

N d'ordre 14/2010-M/GP

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
HOUARI-BOUMEDIENE

FACULTE DE GENIE DES PROCEDES



THESE
PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MAGISTERE
EN GENIE DES PROCEDES PHARMACEUTIQUES
SPECIALITE : TECHNOLOGIE PHARMACEUTIQUE

PAR M^{elle} : LIMANE OUISSEM

SUJET

Cytotoxicité de l'indométacine, un anti-inflammatoire non stéroïdien,
dans les cellules VERO et SP2.
Etude à l'aide de deux antioxydants, la N-acétyl cystéine et la Quercétine.

Soutenue le 03/05/2010 devant le jury composé de :

Daoud Kamel	Professeur (USTHB)	Président
Mansouri Mohamed	Professeur (FP /ALGER)	Examineur
Ferkoui Mohamed	Professeur (USTHB)	Examineur
Benkaci-Ali Farid	Maître conférence /A (USTHB)	Examineur
Djerdjouri Bahia	Professeur (USTHB)	Directeur de thèse
Touabti Nadia	Docteur (Institut Pasteur/ALGER)	Invité

2009/2010

SOMMAIRE

Chapitre I : Rappel bibliographique

Introduction.....	1
Objectif.....	3
I- Les anti-inflammatoires.....	5
1- Définition des anti-inflammatoires.....	5
2-Captation des radicaux libres.....	6
3- Pharmacodynamique.....	6
3-1- Action analgésique.....	6
3-2- Effet anti-inflammatoire.....	6
3-3- Effet antipyrétique.....	6
4-Toxicité des AINS.....	7
4-1- Toxicité digestive.....	7
4-2- Toxicité rénale.....	7
4-3- Toxicité hépatique.....	8
4-4- Toxicité cutanée.....	8
4-5- Toxicité broncho-pulmonaires.....	9
4-6- Effet sur le système nerveux et les organes sensoriels.....	9
4-7- Effet sur les fonctions immunitaires et dans les infections.....	10
II- Le stress oxydatif.....	10
1- Définition.....	10
2- Mécanismes pro-oxydants.....	12
3- Mécanismes anti-oxydants.....	12
3-1- Les Enzymes.....	12
3-1-1- Les superoxydes dismutases (SOD).....	12
3-1-2- Les catalases.....	13
3-1-3- Les peroxydases.....	13
3-1-4- La thiorédoxine (TRX).....	14
3-2- Les molécules antioxydantes.....	15
3-2-1- La vitamine C.....	15
3-2-2- La vitamine E.....	15
3-2-3- Le sélénium.....	15
3-2-4- Le zinc.....	15
3-2-5- Quercétine.....	16
3-2-6- N-acétyl cystéine.....	16

4- Le stress oxydant dans la cellule.....	18
5- Conséquences du stress oxydatif	19
5-1- Sur les acides gras.....	19
5-2- sur les protéines.....	21
5-3- Sur les acides nucléiques.....	22
Chapitre II : Matériel et méthodes	25
Chapitre III : Résultats et discussion	31
I-1- Effet de la NAC Quercétine sur la toxicité à l'indométacine chez les VERO.....	31
I-1-1- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur la production de nitrites par les VERO	31
I-1-2- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur la production des anions superoxyde par les VERO	34
I-1-3- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur la peroxydation lipidique (MDA) chez les VERO.....	38
I-1-4- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur la production du glutathion (GSH, le système antioxydant) par les VERO	42
I-1-5- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur l'activité de la LDH par les VERO	45
I-1-6- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur l'activité de la catalase chez VERO	49
I-2- Effet de la NAC Quercétine sur la toxicité induite par l'indométacine chez les SP2.....	52
I-2-1- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur la production de nitrites par les SP2.....	52
I-2-2- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur la production des anions superoxyde par les SP2.....	55
I-2-3- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur la peroxydation lipidique (MDA) chez les SP2	59
I-2-4- Effet de la NAC, Quercétine Indométacine sur la production du glutathion (GSH, le système antioxydant) par les VERO.....	63
I-2-5- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur l'activité de la LDH chez les SP2	66
I-2-6- Effet de la NAC, Quercétine, Indométacine sur l'activité de la catalase chez les SