduction des marqueurs du statut oxydant par les deux huiles.

Les marqueurs du statut antioxydant en présence l'huile d'olive et l'huile de tournesol ne sont pas affectés chez les patients des quatre pathologies. De plus l'huile de tournesol n'a aucun effet sur les marqueurs du statut oxydant, par contre, l'huile d'olive a nettement restauré le statut antioxydant en diminuant la quantité des pro-oxydants.

Pour conclure ce travail de doctorat, il est important de noter que nos résultats montrent que les lymphocytes isolés des patients atteints de diabète, hypertension et obésité répondent de manière différente aux nutriments testés, incluant la prolifération, la sécrétion des cytokines et le statut redox. Cependant, l'ensemble de nos résultats confirment que les vitamines, le NADH et les acides gras issus des huiles peuvent constituer une stratégie nutritionnelle qui s'adapte à la pathologie à travers des actions correctives et à des doses bien déterminées, qui peuvent prendre une place importante dans nos ordonnances.

Actuellement, nous possédons une partie des facteurs de risques mais une nouvelle approche thérapeutique de ces pathologies, qui mettrait davantage l'accent sur l'aspect nutritionnel et moléculaire, semble envisageable et mérite d'être appliquée incluant notamment les micronutriments pour avoir des résultats probants tant sur le plan correctif que sur le plan préventif.

En perspective de ces travaux de recherche, il serait intéressant de tester d'autres nutriments, et essentiellement des combinaisons de nutriments sur la fonction lymphocytaire in vitro et in

vivo. Dans ce cas, l'effet synergique ou contradictoire sera mis en relief, ce qui peut nous amener à faire des recommandations nutritionnelles basées sur une approche réelle de l'alimentation humaine diversifiée.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Abbal M (2013). L'immunité innée partenaire essentiel de l'immunité adaptative. *Revue française d'allergologie*. 53: 598–600.
2. Abboud H, Henrich WL (2010). Clinical practice. Stage IV chronic kidney disease. *N Engl J Med*. 362: 56-65.
3. Abo Ghanema I, Sadek K (2012). Olive leaves extract restored the antioxidant perturbations in red blood cells hemolysate in streptozotocin induced diabetic rats. *Eng Technol*. 6: 134–140.
4. Ademoglu E, Erbil Y, Tam B, Barbaros U, Ilhan E, Olgac V, Mutlu-Turkoglu U (2004). Do vitamin E and selenium have beneficial effects on trinitrobenzene sulfonic acid-induced experimental colitis. *Digestive Diseases and Sciences*. 49: 102-108.
5. Adeyemi OM, Vibhakar S, Evans AT (2009). Obesity and lymphocyte subsets in virologically suppressed HIV-infected patients. *Metabolism Clinical and Experimental*. 58: 1285–1287.
6. Aebi H (1974). Catalase in *Methods of Enzymatic analysis*. Bergmayer, HU, Ed. chemie, 2nd edn, Weinheim, F.R.G. 2: 673-684.
7. Ahsan H, Ahad A, Iqbal J, Siddiqui WA (2014). Pharmacological potential of tocotrienols: a review. *Nutr Metab (Lond)* 11:52.
8. Alberti KG, Zimmet P (2006), The metabolic syndrome: time to reflect. *Curr Diab Rep*. 6: 259–261.
9. Allman-Farinelli MA, Hall D, Kingham K, Pang D, Petocz P, Favaloro EJ (1999). Comparison of the effects of two low fat diets with different α -linolenic : linoleic acid ratios on coagulation and fibrinolysis. *Atherosclerosis*. 142 : 159-168.
10. Alonso A, Ruiz-Gutierrez V, Martínez-González MA (2006). Monounsaturated fatty acids, olive oil and blood pressure: epidemiological, clinical and experimental evidence. *Public Health Nutr*. 9(2) : 251-257.
11. Alpsyoy L, Yildirim A, Agar G (2009). The Antioxidant effects of vitamin A, C, and E on aflatoxin b1-induced oxidative stress in human lymphocytes. *Toxicology and Industrial Health*. 25 : 121-127.
12. Appel LJ, Brands MW, Daniels SR, Karanja N, Elmer PJ, Sacks FM (2006). Dietary approaches to prevent and treat hypertension: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension*. 47: 296-308.
13. Archer WR, Lamarche B, St-Pierre AC, Mauger JF, Dériaz O, Landry N, Corneau L, Després JP, Bergeron J, Couture P, Bergeron N (2003). High carbohydrate and high

- monounsaturated fatty acid diets similarly affect LDL electrophoretic characteristics in men who are losing weight. *J Nutr.* 133(10): 3124-3129.
14. Aribi M, Merzouk H, Haddouche M, Benyoucef M, Taleb A, Kendouci Tani M, Merzouk SA, Meziane A (2010). Clinical evaluation of lipids, lipoproteins and red blood cells sodium and potassium in patients with different grades of hypertension. *Clinical Biochemistry.* 43: 942-947.
 15. Atta NF, El-Kadya MF, Galal A (2010). Simultaneous determination of catecholamines, uric acid and ascorbic acid at physiological levels using poly (N-methylpyrrole) /Pdnanoclusters sensors. *Anal. Biochem.* 400 : 78-88.
 16. Auclair C, Voisin E (1985). Nitroblue-tetrazolium reduction. In: Greenwald RA, eds. *Handbook of methods for oxygen radical research.* Boca Raton: CRC Press, Inc. 123-132.
 17. Avanzini MA, Ciardelli L, Lenta E, Castellazzi AM, Marconi M, Derosa G, Dos-Santos C, Oliveri M, Pistorio A, Lorini R, d'Annunzio G. (2005). IFN-gamma low production capacity in type 1 diabetes mellitus patients at onset of disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 113(6): 313-317.
 18. Ayad A, Merzouk H, Merzouk SA, Narce M (2013). Blood oxidant / antioxidant status in overfed aging rats : comparative effects of sunflower and olive – linseed mixture oil rich diets. 26(8): 390-393.
 19. Baba Ahmed FZ, Bouanane S, Merzouk H, Soufi N (2016). Effet des acides gras polyinsaturés N-3 sur la modulation in vitro des lymphocytes T et le statut redox chez les femmes obèses hypertendues. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie.* 65 :126-130.
 20. Bachmeyer C, Rohaut B, Cazier A, Turc Y (2006). Scorbut. *Presse Med.* 35: 357–358.
 21. Badr G, Bashandy S, Ebaid H, Mohany M, Sayed D (2012). Vitamin C supplementation reconstitutes polyfunctional T cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Nutr.* 51(5) : 623-633.
 22. Bakondi E, Bai P, Erdelyi K, Szabo C, Gergely P, Virag L (2004). Cytoprotective effect of gallotannin in oxidatively stressed Ha- CaT keratinocytes: the role of poly (ADP-ribose) metabolism. *Exp Dermatol.* 13: 170–178.
 23. Barros DO, Xavier SM, Barbosa CO, Silva R.F, Freitas RL, Maia FD, Oliveira AA, Freitas RM, Takahashi RN (2007). Effects of the vitamin E in catalase activities in hippocampus after status epilepticus induced by pilocarpine in wistar rats. *Neuroscience Letters.* 416 : 227-230.

24. Barton CH, Ni Z, Vaziri ND (2001). Enhanced nitric oxide inactivation in aortic coarctation-induced hypertension. *Kidney Int.* 60:1083-1087.
25. Basdevant A (2011). Histoire naturelle et origines des obésités. In: *Traité médecine et chirurgie de l'obésité*. Paris: Lavoisier. p. 10–16.
26. Basu S, Whiteman M, Matthey DL, Halliwell B (2001). Raised levels of F2-isoprostanes and prostaglandin F2 alpha in different rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 60: 627–31.
27. Bautista LE, Atwood JE, O'Malley PG, Taylor AJ (2004). Association between C reactive protein and hypertension in healthy middle-aged men and women. *Coronary Artery Disease.* 6(15) : 331–336.
28. Baykal Y, Yilmaz MI, Celik T, Gok F, Rehber H, Akay C, Kocar IH (2003). Effects of antihypertensive agents, alpha receptor blockers, beta blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers and calcium channel blockers, on oxidative stress. *J Hypertens.* 21: 1207–1211.
29. Beaudeau JL, Vasson MP (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. 1re éd Paris, France : Edt Tech and Doc et Edts Médicales Internationales. Lavoisier. 45-86.
30. Belenky P, Bogan KL, Brenner C (2007). NAD - metabolism in health and disease. *Trends Biochem Sci.* 32: 12–19.
31. Béné M (2014). Détection/dosage des cytokines et de leurs récepteurs : chapitre 10. *Méthodes en immunologie.* 180-186.
32. Berger F, Ramirez-Hernandez MH, Ziegler M (2004). The new life of a centenarian : signalling functions of NAD(P). *Trends Biochem Sci.* 29: 111–118.
33. Bergereau E, (2010). Role des LT-CD8+ dans l'auto-immunité du SNC influence des autres effecteurs de l'immunité adaptative. Thèse de doctorat. France. l'Université Paul Sabatier – Toulouse III. 246P.
34. Bergfjord col (2010). Comment on "30,000-Year-Old Wild Flax Fibers. *Science.* 328 (5986): 1634.
35. Betteridge DJ (2000). What is oxidative stress? *Metabolism.* 49: 3-8.
36. Bisbal C, Lambert K, Avignon A (2010) Antioxidants and glucose metabolism disorders. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 13: 439–446.
37. Blake GK, Rifai N, Buring JE, Ridker PM (2003). Blood pressure, C-reactive protein, and risk of future cardiovascular events. *Circulation.* 24(108) : 2993–2999.

38. Block G, Jensen CD, Morrow JD, Holland N, Norkus EP, Milne GL, Hudes M, Dalvi TB, Crawford PB, Fung EB, Schumacher L, Harmatz P (2008). The Effect of Vitamins C and E on biomarkers of oxidative stress depends on baseline level. *Free Radical Biology & Medicine*. 45 : 377-384.
39. Boccardi V, Baroni M, Mangialasche F, Mecocci P (2016). Vitamin E family : Role in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia : Translational Research & Clinical Interventions*. 1-10.
40. Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F (2007). Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. *Atherosclerosis*. 190: 181–186.
41. Bonnefont-Rousselot D, Beaudoux JL, Théron P, Peynet J, Legrand A, Delattre J (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Ann Pharm Fr*. 62 : 147-157.
42. Bonnefont-Rousselot D, Legrand A, Delattre J (2003). The role of oxidative imbalance in diabetes mellitus in Redox Genome Interactions in Health and Disease. Fuchs J, Podda M, Packer L (Eds.). New York : Marcel Dekker, Inc, chap. 23 : 511-538.
43. Bonnefont-Rousselot D (2002). Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 5: 561-568.
44. Bouamama S, Merzouk S, Medjdoub A, Merzouk-Saidi A, Merzouk SA (2017). Effects of exogenous vitamin A, C, E and NADH supplementation on proliferation, cytokines release, and cell redox status of lymphocytes from healthy aged subjects. *Applied physiology, Nutrition and Metabolism*. Xx: xx. Xx-xx.
45. Bouanane S, Merzouk H, Benkalfat NB, Soulimane N, Merzouk SA, Gresti J, Tessier C, Narce M (2009). Time course of changes in serumoxidant / antioxidantstatus in overfed obese rats and their offspring. *Clin Sci*. 116: 669–680.
46. Bourgou S, Ksouri R, Bellila A, Skandrani I, Falleh H, Marzouk B (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies* 331 (1) : 48-55.
47. Brigelius-Floh R (2009). Vitamin E : the shrew waiting to be tamed. *Free Radic Biol Med*. 46: 543–554.
48. Cabrini L, Barzanti V, Cipollone M, Fiorentini D, Grossi G, Tolomelli B, Zambonin L, Landi L (2001). Antioxidants and total peroxy radical-trapping ability of olive and seed oils. *J Agric Food Chem*. 49(12): 6026-6032.

49. Cadenas S, Rojas C, Perez-Campo R, Lopez-Torres M, Barja G (1994). Effect of dietary vitamin c and catalase inhibition of antioxidants and molecular markers of oxidative damage in guinea pigs. *Free Radical Research*. 21 : 109-118.
50. Calder PC (2001). Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids*. 36: 1007–1024.
51. Calder PC (2006). N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am. J Clin Nutr*. 83(6): 1505-1519.
52. Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, Buetler T, Clement K, Cunningham K, Esposito K, Jönsson LS, Kolb H, Lansink M, Marcos A, Margioris A, Matusheski N, Nordmann H, O'Brien J, Pugliese G, Rizkalla S, Schalkwijk C, Tuomilehto J, Wärnberg J, Watzl B, Winklhofer-Roob BM (2011). Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br J Nutr*. 3: 65-78.
53. Calviello G, Piccioni E, Boninsegna A, Tedesco B, Maggiano N, Serini S, Wolf FI, Palozza P (2006). DNA damage and apoptosis induction by the pesticide Mancozeb in rat cells: involvement of the oxidative mechanism. *Toxicol Appl Pharmacol*. 211(2): 87-96.
54. Campbell IL, Wong GH, Schrader JW, Harrison LC (1985). Interferon-gamma enhances the expression of the major histocompatibility class I antigens on mouse pancreatic beta cells. *Diabetes*. 34: 1205-1209.
55. Canello R, Clement K (2006). Is Obesity an Inflammatory Illness ? Role of low-Grade Inflammation and Macrophage Infiltration in Human White Adipose Tissue. *BJOG : An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 113 : 1141-1147.
56. Cavallini L, Valente M, Bindoli A (1983). NADH and NADPH Inhibit lipid peroxidation promoted by hydroperoxides in rat liver microsomes. *Biochimica Biophysica Acta*. 152 : 339-345.
57. Ceriello A (2008). Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension. *Diabetes Care*. 31(2): 181–184.
58. Chandra RK., Calder PC, Field CJ, Gill HS. (2002). Effect of post-natal protein malnutrition and intrauterine growth retardation on the immunity and risk of infection. *Nutrition and Immune Function*, Cabi Publishing. 41 - 56.
59. Chang HH, Chen CS, Lin JY (2009). High dose vitamin C supplementation increases the Th1/Th2 cytokine secretion ratio, but decreases eosinophilic infiltration in

- bronchoalveolar lavage fluid of ovalbumin-sensitized and challenged mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 10471-10476.
60. Chepda T, Perrier C, Chamson A, Frey J (1999). Effets pro et anti oxydants de l'ascorbate. *Nutr. Clin. Métabol.* 13 (2) : 115-120.
61. Chopra R, Nayar S, Chopra I (1956). *Glossary of Indian medicinal plants*. New Delhi. India: CSIR. 92.
62. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas I, Papademetriou L, Economou M, Stefanadis C (2007). The implication of obesity on total antioxidant capacity in apparently healthy men and women: the ATTICA study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 17: 590–597.
63. Clarke SD (2001). Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *J Nutr.* 131. 1129–1132.
64. Clément K, Vignes S (2009). Inflammation, adipokines et obésité. *La Revue de médecine interne.* 30 : 824–832.
65. Corbett J A, Sweetland M A, Lancaster JR Jr, McDaniel ML (1993). A 1-hour pulse with IL-1 beta induces formation of nitric oxide and inhibits insulin secretion by rat islets of Langerhans: evidence for a tyrosine kinase signaling mechanism. *FASEB J.* 7: 369- 374.
66. Covas MI, Ruiz-Gutiérrez V, De la Torre R, Kafatos A, Lamuela-Raventós RM, Osada J, Owen RW, Visioli F (2006). Minor components of olive oil : evidence to date of health benefits in humans. *Nutr Rev.* 64: 20–30.
67. Cracowski JL, Bonaz B, Bessard G, Bessard J, Anglade C, Fournet J (2002). Increased urinary F2-isoprostanes in patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 97: 99–103.
68. Cynober L (2008). Complément alimentaire, alicament, médicament : qui est qui ? Ou faust revisité. *Cah Nutr Diét.* 43 : 99-103.
69. Dallongeville J (2013). Acides gras alimentaires et risque cardiovasculaire. *Nutrition et maladies cardiovasculaires.* 214 : 30-35.
70. Dandona P, Aljada A, Mohant P (2002). The anti-inflammatory and potential anti-atherogenic effect of insulin: a new paradigm. *Diabetologia.* 45: 924–930.
71. Das UN (2010) Obesity: genes, brain, gut, and environment. *Nutrition.* 26: 459–473.
72. Daskalopoulou SS, Khan NA, Quinn RR, Ruzicka M, McKay DW et al (2012). The 2012 Canadian hypertension education program recommendations for the management

- of hypertension: blood pressure measurement, diagnosis, assessment of risk, and therapy. *Can J Cardiol.* 28: 270–287.
- 73.** De Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Guidollet J, Touboul P, Delaye J (1994). Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* 6-11. 343(8911): 1454-1459.
- 74.** De Pablo DA, De Cienfuegos GA (2000). Special feature modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunol Cell Biology.* 78: 31–39.
- 75.** De Pablo MA, Puertollano MA, De Cienfuegos GA (2004). Olive oil and immune system functions: potential involvement in immunonutrition. *Fasc.* 42-51.
- 76.** Delarue J, LeFoll C, Corporeau C, Lucas D (2004). N-3 long chain polyunsaturated fatty acids: a nutritional tool to prevent insulin resistance associated to type 2 diabetes and obesity?. *Reprod Nutr Dev.* 44: 289-299.
- 77.** Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot D (2005). Radicaux libres et stress oxydant. 1re éd Paris, France: Edt Tech and Doc et Edts Médicales Internationales. 1–492.
- 78.** Delmastro-Greenwood MM, Piganelli JD (2013). Changing the energy of an immune response. *Am J Clin Exp Immunol.* 2: 30–54.
- 79.** Demarin V, Podobnik SS, Storga-Tomic D, Kay G (2004). Treatment of Alzheimer’s disease with stabilized oral Nicotinamide adenine dinucleotide: a randomized, double-blind study. *Drugs Exp Clin Res.* 30:27–33.
- 80.** Denys A, Hichami A, Khan NA (2002). Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid modulate MAP kinase enzyme activity in human T-cells. *Mol Cell Biochem.* 232: 143-148.
- 81.** Desci T, Molnar D, Koletzko B (1997). Reduced plasma concentrations of alpha-tocopherol and beta-carotene in obese boys. *J Pediatr.* 130: 653–655.
- 82.** Desmarchelier C, Tourniaire F, Nowicki M, Bott R, Borel P (2014). La variabilité génétique qui module la biodisponibilité de la vitamine E peut-elle expliquer l’hétérogénéité des effets biologiques observés suite à la supplémentation en vitamine E ?. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* 1(28) :52.
- 83.** Diaz O, Mebarek-Azzam S, Benzaria A, Dubois M, Lagarde M, Nemoz G, Prigent AE (2005). Disruption of lipid rafts stimulates phospholipase D activity in human lymphocytes: implication in the regulation of immune function. *The Journal of Immunology.* 175: 8077- 8086.

84. Dinh QN, Drummond GR, Sobey CG, Chrissobolis S (2014). Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension. *Biomed Res Int.* 7: 871–882
85. Dioscorides P (2002). *De materia medica*. (M. AUFMESSER, Trad.) Hildesheim: Olms-Weidmann.
86. Dixon JB (2010). The Effect of Obesity on Health Outcomes. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 316. 104-108.
87. Djelti F, Merzouk H, Merzouk SA, Narce M (2015). In vitro effects of oil's fatty acids on T cell function in gestational diabetic pregnant women and their newborns. *Journal of Diabetes.* 7: 512–522.
88. Dorucu MS, Colak O, Ispir U, Altinterim B, Celayir Y (2009). The effect of black cumin seeds, nigella sativa, on the immune response of rainbow trout. *Mediterranean Aquaculture* 2: 27-33.
89. Draper HH, Hadley M (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186: 421-431.
90. Duclos M, Gautier JF (2009). Activité physique et diabète de type 2. *Médecine des maladies Métaboliques.* 1(3).
91. Durand D, Marie Damon M, Gobert M (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de nutrition et de diététique.* 48 : 218-224.
92. Eckel RH, Barouch WW, Ershow AG (2002). Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute-National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Working Group on the pathophysiology of obesity-associated cardiovascular disease. *Circulation.* 105: 2923–2928.
93. Ekoé JM, Punthakee Z, Ransom T, Prebtani AP-H, Goldenberg, R (2013). Dépistage du diabète de type 1 et de type 2. *Can J Diabetes.* 37 : 373-376.
94. El Hassar C, Merzouk H, Merzouk SA, Malti N, Meziane A, Narce M (2015). Long-term use of angiotensin II receptor antagonists and calcium-channel antagonists in Algerian hypertensive patients: Effects on metabolic and oxidative parameters. *Free Radical Biology and Medicine* 79: 147–153.
95. El Kadi M, Kandil O, Tabuni AM (1990). Nigella sativa and cell mediated immunity. *Arch of Aids Res* 1: 232-235.
96. Ellman G (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 82: 70-77.

97. Ellulu MS, Rahmat A, Patimah I, Khaza'ai H, Abed Y (2015). Effect of vitamin C on inflammation and metabolic markers in hypertensive and/or diabetic obese adults: a randomized controlled trial. *Drug Des Devel Ther.* 1(9): 3405-3412.
98. El-Tahir KE, Bakeet DM (2006). The Black Seed *Nigella sativa* Linnaeus - A Mine for Multi Cures: A Plea for Urgent Clinical Evaluation of its Volatile Oil. *J T U Med Sc.* 1(1).
99. Emad M, Al-Rasheedi M (2015). *Nigella Sativa* and Natural Honey as Corrosion Inhibitors for Copper in Cooling Water Systems. *J Mater Environ. Sci.* 6 (1): 15. 201-206.
100. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Ab-Wahab MS, Sirajudeen KNS, MD-Salleh MDS, Gurtu S (2011). Differential responses to blood pressure and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic wistar-kyoto rats and spontaneously hypertensive rats: effects of antioxidant (honey) treatment. *Int J Mol Sci.* 12(3) : 1888–1907.
101. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, D'Armiento M, D'Andrea F, Giugliano D (2004). Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA.* 292(12) : 1440-1446.
102. Esteghamati A, Momeni A, Abdollahi A, Khandan A, Afarideh M, Noshad S, Nakhjavani M (2016). Serum fibroblast growth factor 21 concentrations in type 2 diabetic retinopathy patients. *Annales d'Endocrinologie.* 77(5): 586-592.
103. Esterbauer H, Striehl G, Puhl H, Rotheneder H (1989). Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Biologie médicale.* 6: 67-75.
104. Fain O (2004). Vitamin C deficiency. *Rev Med Interne.* 25:872–880.
105. Fain, JN (2006). Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the non fat cells. *Vitamins and Hormones.* 74 : 443-477.
106. Farhangi MA, Keshavarz SA, Eshraghian M, Ostadrahimi A, Saboor-Yaraghi A.A. (2013). Vitamin A supplementation and serum Th1- and Th2-associated cytokine response in women. *Journal of the American College of Nutrition.* 32 : 280-285.
107. Faria RR, Abilio VC, Grassl C, Chinen CC, Negrao LT, De Castro JP, Fukushiro DF, Rodrigues MS, Gomes PH, Registro S, De Carvalho RC, D'Almeida V, Silva RH, Ribeiro RA, Frussa-Filho R (2005). Beneficial effects of vitamin C and vitamin E on

- reserpine-induced oral dyskinesia in rats: critical role of striatal catalase activity. *Neuropharmacology*. 48 : 993-1001.
- 108.** Faucher P, Poitou C (2015). Physiopathologie de l'obésité. *Revue du Rhumatisme Mnographies*. 1(83) : 6-12
- 109.** Favier A (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Pharm Fr*. 64: 390-396.
- 110.** Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders HN, Bonassi S, Zeiger E (2003). Humn project: detailed description of the scoring criteria for the cytokines is block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mut Res*. 534: 65–75.
- 111.** Fenech M, Dreosti I, Aitken C (1997). Vitamin-E supplements and their effect on vitamin-E status in blood and genetic damage rate in peripheral blood lymphocytes. *Carcinogenesis*. 18 : 359-364.
- 112.** Fenger RV, Gonzalez-Quintela A, Linneberg A, Husemoen LL, Thuesen BH, Aadahl M, Vidal C, Skaaby T, Sainz JC, Calvo E (2013). The Relationship of Serum Triglycerides, Serum HDL, and Obesity to the Risk of Wheezing in 85,555 Adults. *Respiratory Medicine*. 107: 816-824.
- 113.** Fernandez-Sanchez A, Madrigal-Santillan E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-Gonzalez A, Esquivel-Chirino C, Durante-Montiel I, Sanchez-Rivera G, Valadez-Vega C, Morales-Gonzalez JA (2011). Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*. 12 : 3117-3132.
- 114.** Fève B (2008). Dysfonction endothéliale au cours du diabète : déséquilibre des voies de signalisation et implication du stress oxydatif. *Médecine des maladies Métaboliques* 2 : 198-203.
- 115.** Fève B, Bastard JP (2009). The role of interleukins in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*. 5: 305–311.
- 116.** Fitó M, Cladellas M, de la Torre R, Martí J, Muñoz D, Schröder H, Alcántara M, Pujadas-Bastardes M, Marrugat J, López-Sabater MC, Bruguera J, Covas MI, SOLOS Investigators (2008). Anti-inflammatory effect of virgin olive oil in stable coronary disease patients: a randomized, crossover, controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*. 62 : 570–574.
- 117.** Forsyth LM, Preuss HG, MacDowell AL, Chiazze L, Birkmayer GD, Bellanti JA (1999). Therapeutic effects of oral NADH on the symptoms of patients with chronic fatigue syndrome. *Ann aller asthma immunol*. 82-92.

118. Foss MC, Foss NT, Pacolla G.M.C.F, Silva CL (1992). Serum levels of tumor necrosis factor in insulin-dependent diabetic patients, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 25: 239–242.
119. Franco Mdo C, Akamine EH, Aparecida de Oliveira M, Fortes ZB, Tostes RC, Carvalho MH, Nigro D (2003). Vitamins C and E improve endothelial dysfunction in intrauterine-undernourished rats by decreasing vascular superoxide anion concentration. *J Cardiovasc Pharmacol.* 42(2) : 211-217.
120. Garcia OP, Long KZ, Rosado JL (2009). Impact of micronutrient deficiencies on obesity. *Nutrition Reviews.* 67 : 559-572.
121. Gardès-Albert M, Bonnefont-RousselotD, Abedinzadeh Z, Jore D (2003). Espèces réactives de l’oxygène. Comment l’oxygène peut-il devenir toxique? *L’Actualité Chimique.* 91-96.
122. Ghisolfi J (1993). Lipides, acides gras polyinsaturé et fonctions immunitaires. *Nutr. Clin. Metabol.* 7 : 289-295.
123. Gill KS (1987). *Linseed*. Publications and Information Division, Indian Council of Agricultural Research. New Delhi. 386 p.
124. Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Lojek A, Číž M, Krzeminski R, Zachwiej Z, Jastrzebski Z, Delgado-Licon E Martin-Belloso O, Trakhtenberg S (2003). Seed oils improve lipid metabolism and increase antioxidant potential in rats fed diets containing cholesterol. *Nutrition Research.* 23:317-30.
125. Goyal MM, Gajjar DU, Patel DB (2009). Effect of Vitamin C and E activity on surgically removed cataractous human lens epithelium cells. *Indian Journal of Clinical.* 24(4) : 375–380.
126. Granato D, Blum S, Rossle C, Le Boucher J, Malnoe A, Dutot G. (2000). Effects of parenteral lipide mulsions with different fatty acid composition on immune cellfunctions in vitro. *JPEN.* 24:113–118.
127. Gurav RB, Kartikeyan S, Jadhav BS (2001). Biochemical profile of hypertensive individuals in an urban community. *Indian J Med Sci.* 55: 663–668.
128. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, McCann LA Rahman, A, Dikalov S, Goronzy J, Weyand C, Harrison DG (2007). Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med.* 204: 2449-2460.
129. Habib SA, Saad EA, Elsharkawy AA, Attia ZR (2015). Pro-inflammatory adipocytokines, oxidative stress, insulin, Zn and Cu: interrelations with obesity in

- egyptian non-diabetic obese children and adolescents. *Advances in Medical Sciences*. 60: 179-185.
- 130.** Han SN, Jeon KJ, Kim MS, Kim HK, Lee AJ (2011). Obesity with a body mass index under 30 does not significantly impair the immune response in young adults. *Nutrition Research*. 31: 362–369.
- 131.** Han SN, Wu D, Ha WK, Beharka A, Smith DE, Bender, BS, Meydani SN (2000). Vitamin E supplementation increases T Helper 1 cytokine production in old mice infected with influenza virus. *Immunology*. 100: 487-493.
- 132.** Harada T, Enomoto A, Kitazawa T, Maita K, Shirasu Y (1987). Oral leukoplakia and costochondral hyperplasia induced by diethylnitrosamine in hamsters exposed to cigarette smoke with or without dietary vitamin C. *Veterinary Pathology*. 24(3) : 257-264.
- 133.** Harrison DG, Guzik TG, Lob HE (2011). Inflammation, immunity, and hypertension. *Hypertension*. 57: 132–140.
- 134.** Harrison DG, Vinh A, Lob H, Madhur MS (2010). Role of the adaptive immune system in hypertension. *Curr Opin Pharmacol*. 10: 203-207.
- 135.** Hartmann A, Niess AM, Grunert-Fuchs M, Poch B, Speit G (1995). Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage. *Mutation Research*. 346 : 195-202.
- 136.** Hashim YZHY, Rowland IR, McGlynn H, Servili M, Selvaggini R, Taticchi A, Esposto S, Montedoro GF, Kaisalo K, Gill CRI (2008). Inhibitory effects of olive oil phenolics on invasion in human colon adenocarcinoma cells in vitro. *International Journal of Cancer*. 112 (3): 405-500.
- 137.** Hassoun EA, Li F, Abushaban A, Stohs SJ (2001). Production of superoxide anion, lipid peroxidation and DNA damage in the hepatic and brain tissues of rats after subchronic exposure to mixtures of TCDD and its congeners. *Journal of Applied Toxicology*. 3(21) : 211–219.
- 138.** Hegi G (1975). *Illustrierte Flora von Mitteleuropa* (éd. 2nd edn., Vol. III). Berlin: Parey.
- 139.** Hernandez J, Garibay-Escobar A, Mendoza-Mendoza A, Pinelli-Saavedra A, Valenzuela O (2008). Effect of exogenous vitamin E on proliferation and cytokine production in peripheral blood mononuclear cells from patients with tuberculosis. *British Journal of Nutrition*. 99: 224-229.

140. Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, Lee SC, Lee KB, Rhee SJ (2004). Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin -induced diabetic rats. *Clin Chim Acta.* 340: 107–115.
141. Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm E, Colditz GA, Rosner BA, Hennekens CH, Willett WC (1997). Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med.* 337:1491-9.
142. Hulsmans M, van Dooren E, Holvoet P (2012). Mitochondrial reactive oxygen species and risk of atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 14: 264–76.
143. Hussein J, El-Khayat Z, Taha M, Morsy S, Drees E, Khateeb S (2012). Insulin resistance and oxidative stress in diabetic rats treated with flaxseed oil. *J Med Plants Res.* 42: 5499–5506.
144. Jackson R, Lawes CM, Bennett DA, Milne RJ, Rodgers A (2005). Treatment with drugs to lower blood pressure and blood cholesterol based on an individual's absolute cardiovascular risk. *Lancet.* 365:434–441.
145. Jamel MJ, Pereira LPM, Mello NB, Eleuthério ECA, Schanaider A (2010). Blood carbonyl protein measurement as a specific oxidative stress biomarker after intestinal reperfusion in rats. *Acta Cirurgica Brasileira.* 25(1): 59-62.
146. Janeway C, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ (2001). *Immunobiology 5 : the immune system in health and disease.* New York, Garland Pub. 732p.
147. Jang HY, Lim K, Lee SM, Park BH (2014). Effects of n-3 PUFA on the CD4⁺ type 2 helper T-cell-mediated immune responses in Fat-1 mice. *Mol Nutr Food Res.* 58(2): 365-375.
148. Jangale NM, Devarshi PP, Dubal AA, Ghule AE, Koppikar SJ, Bodhankar SL, Chougale AD, Kulkarni MJ, Harsulkar AM (2013). Dietary flaxseed oil and fish oil modulates expression of antioxidant and inflammatory genes with alleviation of protein glycation status and inflammation in liver of streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Food Chem.* 141(1):187-195.
149. Jeannin P, Jaillon S, Delneste Y (2010). *Biologie des récepteurs de l'immunité innée : applications cliniques et thérapeutiques.* Revue francophone des laboratoires. 424 : 41-51.
150. JSDB : Jacques Savary des Brûlons, *Dictionnaire universel du commerce*, V^o Tournesol.

151. Kaiser MG, Block SS, Ciraci C, Fang W, Sifri M, Lamont SJ (2012). Effects of dietary vitamin E type and level on lipopolysaccharide-induced cytokine mRNA expression in broiler chicks. *Poultry Science*. 91: 1893-1898.
152. Kaithwas G, Majumdar DK (2013). Effect of *L. usitatissimum* (Flaxseed / Linseed) fixed oil against distinct phases of inflammation. *ISRN Inflamm*. 73(5): 1-58.
153. Kanter M, Coskun O, Budancamanak M (2005). Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World J Gastroenterol*. 11 : 6684–6688.
154. Karaouzene N, Merzouk H, Aribi M, Merzouk SA, Berrouiguet AY, Tessier C, Narce M (2010). Effects of the association of aging and obesity on lipids lipoproteins and oxidative stress biomarkers: A comparison of older with young men. *Nutrition Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 21:792-945.
155. Katona P, Katona-Apte J (2008). The interaction between nutrition and infection. *Clinical Infectious Diseases*. 46 : 1582-1588.
156. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J (2005). Global burden of hypertension : analysis of worldwide data. *Lancet*. 365:217–223.
157. Khadera M, Bresgena N, Eckla PM (2010). Antimutagenic effects of ethanolic extracts from selected Palestinian medicinal plants. *J Ethnopharm*. 127: 319–324.
158. Khallouki F, Younos C, Soulimani R, Oster T, Charrouf Z, Spiegelhalter B, Bartsch H, Owen RW (2003). Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *European journal of cancer prevention* 12(1): 67-75.
159. Kharroubi W, Dhibi M, Chreif I, Gérard L, Hammami M, Sakly R (2015). Differential alterations of lipid status and lipid metabolism, induction of oxidative stress by sodium arsenate in female rat's liver and kidney. *Biomed Environ Sci*. 28(11): 829-833.
160. Kocić R, Pavlović D, Kocić G (2007). Impact of intensive insulin treatment on the development and consequences of oxidative stress in insulin-dependent diabetes mellitus. *Vojnosanit Pregl*. 64 (9): 623-628.
161. Koechlin-Ramonatxo C (2006). Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 20: 165–177.

- 162.** Konopacka M (2004). Role of vitamin C in oxidative DNA damage. *Postepy Hig Med Dosw.* 58 : 343-348.
- 163.** Kontogianni MD, Vlassopoulos A, Gatzieva A, Farmaki AE, Katsiogiannis S, Panagiotakos DB, Kalogeropoulos N, Skopouli FN (2013). Flaxseed oil does not affect inflammatory markers and lipid profile compared to olive oil, in young, healthy, normal weight adults. *Metabolism.* 62(5): 686-693.
- 164.** Krause T, Lovibond K, Caulfield M, McCormack T, Williams B (2011). Management of hypertension: summary of NICE guidance. *BMJ.* 343: d4891.
- 165.** Kretowski A, Myśliwiec J, Szlachowska M, Kinalski M, Kinalska I (2000). Nicotinamide inhibits enhanced in vitro production of interleukin-12 and tumour necrosis factor-alpha in peripheral whole blood of people at high risk of developing type 1 diabetes and people with newly diagnosed type 1 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 47: 81-86.
- 166.** Kris-Etherton PM, Pearson TA, Wan Y, Hargrove RL, Moriarty K, Fishell V, Etherton TD. (1999). High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr.* 70(6): 1009-1015.
- 167.** Kumawat M, Sharma TK, Singh I, Singh N, Ghalaut VS, Vardey SK, Shankar V (2013). Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus patients with and without nephropathy. *N Am J Med Sci.* 5(3): 213-219.
- 168.** Lagarde M, Vericel E (2004). Effects et métabolismes spécifiques des acides gras ω 3. Oléagineux, Corps Gras, Lipides. 11: 55 - 57.
- 169.** Laight DW, Carrier MJ, Anggard EE (2000). Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction. *Cardiovasc Res.* 47 :457-464.
- 170.** Lappas M, Hiden U, Desoye G (2011). The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal.* 15: 3061–3100.
- 171.** Larsen LF, Jespersen J, Marckmann P (1999). Are olive oil diets antithrombotic ? Diets enriched with olive, rapeseed, or sunflower oil affect postprandial factor VII differently. *Am J Clin Nutr.* 70(6): 976-982.
- 172.** Lavie CJ, Milani RV, Mehra MR, Ventura HO (2009). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. *J Am Coll Cardiol.* 54: 585–594.
- 173.** Lawes CM, Vander Hoorn S, Rodgers A (2008). Global burden of blood-pressure-related disease. *Lancet.* 371: 1513-1518.

- 174.** Lee CYJ, Wan F (2000). Vitamin E supplementation improves cell-mediated immunity and oxidative stress of asian men and women. *J Nutr.* 130: 2932-2937.
- 175.** Lepargneur J-P, Abbal M (2012). Immunité innée et adaptative du tractus génital féminin. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction.* 41 : 612-622.
- 176.** Levine M, Rumsey SC, Daruwala R, Park JB, Wang Y (1999). Criteria and recommendations for Vitamin C intake. *JAMA.* 295(15) : 1415- 1423.
- 177.** Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 186: 464-478.
- 178.** Li M, Chen LQ, Qin JG, Li, E, Yu, N, Du, ZY, (2013). Growth performance, antioxidant status and immune response in darkbarbel catfish *Pelteobagrus vachelli* fed different PUFA/vitamin E dietary levels and exposed to high or low ammonia. *Aquaculture* 406 : 18–27.
- 179.** Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, et al (2012). A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010. *Lancet.* 380: 2224–2260.
- 180.** Lin CC, Huang HH, Hu CW, Chen BH, Chong IW, Chao YY, Huang YL (2014). Trace elements, oxidative stress and glycemic control in young people with type 1 diabetes mellitus. *J Trace Elem Med Biol.* (1): 18-22.
- 181.** Liu FQ, Zhang JR (2003). X-ray induced l02 cells damage rescued by new anti-oxidant NADH. *World Journal of Gastroenterology.* 9: 1781-1785.
- 182.** Lu Y, Liang XP, Jin M, Sun P, Ma HN, Yuan Y, Zhou QC (2016). Effects of dietary vitamin E on the growth performance, antioxidant status and innate immune response in juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture* 464 : 609–617.
- 183.** Lumeng CN, Saltiel AR (2011). Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation.* 121: 2111–2117.
- 184.** Mancia G, Laurent S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Burnier M, et al (2009). Reappraisal of European guidelines on hypertension management : a European Society of Hypertension Task Force document. *J Hypertens.* 27: 2121–2158.

185. Mandrup-Poulsen T, Spinas GA, Prowse SJ, Hansen, BS, Jorgensen DW, Bendtzen K, Nielsen J H, Nerup J (1987). Islet cytotoxicity of interleukin 1. Influence of culture conditions and islet donor characteristics. *Diabetes*. 36: 641-647.
186. Marti A, Marcos A, Martinez, JA (2001). Obesity and immune function relationships. *Obesity Reviews*. 2:131-140.
187. Masi LN, Martins AR, Rosa Neto JC, Do Amaral CL, Crisma AR, Vinolo MA, De Lima Júnior EA, Hirabara SM, Curi R (2012). Sunflower oil supplementation has proinflammatory effects and does not reverse insulin resistance in obesity induced by high-fat diet in C57BL/6Mice. *J Biomed Biotech*. 9.
188. Matarese G (2000). Leptin and the immune system: how nutritional status influences the immune response. *Eur Cytokine Netw*. 11: 7-14.
189. Matheus AS, Tibiriçá E, Da Silva PB, De Fátima Bevilacqua da Matta M, Gomes MB (2011). Uric acid levels are associated with microvascular endothelial dysfunction in patients with Type 1 diabetes. *Diabet Med*. 28(10): 1188-1193.
190. Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T (1999). Molecular mechanism of metabolic syndrome X: Contribution of adipocytokines adipocyte-derived bioactive substances. *Ann N Y Acad Sci*. 892: 146–54.
191. Matteucci E, Giampietro O (2000). Oxidative stress in families of type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*. (8): 1182-1186.
192. Mehers KL, Gillespie KM (2008). The genetic basis for type 1 diabetes. *Br Med Bull*. 88(1): 115-129.
193. Menendez J A, Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraros C, Garcia-Villalba R, Carrasco-Pancorbo A, Fernandez-Gutierrez A, Segura-Carretero A (2009). Extra-virgin olive oil polyphenols inhibit HER2 (erbB-2)-induced malignant transformation in human breast epithelial cells: Relationship between the chemical structures of extra-virgin olive oil secoiridoids and lignans and their inhibitory activities on the tyrosine kinase activity of HER2. *International Journal of Oncology*. 34 (1): 43-51.
194. Mensink RP, Katan MB (1992). Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb*. 12: 911-919.
195. Meraou A, Merzouk H, Saidi A, Medjdoub A, Merzouk SA, Belbraouet, S. (2016). Vitamins C, E, and NADH on in Vitro lymphocyte proliferation and redox status among obese patients. *Food and Nutrition Sciences*. 7: 1082-1098.

- 196.** Merzouk S, Hichami A, Sari A, Madani S, Merzouk H, YahiaBerrouiguet A, Lenoir-Rousseaux JJ, Chabane Sari N, Khan NA (2004). Impaired oxidant/antioxidant status and LDL-fatty acid composition are associated with increased susceptibility to peroxidation of LDL in diabetic patient. *Gen Physiol Biophys.* 23: 387-399.
- 197.** Merzouk SA, Saker M, Briksi Reguig K, Soulimane N, Merzouk H, Guermouche B, Yahia Berrouiguet A, Hichami A, Narce M, Khan NA (2008). N-3 Polyunsaturated fatty acids modulate in-vitro T cell function in type I diabetic patients. *Lipids.* 43: 485–497.
- 198.** Meziane RK, Merzouk H, Saker M, Baba Ahmed S, Narce M (2014). Effets des acides gras sur la prolifération lymphocytaire, la production d’interleukines, et le statut oxydant dans un groupe d’enfants obèses algériens *Lebanese Science Journal.* 15(1): 1-15.
- 199.** Mezouar D, Merzouk H, Saidi Merzouk A, Merzouk SA, Belarbi B, Narce M (2016). In vitro effects of vitamins C and E, n-3 and n-6 PUFA and n-9 MUFA on placental cell function and redox status in type 1 diabetic pregnant women. *Placenta.* 42: 114-121
- 200.** Migliozi JA (1977). Effect of ascorbic acid on tumour growth. *British Journal of Cancer.* 35 (4): 448–453.
- 201.** Mishra N, Singh N (2013). Blood Viscosity, lipid profile, and lipidperoxidation in type-1 diabetic patients with good and poor glycemic control. *N Am J Med Sci.* 5(9): 562–566.
- 202.** Mito N, Hosoda T, Kato C, Sato K (2000). Change of cytokine balance in diet-induced obese mice. *Metabolism.* 49(10): 1295-1300.
- 203.** Miyazaki A, Hanafusa T, Yamada K, Miyagawa J, Fujino-Kurihara H, Nakajima H, Nonaka K, Tarui S (1985). Predominance of T lymphocytes in pancreatic islets and spleen of pre-diabetic non-obese diabetic (NOD) mice: a longitudinal study. *Clin Exp Immunol.* 60: 622-30.
- 204.** Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppel SW (1997). Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 4196–4200.
- 205.** Moinard C (2006). Immunomodulation par les nutriments. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* 20: 79–84.
- 206.** Molina N, Morandi AC, Bolin AP, Otton R (2014). Comparative effect of fucoxanthin and vitamin c on oxidative and functional parameters of human lymphocytes. *International Immunopharmacology.* 22: 41-50.

207. Monnier L, Colette C (2010). Diabétologie: diabète et grossesse. Elsevier Masson. 404: 305-310.
208. Mortensen RF, Zhong W (2000). Regulation of phagocytic leukocyte activities by C-reactive protein. *Journal of Leukocyte Biology*. 4(67) : 495–500.
209. Mosmann T (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 65: 55-63.
210. Moussa M, Tkaczuk J, Ragab J, Garcia J, Abbal M, Ohayon E, Ghisolfi J, Thouyenot JP (2000). Relationship between the fatty acid composition of rat lymphocytes and immune functions. *Br J Nutr*. 83:327-333.
211. Myatt L , Cui X (2004). Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol*. 122 (4): 369-382.
212. National Research Council (NRC) (2011). Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. The National Academy Press, Washington, DC, USA.
213. Neill DR, Wong SH, Bellosi A, Flynn RJ, Daly M, Langford TK, Bucks C, Kane CM, Fallon PG, Pannell R, Jolin HE, McKenzie AN (2010) Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type- 2 immunity. *Nature*. 464: 1367–1370.
214. Nieman DC, Henson DA, Nehlsen-Cannarella SL Ekkens M, Utter AC, Butterworth DE, Fagoaga OR (1999). Influence of obesity on immune function. *J Am Diet Assoc*. 99: 294-299.
215. Noeman SA, Hamooda HE, Baalash AA (2011). Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 3: 17- 25.
216. Olek RA, Ziolkowski W, Kaczor JJ, Greci L, Popinigis J, Antosiewicz J (2004). antioxidant activity of NADH and its analogue - an in vitro study. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 4(37) : 416-421.
217. Olusi SO (2002). Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26: 1159–1164.
218. OMS (2013). Statistiques sanitaires mondiales. Rapport sur la santé dans le monde. 24p.
219. OMS (2016). Rapport mondial sur le diabète. Résumé d'orientation. 24p.

- 220.** O'Reilly LA, Hutchings PR, Crocker P R, Simpson E, Lund T, Kioussis D, Takei F, Baird J, Cooke A (1991). Characterization of pancreatic islet cell infiltrates in NOD mice: effect of cell transfer and transgene expression. *Eur J Immunol.* 21: 1171-1180.
- 221.** O'Rourke RW, Kay T, Scholz MH, Diggs B, Jobe BA, Lewinsohn DM, Bakke AC (2005). Alterations in T-cell subset frequency in peripheral blood in obesity. *Obes Surg.* 15: 1463-1468.
- 222.** Orsi-Llinares F (2005). La nigelle, une épice d'intérêt médicinal, Thèse, Faculté de pharmacie de Grenoble. 174 p.
- 223.** Padwal R, Straus SE, McAlister FA (2001). Evidence based management of hypertension. Cardiovascular risk factors and their effects on the decision to treat hypertension: evidence based review. *BMJ.* 322: 977-80.
- 224.** Palaga T, Kataoka T, Nagai K (2004). Extracellular ATP inhibits apoptosis and maintains cell viability by inducing autocrine production of interleukin-4 in a myeloid progenitor cell line. *Int immunopharmacology.* 4: 953-961.
- 225.** Park HJ, Park JS, Hayek MG, Reinhart GA, Chew BP (2011). Dietary fish oil and flaxseed oil suppress inflammation and immunity in cats. *Vet Immunol Immunopathol.* 141 (3-4): 301-306.
- 226.** Pasceri V, Willerson JT, Yeh ETH (2000). Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation.* 18(22) : 2165-2168.
- 227.** Paschos GK, Yiannakouris N, Rallidis LS, Davies I, Griffin BA (2005). Apolipoprotein E genotype in dyslipidemic patients and response of blood lipids and inflammatory markers to alpha-linolenic acid. *Angiology.* 56 : 49-60.
- 228.** Patel PS, Buras ED, Balasubramanyam A (2013). The Role of the Immune System in Obesity and Insulin Resistance. *J obesity.* 1-9.
- 229.** Perkins AJ, Hendrie HC, Callahan CM, Gao S, Unverzagt FW, Xu Y, Hall KS, Hui SL (1999). Association of antioxidants with memory in a multiethnic elderly sample using the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol.* 150: 37-44.
- 230.** Pickup JC, Chusney GD, Thomas SM, Burt D (2000). Plasma interleukin-6, tumor necrosis factor alpha and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life Sci.* 67: 291-300.
- 231.** Pipek R, Dankner G, Ben-Amotz A, Aviram M, Levy Y (1996). Increased plasma oxidizability in participants with severe obesity. *J Nutr Environ Med* 6: 267-272.

- 232.** Pollak N, Dolle C, Ziegler M (2007). The power to reduce: pyridine nucleotides small molecules with a multitude of functions. *Biochem J.* 402: 205–218.
- 233.** Prasad K (1997). Dietary flax seed in prevention of hypercholesterolemic atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 7-11. 132(1): 69-76.
- 234.** Prasad K (2005). Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of flax lignan complex isolated from flaxseed. *Atherosclerosis.* 179(2): 269-275.
- 235.** Quiles JL, Ramirez-Tortosa MC, Gómez JA, Huertas JR, Mataix J (2002). Role of vitamin E and phenolic compounds in the antioxidant capacity, measured by ESR, of virgin olive, olive and sunflower oils after frying. *Food Chemistry.* 76: 461-468.
- 236.** Redon J, Oliva MR, Tormos C, Giner V, Chaves J, Iradi A, Sáez GT (2003). Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension.* 41 : 1096-1101.
- 237.** Remla N, Hadjidj Z, Ghezzaz K, Moulessehoul S, Aribi M (2016). Increased gustatory response score in obesity and association levels with IL-6 and leptin. *Journal of Nutrition and Metabolism.* 9p.
- 238.** Renaud A (2003). Fer, vitamine C et acide folique : convergence sanguine. *Journal de pédiatrie et de puériculture.* 16 : 281–283.
- 239.** Reviriego J, Vázquez LA, Goday A, Cabrera M, García-Margallo MT, Calvo E (2016). Prevalence of impaired fasting glucose and type 1 and 2 diabetes mellitus in a large nationwide working population in Spain. *Endocrinol Nutr.* 63(4): 157-163.
- 240.** Rigoulet M, Yoboue ED, Devin A (2011). Mitochondrial ROS generation and its regulation: mechanisms involved in H₂O₂ signaling. *Antioxid Redox Signal* 14: 459–468.
- 241.** Roestenberg P, van Nieuwenhoven FA, Wieten L, Boer P, Diekman T, Tiller AM, Wiersinga WM, Oliver N, Usinger W, Weitz S, Schlingemann RO, Goldschmeding R (2004). Connective tissue growth factor is increased in plasma of type 1 diabetic patients with nephropathy. *Diabetes Care.* 27(5): 1164-1170.
- 242.** Rozati M, Barnett J, Wu D, Handelman G, Saltzman E, Wilson T, Li L, Wang J, Marcos A, Ordovás JM, Lee YC, Meydani M, Meydani SN (2015). Cardio-metabolic and immunological impacts of extra virgin olive oil consumption in overweight and obese older adults: a randomized controlled trial. *Nutrition & Metabolism.* 12-28.

- 243.** Sacks FM, Katan M (2002). Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *Am J Med.* 30 (113) : 13-24.
- 244.** Saidi A, Baba-Ahmed FZ, Merzouk H, Bouanane S, Derouiche S, Merzouk SA (2016). Effect of linseed oil on oxidative stress parameters and lipid profile in offspring of obese rats. *J Phys Pharm Adv.* 6(4): 860-867.
- 245.** Salazar DE, Sorge CL, Jordan SW, Corcoran GB (1994). Obesity decreases hepatic glutathione concentrations and markedly potentiates allyl alcohol-induced periportal necrosis in the overfed rat. *Int J Obes.* 18: 25–33.
- 246.** Salem ML (2005). Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol.* 5(13-14): 1749-1770.
- 247.** Samina B, Ali S, Khan F (2015). Partial reversal of obesity-induced insulin resistance owing to anti-inflammatory immunomodulatory potential of Flaxseed oil. *Immunol Invest.* 44: 451–469.
- 248.** Sanchez-Zauco N, Del Rio-Navarro B, Gallardo-Casas C, Del Rio-Chivardi J, Muriel-Vizcaino R, Rivera-Pazos C, Huerta-Yepez S, Cruz-Lopez M (2014). High expression of toll-like receptors 2 and 9 and Th1/Th2 cytokines profile in obese asthmatic children. *Allergy and Asthma Proceedings.* 35: 34-41.
- 249.** Sebei K, Boukhchina S, Kallel H (2007). Évolution des tocophérols en relation avec les acides gras insaturés au cours de la maturation des graines de colza de printemps (*Brassica napus* L.). *C R Biologies.* 330 : 55–61.
- 250.** Sekli-belaidi F (2011). Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3,4- éthylène dioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. France. l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. 212p.
- 251.** Serafini M (2000). Dietary Vitamin E and T cell-mediated function in the elderly: effectiveness and mechanism of action. *International Journal of Developmental Neuroscience.* 18 : 401-410.
- 252.** Sergent O, Griffon B, Cillard P, Cillard J (2000). Alcool et stress oxydatif. *Pathol Biol.* 49: 689-695.
- 253.** Shaer EK, Soliman SA, El-Ghareeb AA (2014). Obesity and follicular fluid oxidative stress: relationship to ICSI outcome. *Middle East Fertility Society Journal.* 19: 139-143.

- 254.** Shahzad M, Yang X, Raza-Asim MB, Sun Q, Han Y, Zhang F, Cao Y, Lu S (2009). Black seed oil ameliorates allergic airway inflammation by inhibiting T-cell proliferation in rats. *Pulm Pharmacol Ther.* 22(1): 37-43.
- 255.** Shaik-Dasthagirisaheb YB, Varvara G, Murmura G, Saggini A, Caraffa A, Antinolfi P, Tete S, Tripodi D, Conti F, Cianchetti E, Toniato E, Rosati M, Speranza L, Pantalone A, Saggini R, Tei M, Speziali A, Conti P, Theoharides TC, Pandolfi F (2013). Role of vitamins D, E and C in immunity and inflammation. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents.* 27 : 291-295.
- 256.** Shalini AN, Rajamohan T (2012). Age dependent variation in the antioxidant status and oxidative stress in rats fed diet containing coconut oil and sunflower oil. *Int J Biol Med Res.* 3(2) : 1589-1594.
- 257.** Shao J, Nangaku M, Miyata T, Inagi R, Yamada K, Kurokawa K, Fujita T (2003). Imbalance of T-cell subsets in angiotensin II-infused hypertensive rats with kidney injury. *Hypertension.* 42: 31-38.
- 258.** Sharma AM, Kushner RF (2009). A proposed clinical staging system for obesity. *Int J Obes.* 33: 289–295.
- 259.** Siegel G, Ermilov E (2012). Omega–3 fatty acids: benefits for cardio-cerebro-vascular diseases. *Atherosclerosis.* 225: 291–295.
- 260.** Singh MV, Chapleau MW, Harwani, SC, Abboud FM (2014). The immune system and hypertension. *Immunol Res.* 59: 243–253.
- 261.** Spiegelman BM, Flier JS (2001). Obesity and the regulation of energy balance. *Cell.* 104: 531–43.
- 262.** Stambouli-Guerriche AB, Mokhtari-Soulimane N, Merzouk H, Merzouk S, Bendedouche AS (2015). Elevation of oxidative stress markers in Type 1 diabetic children. *Diabetes and endocrinology.* 6(2) : 5-11.
- 263.** Stark AH, Madar Z (2002). Olive oil as a functional food: epidemiology and nutritional approaches. *Nutr Rev.* 60 (6): 170-176.
- 264.** Stolarz-Skrzypek K, Kuznetsova T, Thijs L, Tikhonoff V, Seidlerova J, Richart T, Jin Y, Olszanecka A, Malyutina S, Casiglia E, Filipovský J, Kawecka-Jaszcz K, Nikitin Y, Staessen JA (2011). Fatal and nonfatal outcomes, incidence of hypertension, and blood pressure changes in relation to urinary sodium excretion. *JAMA.* 305: 1777–1785.

- 265.** Strauss RS (1999). Comparison of serum concentrations of alpha tocopherol and beta-carotene in a cross-sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). National Health and Nutrition Examination Survey. *J Pediatr.* 134: 160–165.
- 266.** Strazzullo P, D’Elia L, Kandala NB, Cappuccio FP (2009). Salt intake, stroke, and cardiovascular disease : meta-analysis of prospective studies. *BMJ.* 339 : b4567.
- 267.** Stulnig TM (2003). Immunomodulation by polyunsaturated fatty acids: mechanisms and effects. *Int Arch Allergy Immunol.* 132: 310–321.
- 268.** Stumpf C, Jukic J, Yilmaz A, Raaz D, Schmieder RE, Daniel WG, Garlich CD (2009). Elevated VEGF-plasma levels in young patients with mild essential hypertension. *European Journal of Clinical Investigation.* 1(39) : 31– 36.
- 269.** Staveling EM, Bakker SJL, Hillege HL, Burgerhof JGM, de Jong PE, Gans ROB, De Zeeuw D (2004). C-reactive protein modifies the relationship between blood pressure and microalbuminuria. *Hypertension.* 4(43) : 791–796.
- 270.** Suboh SM, Bilto YY, Aburjai TA (2004). Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytother Res.* 18 : 280–284.
- 271.** Sung KC, Suh JY, Kim BS, Kang JH, Kim H, Lee MH, Park JR, Kim SW (2003). High sensitivity C-reactive protein as an independent risk factor for essential hypertension. *American Journal of Hypertension.* 6(16) : 429–433.
- 272.** Switzera KC, Mc-Murray DN, Chapkin, RS (2004). Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on T-Cell membrane composition and function. *Lipids.* 39: 1163-1170.
- 273.** Talbi H, Boumaza A, El-mostafa K, Talbi J, Hilali A (2015). Evaluation de l’activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Mater Environ Sci.* 6 (4) : 1111-1117.
- 274.** Tanaka S, Inoue S, Isoda F (1993). Impaired immunity in obesity: suppressed but reversible lymphocyte responsiveness. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders.* 17: 631-636.
- 275.** Tisch R, McDevitt H (1996). Insulin-dependent diabetes mellitus. *85(3) : 291-297.*
- 276.** Todd J A, (1997). Genetics of type 1 diabetes. *Pathol Biol.* 45: 219-227.

- 277.** Toussiro E (2012). The IL23/Th 17 pathway as a therapeutic target in chronic inflammatory diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 11(2): 159–168.
- 278.** Tran LT, MacLeod KM, McNeill JH (2009). Chronic etanercept treatment prevents the development of hypertension in fructose-fed rats. *Mol Cell Biochem*. 330 : 219-228.
- 279.** Tsao CH, Shiau MY, Chuang PH, Chang YH, Hwang J (2014). Interleukin-4 regulates lipid metabolism by inhibiting adipogenesis and promoting lipolysis. *Journal Lipid Research*. 55: 385-397.
- 280.** Ubetagoyena AM, Areses TR, Aizalde AE, Muñiz CV, Lizarraga AD (2013). Renal function and blood pressure in type 1 diabetes mellitus. *An Pediatr (Barc)*. 78(2): 104-108.
- 281.** Ukoh VA, Oforofuo IA (2007). Plasma lipid profiles in Nigerians with normal blood pressure, hypertension and other acquired cardiac conditions. *East Afr Med J*. 84:264-270.
- 282.** USDA (United States Department of Agriculture): National Nutrient Database for Standard Reference. (2016). 28p.
- 283.** V´asquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Mart´asek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H, Tordo P, Pritchard KA Jr (1998). Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase : the influence of cofactors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 16(95) 9220– 9225.
- 284.** Van de Pouw-Kraan T, de Jong R, Arden L (1993). Development of human Th1 and Th2 cytokine responses : the cytokine production profile of T cells is dictated by the primary in vitro stimulus. *Eur J Immunol*. 23 : 1–5.
- 285.** Van Heuven-Nolsen D, De Kimpe SJ, Muis T, Van Ark I, Savelkoul H, Beems RB, Van Oosterhout AJ, Nijkamp FP (1999). Opposite role of interferon-gamma and interleukin-4 on the regulation of blood pressure in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 254(3): 816-820.
- 286.** Vasdev S, Stuckless J, Richardson V (2011). Role of the immune system in hypertension: modulation by dietary antioxidants. *Int J Angiol*. 20(4): 189-212
- 287.** Vatier C, Poitou C, Clément K (2014). Evaluation of visceral fat in massive obesity. In : Watson RR, editor. *Nutrition in the prevention and treatment of abdominal obesity*. Elsevier. 68–73.
- 288.** Vaziri ND (2008). Causal link between oxidative stress, inflammation, and hypertension. *Iran J Kidney Dis*. 2(2): 1-10.

- 289.** Venegas-Pont M, Manigrasso MB, Grifoni SC, LaMarca BB, Maric C, Racusen LC, Glover PH, Jones AV, Drummond HA, Ryan MJ (2010). Tumor necrosis factor- α antagonist etanercept decreases blood pressure and protects the kidney in a mouse model of systemic lupus erythematosus. *Hypertension* 56: 643-649.
- 290.** Venkatraman JT, Leddy J, Pendergast D (2000). Dietary fats and immune status in athletes : clinical implications. *Med Sci Sports Exerc.* 32(7): 389-395.
- 291.** Vertuani S, Angusti A, Manfredini S (2004). the antioxidants and pro-oxidants network: an overview. *Curr Pharm Des.* 10: 1677-1694.
- 292.** Violi F, Basili S, Nigro C, Pignatelli P (2009). Role of NADPH oxidase in atherosclerosis. *Future Cardiol.* 5: 83–92.
- 293.** Viroonudomphol D, Pongpaew P, Tungtrongchitr R, Phonrat B, Supawan V, Vudhivai N, Schelp FP (2000). Erythrocyte antioxidant enzymes and blood pressure in relation to overweight and obese thai in bangkok. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health.* 31 : 325-334.
- 294.** Wang MZ, Ding LY, Wang JF, Wang HR, Yu LH (2011). Effects of n-6:n-3 polyunsaturated fatty acid ratio on heterophil: lymphocyte ratio and T lymphocyte subsets in the peripheral blood of the yangzhou gosling. *Poult Sci.* 90(4): 824-829.
- 295.** Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H (2004). Global prevalence of diabetes : estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 27: 1047-1053.
- 296.** Wintergerst, ES, Maggini, S, Hornig, DH (2007). Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. *Annals of Nutrition and Metabolism.* 51 : 301-323.
- 297.** Wiseman H, Halliwell B (1996). Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J.* 313 (1): 17-29.
- 298.** Xu T, Ju Z, Tong W, Hu W, Liu Y, Zhao L, Zhang Y (2008). Relationship of C-reactive protein with hypertension and interactions between increased C-reactive protein and other risk factors on hypertension in Mongolian people, China. *Circulation Journal.* 8(72) 1324–1328.
- 299.** Yang W, Fu J, Yu M, Huang Q, Wang D, Xu J, Deng Q, Yao P, Huang F, Liu L (2012). Effects of flaxseed oil on anti-oxidative system and membrane deformation of human peripheral blood erythrocytes in high glucose level. *Lipids Health Dis.* 11: 88–98.
- 300.** Yang Z, Chen M, Ellett JD, Fialkow LB, Carter JD, McDuffie M, Nadler JL (2004). Autoimmune diabetes is blocked in Stat4-deficient mice. *J Autoimmun.* 22: 191-200.

301. Yap DY, Lai KN (2013). The role of cytokines in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus - from bench to bedside. *Nephrology*.18(4): 243–255.
302. Yaqoob P (1998). Monounsaturated fats and immune function. *Braz J Med Biol Res*. 31: 453-465.
303. Yasir HS, Tanveer B, Afzal M (2009). Protective effect of ascorbic acid against oxidative damage induced by hydrogen peroxide in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 24 : 294-300.
304. Ying W(2008). NAD/NADH and NADP/NADPH in cellular functions and cell death : regulation and biological consequences. *Antioxidants & redox signaling*. 2(10) : 179-206.
305. Zhou QC, Wang LG, Wang HL, Wang T, Elmada CZ, Xie FJ (2013). Dietary vitamin E could improve growth performance, lipid peroxidation and non-specific immune responses for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquac Nutr*. 19 (3): 421–429.
306. Zhu C, Yang H, Geng Q, Ma Q, Long Y, Zhou C, Chen M (2015). Association of oxidative stress biomarkers with gestational diabetes mellitus in pregnant women: A Case-Control Study. *PLoS One*. 10(4).
307. Zuccarella-Hackl C, von Känel R, Thomas L, Hauser M, Kuebler U, Widmer HR, Wirtz PH (2016). Macrophage superoxide anion production in essential hypertension : associations with biological and psychological cardiovascular risk factors. *Psychosom Med*. 78(6) : 750-757.
308. Zulfiqar AA, Martin-Kleisch A, El Adli A, Andres E, Vogel T, Kadri N, Doucet J (2016). Carence en vitamine C : y penser chez le sujet âgé fragile. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 2(30): 198–200.

ANNEXES

Consentement

Je soussignée,

Madame/Monsieur.....a

Après avoir pris connaissance des objectifs et des méthodologies relatifs au projet intitulé : Effets des vitamines (C, E) du NADH et des acides gras sur la prolifération lymphocytaire, la sécrétion des cytokines et le statut redox chez les patients atteints de maladies métaboliques, Sous la responsabilité de Mlle MERAOU Asmaa, Doctorante à l'université de Sidi Bel Abbés, en collaboration avec le laboratoire de biotoxicologie, le Service d'endocrinologie et médecine interne du CHU de Tlemcen, et le laboratoire de Recherche «Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition sous la direction du Pr. Merzouk Hafida (Université de Tlemcen, Algérie).

J'accepte de participer à ce projet, en répondant aux différents questionnaires et en fournissant un prélèvement sanguin.

Signature

Tableau A 1. Paramètres plasmatiques biochimiques chez la population étudiée

Paramètres	Témoins	Diabète Type 1	Diabète Type 2	HTA	Obésité
Glucose (mmol/L)	4,88±0,22	6,94±0,28*	7,35±0,24*	4,72±0,25	6,73±0,21*
TG (mmol/L)	1,22±0,13	1,78±0,18*	2,75±0,33**	2,53±0,18**	1,82±0,17*
CT (mmol/L)	4,68±0,35	5,78±0,24*	6,91±0,37**	5,54±0,23*	5,43±0,35*
Urée (mmol/L)	5,22±0,38	5,30±0,40	5,28±0,37	8,34±0,42*	5,11±0,21
Créatinine (μmol/L)	82,50±2,07	80,55±2,48	83,59±3,11	150±3,43*	81,89±2,42

Chaque valeur représente le nombre ou la moyenne ± Ecart type. HTA : hypertension artérielle ; CT : cholestérol total ; TG : triglycérides. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de student:

* P < 0,05; ** P < 0,01.

Tableau A 2. Marqueurs érythrocytaires du statut oxydant/antioxydant

Paramètres	Témoins	Diabète Type 1	Diabète Type 2	HTA	Obésité
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	4,25 \pm 0,30	14,61 \pm 1,71*	17,81 \pm 1,53**	14,51 \pm 1,54*	13,17 \pm 1,54*
P-CAR ($\mu\text{mol/gHb}$)	2,67 \pm 0,22	4,66 \pm 0,59**	5,94 \pm 0,24**	3,94 \pm 0,39*	6,16 \pm 0,43**
GSH ($\mu\text{mol/L}$)	2,25 \pm 0,24	1,49 \pm 0,33*	1,52 \pm 0,21*	1,53 \pm 0,23*	1,44 \pm 0,18*
CAT (U/gHb)	53,78 \pm 3,67	49,12 \pm 3,24	85,87 \pm 2,55**	37,64 \pm 2,44**	30,63 \pm 2,93**

Chaque valeur représente le nombre ou la moyenne \pm Ecart type. CAT : catalase ; HTA : hypertension artérielle ; GSH : glutathion réduit ; MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre patients et témoins est effectuée par le test « t » de student:

* P < 0,05 ; ** P < 0,01.

Tableau A 3. Indice de prolifération (IP) des lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.

incubations	témoins	Diabète type1	Diabète type2	HTA	Obésité
ConA	212,33±18,25 ^b	182,88±11,44 ^{*b}	201,83±14,22 ^b	201,34±18,41 ^b	205,28±15,92 ^c
ConA + VitC	227,48±14,09 ^b	237,04±16,13 ^a	217,93±18,54 ^b	203,32±15,35 ^b	346,74±23,18 ^{**a}
ConA + VitE	253,36±19,83 ^a	246,95±12,32 ^a	243,50±12,86 ^a	257,70±16,22 ^a	262,39±21,40 ^b
ConA+NADH	229,33±12,65 ^b	257,67±13,06 ^{*a}	205,78±13,22 ^b	208,47±12,59 ^b	268,18±11,79 ^{*b}
ConA + HO	222,30±11,30 ^b	186,88±12,76 ^{*b}	207,48±19,18 ^b	184,93±14,17 ^{*b}	198,97±15,16 ^c
ConA + HL	180,01±12,07 ^c	198,80±13,97 ^b	208,17±12,11 ^b	193,40±10,98 ^b	168,86±19,37 ^d
ConA + HN	260,23±11,18 ^a	265,39±26,60 ^a	248,63±16,75 ^a	272,37±12,98 ^a	254,08±11,39 ^b
ConA + HT	195,56±13,51 ^b	186,14±21,95 ^b	203,54±17,48 ^b	202,50±15,91 ^b	206,73±17,40 ^c
P (ANOVA)	0,001	0,007	0,008	0,007	0,001

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau A 4. Sécrétion de l'interleukine 2 (IL-2) par les lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.

IL-2 (Pg/mL)	Témoins	Diabète type1	Diabète type2	HTA	Obésité
ConA	2248,43±45 ^b	1563,76±47 ^{**d}	2215,33±89 ^b	2232±77 ^b	2223,39±84 ^c
ConA + VitC	2259,58±76 ^b	2238,51±96 ^c	2224,55±78 ^b	2236±89 ^b	3548,79±65 ^{**a}
ConA + VitE	2649,08±85 ^a	2586±91 ^b	2584,80±78 ^a	2575±64 ^a	2663,83±96 ^b
ConA+NADH	2252,65±68 ^b	2851±72 ^{**a}	2224,26±70 ^b	2216±63 ^b	2773±44 ^{*b}
ConA + HO	2316,49±86 ^b	1604±35 ^{**d}	2305±50 ^b	1822,86±85 ^{*c}	2246±67 ^c
ConA + HL	1606±56 ^c	1612±77 ^d	1636±76 ^c	1647±64 ^d	1645±4,97 ^d
ConA + HN	2706,18±72 ^a	2734±92 ^a	2698±82 ^a	2687±88 ^a	2704±78 ^b
ConA + HT	2182,94±44 ^b	1580,67±89 ^d	2123±63 ^{*b}	2108±64 ^{*b}	2205±103 ^{*c}
P (ANOVA)	0,004	0,001	0,005	0,006	0,004

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau A 5. Sécrétion de l'interleukine 4 (IL-4) par les lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.

IL-4 (Pg/mL)	témoins	Diabète type1	Diabète type2	HTA	Obésité
ConA	58,29±4,59 ^a	56,66±3,14 ^b	62,62±3,21 ^b	60,75±4,09 ^b	31,02±2,66 ^{**c}
ConA + VitC	60,52±3,31 ^a	70,28±2,42 ^{*a}	61,19±1,55 ^b	61,96±1,78 ^b	45,65±1,05 ^{*b}
ConA + VitE	62,87±2,22 ^a	68,69±1,33 ^{*a}	70,74±1,35 ^{*a}	70,93±1,45 ^{*a}	50,61±1,02 ^{*a}
ConA + NADH	60,44±2,56 ^a	67,61±2,74 ^{*a}	63,54±1,72 ^b	61,67±1,35 ^b	48,26±1,04 ^{**a}
ConA + HO	59,91±2,92 ^a	57,40±2,87 ^b	60,00±3,50 ^b	60,79±1,22 ^b	35,43±2,09 ^{*c}
ConA + HL	58,92±2,77 ^a	56,77±2,49 ^b	59,99±3,03 ^b	60,77±1,71 ^b	30,19±2,05 ^{**c}
ConA + HN	59,39±2,11 ^a	56,28±2,65 ^b	71,06±1,04 ^{**a}	70,32±1,74 ^{**a}	50,01±1,05 ^{*a}
ConA + HT	48,89±3,15 ^b	47,25±2,36 ^c	50,10±2,09 ^c	51,01±1,26 ^c	30,17±1,14 ^{**c}
P (ANOVA)	0,04	0,008	0,006	0,005	0,006

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau A 6. Sécrétion de l'interféron gamma (INF- γ) par les lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.

INF- γ (Pg/mL)	témoins	Diabète type1	Diabète type2	HTA	Obésité
ConA	454 \pm 30,96 ^b	324 \pm 26,38 ^{**c}	333,46 \pm 30 ^{**b}	310 \pm 32,81 ^{**b}	268,42 \pm 36 ^{**c}
ConA + VitC	471,57 \pm 35,17 ^b	389,88 \pm 34 ^{*b}	358 \pm 32,26 ^{*b}	274,25 \pm 33 ^{**c}	393,42 \pm 39 ^{*b}
ConA + VitE	599 \pm 37,25 ^a	476 \pm 38 ^{*a}	458,97 \pm 37 ^{*a}	358 \pm 36 ^{**b}	441,63 \pm 38 ^{*a}
ConA+NADH	466,92 \pm 49,99 ^b	487 \pm 38 ^a	487,82 \pm 35 ^a	458 \pm 36 ^a	468,34 \pm 33,39 ^a
ConA + HO	455,61 \pm 48,31 ^b	278 \pm 23 ^{**d}	275,12 \pm 22 ^{**c}	284,65 \pm 30 ^{**c}	270,48 \pm 27 ^{**c}
ConA + HL	318,47 \pm 32,19 ^c	308 \pm 30,01 ^c	298,65 \pm 46 ^c	280 \pm 44 ^c	276,31 \pm 38 ^c
ConA + HN	565,38 \pm 36,12 ^a	475,64 \pm 30 ^{*a}	422,94 \pm 42 ^{*a}	410,44 \pm 31 ^{*a}	457,46 \pm 33 ^{*a}
ConA + HT	460,97 \pm 20,54 ^b	310,48 \pm 44 ^{*c}	298,14 \pm 38 ^{*c}	301,39 \pm 29 ^{*b}	284,25 \pm 31 ^{*c}
P (ANOVA)	0,008	0,004	0,006	0,008	0,007

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau A 7. Rapports TH1/TH2 (INF γ /IL-4) en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.

INF γ /IL-4	témoins	Diabète type1	Diabète type2	HTA	Obésité
ConA	7,82 \pm 0,58 ^b	5,71 \pm 0,65 ^c	5,52 \pm 0,63 ^b	5,14 \pm 0,72 ^b	8,62 \pm 0,66 ^b
ConA + VitC	7,88 \pm 0,69 ^b	5,54 \pm 1,40 ^c	5,85 \pm 0,90 ^b	4,42 \pm 0,83 ^{*c}	8,54 \pm 0,68 ^b
ConA + VitE	9,56 \pm 0,63 ^a	6,92 \pm 0,55 ^{*b}	6,48 \pm 0,70 ^{*a}	5,04 \pm 0,72 ^{*b}	8,62 \pm 0,44 ^b
ConA + NADH	7,72 \pm 0,55 ^b	7,20 \pm 0,58 ^a	7,67 \pm 0,54 ^a	7,42 \pm 1,66 ^a	9,76 \pm 0,59 ^a
ConA + HO	7,60 \pm 1,13 ^b	4,84 \pm 0,64 ^{*d}	4,58 \pm 0,62 ^{*c}	4,68 \pm 0,79 ^{*c}	7,63 \pm 1,29 ^b
ConA + HL	5,40 \pm 1,16 ^c	5,42 \pm 0,60 ^c	4,97 \pm 0,81 ^c	4,60 \pm 0,73 ^c	9,15 \pm 1,53 ^{*b}
ConA + HN	9,51 \pm 1,51 ^a	8,45 \pm 1,13 ^a	5,95 \pm 0,78 ^{*b}	5,83 \pm 0,81 ^{*b}	9,14 \pm 1,42 ^b
ConA + HT	9,42 \pm 0,65 ^a	6,57 \pm 0,56 ^{*b}	5,95 \pm 0,56 ^{*b}	5,90 \pm 1,01 ^{*b}	9,42 \pm 1,18 ^b
P (ANOVA)	0,004	0,005	0,007	0,006	0,008

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01. Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau A 8. Marqueurs du statut oxydant des lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.

Incubations	témoins	Diabète type1	Diabète type2	HTA	Obésité
MDA (nM/10⁶ cell)					
ConA	1,22±0,13	2,27±0,15 ^{*a}	3,09±0,23 ^{***a}	2,17±0,14 ^{*a}	2,82±0,20 ^{***a}
ConA + VitC	1,17±0,15	1,28±0,21 ^c	1,31±0,24 ^c	1,25±0,27 ^c	1,38±0,23 ^c
ConA + VitE	1,25±0,12	1,29±0,12 ^c	1,48±0,21 ^c	1,30±0,16 ^c	1,40±0,26 ^c
ConA + NADH	1,18±0,15	1,84±0,19 ^{*b}	2,15±0,16 ^{*b}	1,75±0,13 ^{*b}	2,25±0,17 ^{*b}
ConA + HO	1,15±0,13	1,30±0,21 ^c	1,37±0,22 ^c	1,22±0,15 ^c	1,20±0,24 ^c
ConA + HL	1,13±0,12	1,29±0,17 ^c	1,14±0,12 ^c	1,18±0,14 ^c	1,26±0,23 ^c
ConA + HN	1,08±0,15	1,23±0,26 ^c	1,28±0,23 ^c	1,18±0,13 ^c	1,20±0,19 ^c
ConA + HT	1,10±0,14	2,22±0,16 ^{*a}	3,08±0,13 ^{***a}	2,15±0,14 ^{*a}	2,72±0,19 ^{***a}
P (ANOVA)	0,124	0,008	0,005	0,007	0,006
P-CAR (nM/10⁶ cell)					
ConA	1,58±0,20	3,75±0,22 ^{***a}	3,47±0,24 ^{***a}	3,70±0,33 ^{***a}	2,94±0,23 ^{***a}
ConA + VitC	1,27±0,31	2,44±0,28 ^{*c}	2,53±0,15 ^{*c}	2,32±0,14 ^{*c}	1,96±0,17 ^{*c}
ConA + VitE	1,32±0,33	1,46±0,14 ^d	1,37±0,11 ^d	1,57±0,31 ^d	1,31±0,15 ^d
ConA + NADH	1,42±0,33	3,09±0,13 ^{***b}	2,82±0,10 ^{***b}	2,97±0,17 ^{***b}	2,14±0,19 ^{*b}
ConA + HO	1,56±0,29	3,66±0,23 ^{***a}	3,21±0,33 ^{***a}	3,58±0,27 ^{***a}	2,72±0,24 ^{***a}
ConA + HL	1,46±0,30	2,56±0,28 ^{*c}	2,41±0,21 ^{*c}	2,30±0,25 ^{*c}	1,88±0,20 ^{*c}
ConA + HN	1,33±0,23	2,34±0,32 ^{*c}	2,57±0,24 ^{*c}	2,52±0,20 ^{*c}	1,89±0,26 ^{*c}
ConA + HT	1,63±0,35	3,74±0,21 ^{***a}	3,43±0,34 ^{***a}	3,63±0,23 ^{***a}	2,81±0,23 ^{***a}
P (ANOVA)	0,149	0,004	0,006	0,001	0,002
O2⁻ (nM/10⁶ cell)					
ConA	4,80±0,51 ^a	9,25±0,34 ^{***a}	8,12±0,32 ^{***a}	7,62±0,46 ^{***a}	7,08±0,35 ^{***a}

ConA + VitC	4,56±0,31 ^a	5,01±0,51 ^c	4,64±0,32 ^c	4,35±0,42 ^c	4,25±0,37 ^c
ConA + VitE	2,88±0,27 ^c	3±0,38 ^d	2,79±0,26 ^e	2,86±0,14 ^e	2,81±0,36 ^d
ConA + NADH	4,75±0,26 ^a	6,42±0,33 ^{**b}	6,03±0,41 ^{**b}	5,44±0,34 ^{*b}	5,09±0,24 ^{*b}
ConA + HO	4,73±0,21 ^a	9,07±0,40 ^{***a}	8,02±0,51 ^{***a}	8,02±0,24 ^{***a}	7,12±0,43 ^{***a}
ConA + HL	3,18±0,34 ^b	3,52±0,26 ^d	3,54±0,32 ^d	3,54±0,35 ^d	3,06±0,40 ^d
ConA + HN	3,23±0,16 ^b	3,35±0,31 ^d	3,39±0,22 ^d	3,43±0,36 ^d	3,34±0,32 ^d
ConA + HT	4,66±0,44 ^a	9,35±0,32 ^{***a}	8,19±0,52 ^{***a}	7,57±0,47 ^{***a}	6,84±0,32 ^{***a}
P (ANOVA)	0,008	0,005	0,004	0,004	0,006

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. MDA : malondialdéhyde ; P-CAR : protéines carbonylées ; O₂⁻ : anion superoxyde ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * P < 0,05; ** P < 0,01.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes (P < 0,05).

Tableau A 9. Marqueurs du statut antioxydant des lymphocytes en présence des micronutriments chez les patients et les témoins.

Incubations	Témoins	Diabète type1	Diabète type2	HTA	Obésité
GSH (nM/10⁶ cell)					
ConA	8,88±0,85 ^c	4,55±0,57 ^{**c}	4,61±0,40 ^{**c}	8,25±0,61 ^e	8,40±0,96 ^d
ConA + VitC	9,58±0,65 ^c	13,23±1,29 ^{*b}	14,98±1,75 ^{*b}	17,25±1,36 ^{**c}	15,98±1,12 ^{*c}
ConA + VitE	16,33±1,59 ^a	17,35±1,30 ^a	17,14±1,46 ^a	24,32±1,35 ^{**a}	28,95±1,08 ^{**a}
ConA + NADH	9,56±0,81 ^c	4,68±0,64 ^{**c}	4,91±0,52 ^{**c}	13,61±1,17 ^{*d}	9,57±1,36 ^d
ConA + HO	8,91±0,90 ^c	4,22±0,27 ^{**c}	4,10±0,23 ^{**c}	8,72±0,65 ^e	8,61±0,76 ^d
ConA + HL	12,38±0,66 ^b	13,27±1,38 ^b	13,49±1,95 ^b	20,04±1,32 ^{*b}	22,07±1,70 ^{**b}
ConA + HN	11,67±0,86 ^b	11,05±1,15 ^b	12,61±1,81 ^b	17,41±1,55 ^{*c}	14,26±1,94 ^{*c}
ConA + HT	9,04±0,88 ^c	4,80±0,45 ^{**c}	4,33±0,77 ^{**c}	9,02±1,65 ^e	8,49±1,14 ^d
P (ANOVA)	0,007	0,008	0,006	0,003	0,005
CATALASE (U/mg)					
ConA	24,54±1,89 ^b	16,90±1,59 ^{*c}	12,58±1,44 ^{**c}	13,76±1,71 ^{**c}	11,32±1,08 ^{**c}
ConA + VitC	25,53±1,88 ^b	16,52±2,22 ^{*c}	12,57±1,34 ^{**c}	12,94±1,93 ^{**c}	11,78±1,17 ^{**c}
ConA + VitE	24,89±1,51 ^b	25,95±1,94 ^b	24,57±1,43 ^b	23,66±2,62 ^b	24,32±1,07 ^b
ConA + NADH	25,30±1,63 ^b	16,26±1,63 ^{*c}	12,62±1,54 ^{**c}	13,24±1,48 ^{**c}	11,32±1,33 ^{**c}
ConA + HO	25,34±1,58 ^b	16,54±2,24 ^{*c}	11,60±1,49 ^{**c}	13,69±1,56 ^{**c}	11,31±0,89 ^{**c}
ConA + HL	34,89±1,61 ^a	33,37±1,86 ^a	32,57±2,44 ^a	33,51±1,37 ^a	32,33±2,08 ^a
ConA + HN	35,99±2,62 ^a	32,18±2,45 ^a	34,60±1,48 ^a	33,01±2,82 ^a	33,32±1,28 ^a
ConA + HT	25,08±1,53 ^b	16,54±1,21 ^{*c}	11,61±1,52 ^{**c}	12,43±1,29 ^{**c}	11,32±1,06 ^{**c}
P (ANOVA)	0,008	0,007	0,005	0,005	0,004

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type. GSH : glutathion réduit ; HO : huile d'olive ; HL : huile de lin ; HN : huile de nigelle ; HT : huile de tournesol. La comparaison des moyennes entre les patients et les témoins, à chaque incubation, est réalisée par le test t de student: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Les multiples comparaisons (entre les différentes incubations dans chaque groupe) sont réalisées par le test ANOVA. Cette analyse est complétée par le test de la différence significative minimale (LSD, least significant difference) afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par des lettres différentes (a, b, c,...) sont significativement différentes ($P < 0,05$).

ملخص

يشترك مرض السكري من النوع 1 و 2، ارتفاع الضغط الدموي و السمنة في مضاعفات كثيرة خاصة ضعف في جهاز المناعة و الاجهاد التأكسدي. مستهدفات عمل هذه الدكتوراه هو تحديد الآثار الأيضية لهذه الحالات المرضية في المختبر، لبعض الفيتامينات (C, E), NADH و بعض الأحماض الدهنية الموجودة في الزيوت (زيت الزيتون، زيت بذور الكتان، زيت الحبة السوداء و زيت عباد الشمس) على انتشار الخلايا للمفاوية، إفراز السيروتونين و حالة الأوكسدة و الاختزال داخل الخلايا للمفاوية. تم اخذ عينات دم ل 26 شخص من الرجال المصابين بالسكري من النوع 1، و عينات دم ل 15 شخص من الرجال المصابين بالسكري من النوع 2، و 15 مصاب بالضغط الدموي، و 32 مصابا بالسمنة و خمسون شخص سليم تم اخضاعهم لفحوصات بالقياسات الكيميائية (الجلوكوز، و البوريا، الكرياتينين، الدهون الثلاثية، و الكولسترول)، وعلامات لحالات من الاكسدة / الأوكسدة المضادة (انزيم الكاتلاز، الجلوتاتيون، MDA، و بروتين الكربونيل)، يتم عزل الخلايا للمفاوية T من الدم عن طريق الطرد المركزي و بالتدرج في كثافة Histopaque¹. يتم تحضين الخلايا للمفاوية T في وجود عامل mitogène (كونكانافالين A) و الفيتامينات، NADH و الأحماض الدهنية، لمدة 48 ساعة عند 37 درجة مئوية و 5% CO₂، و تستخدم لاحقا لتحليل التكاثر، و السيروتونين و حالة الأوكسدة داخل الخلايا. تشير النتائج عن وجود اضطرابات في التمثيل الغذائي للجلوكوز المرتبطة باختلال توازن الأوكسدة و الأوكسدة المضادة عند الرجال الذين يعانون من مرض السكري و ارتفاع ضغط الدم و السمنة. بالإضافة الى ذلك، الآثار المناعية المنشطة للفيتامينات C و E، NADH، و على التكاثر، و وظائف الخلايا للمفاوية بالإضافة إلى ترميم وضع الأوكسدة و الاختزال و الذي تم شرحه و توضيحه، وكذلك من تأثيره في ارتفاع ضغط الدم السكري و السمنة. وتظهر نتائجنا أيضا أن للزيوت آثار تغييرية مختلفة و متنوعة و ذلك اعتمادا على نوع المرض المدروس، مرتبط مع تأثير أحد المضادات للأوكسدة خاصة في وجود زيت بذور الكتان و زيت الحبة السوداء و زيت الزيتون. في الختام يمكن القول إن مكملات الفيتامينات NADH و الأحماض الدهنية لها آثار إيجابية على وظيفة الخلايا للمفاوية و الأوكسدة في الامراض الأيضية.

الكلمات المفتاحية: مرض السكري من النوع 1 و 2، ارتفاع ضغط الدم، السمنة، الفيتامينات (C, E), NADH، زيت الزيتون، زيت بذور الكتان، زيت الحبة السوداء و زيت عباد الشمس، الوظيفة للمفاوية، الأوكسدة و الاختزال.

Résumé

Le Diabète de type 1 et 2, l'hypertension, et l'obésité sont associés à de nombreuses complications notamment un dysfonctionnement du système immunitaire et un stress oxydatif. Les objectifs de ce travail de doctorat sont de déterminer les conséquences métaboliques de ces pathologies et les effets in vitro de certaines vitamines (C, E) du NADH et de certains acides gras présents dans les huiles (huile d'olive, lin, nigelle et tournesol) sur la prolifération lymphocytaire, la sécrétion des cytokines et le statut redox intracellulaire. Des prélèvements sanguins sont réalisés chez 138 patients de sexe masculin dont 26 diabétiques de type 1, 15 diabétiques de type 2, 15 hypertendus, 32 obèses et 50 hommes témoins. Ces échantillons sont utilisés pour les dosages des paramètres biochimiques (glucose, urée, créatinine, triglycérides, cholestérol), et des marqueurs du statut oxydant/antioxydant (enzyme catalase, glutathion, MDA, protéines carbonylées). Les lymphocytes T sont isolés à partir du sang par centrifugation sur gradient de densité de l'histopaque, puis incubés en présence d'un agent mitogène (la Concanavaline A), des vitamines, un coenzyme et des acides gras pendant 48 heures à 37°C et 5% CO₂, et sont par la suite utilisées pour analyser la prolifération, les cytokines et le statut redox intracellulaire.

Notre travail révèle l'existence de perturbations du métabolisme glucidique et lipidique associées à un déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante chez les hommes diabétiques, hypertendus et obèses. De plus, les effets immuno-stimulateurs des vitamines C, E et du NADH sur la prolifération et la fonction lymphocytaire, en plus de la restauration du statut redox sont mis en évidence aussi bien au cours du diabète que de l'hypertension et l'obésité. Nos résultats montrent aussi que les huiles ont des effets modulateurs différents selon le type de pathologies étudiées, associés à un effet antioxydant et anti-inflammatoire notamment en présence de l'huile de lin, de nigelle et d'olive. En conclusion, la supplémentation en vitamines, en NADH et en acides gras peut être bénéfique avec des effets positifs sur la fonction lymphocytaire et le stress oxydatif au cours des maladies métaboliques.

Mots-clés : Diabète sucré, Hypertension, Obésité, Vitamines (C, E), NADH, Huile de lin, Huile de nigelle, Huile d'olive, Huile de tournesol, Lymphocytes, Cytokines, Statut redox.

Abstract

Type 1 and 2 Diabetes, hypertension and obesity are associated with many complications including immune system dysfunction and oxidative stress. The objectives of this PhD work are to determine the metabolic consequences of these pathologies and the in vitro effects of some vitamins (C, E), NADH and fatty acids present in oils (olive, linseed, Nigel and Sunflower oils) on lymphocyte proliferation, cytokine secretion and intracellular redox status. Blood samples were taken from 138 male patients including 26 patients with type 1 diabetes, 15 with type 2 diabetes, 15 hypertensive patients, 32 obese patients, and 50 healthy men. These samples were used to determine biochemical parameters (glucose, urea, creatinine, triglycerides, cholesterol) and oxidant /antioxidant status markers (enzyme catalase, glutathione, MDA, carbonyl proteins). T lymphocytes were isolated from blood by centrifugation on histopaque density gradient, and incubated in the presence of a mitogen (Concanavalin A), vitamins, coenzyme and fatty acids for 48 hours at 37 ° C and 5% CO₂, and were subsequently used to analyze proliferation, cytokines and Intracellular redox status. Our work revealed disturbances of carbohydrate and lipid metabolisms associated with an imbalance of oxidative / antioxidant balance in diabetic, hypertensive and obese men. In addition, the immunostimulatory effects of vitamins C, E and NADH on proliferation and lymphocyte function, in addition to the restoration of redox status were demonstrated in diabetes, hypertension and obesity. Our results have also shown that oils have different modulating effects depending on the type of pathology studied, associated with an antioxidant and anti-inflammatory effect, especially in the presence of linseed, Nigel oils and olive oil. In conclusion, vitamin and fatty acids supplementation can have positive effects on lymphocyte function and oxidative stress during metabolic diseases.

Keywords: Diabetes mellitus, Hypertension, Obesity, Vitamins (C, E) NADH, Linseed oil, Nigel oil, Olive oil, Sunflower oil, Lymphocytes, Cytokines, Redox status.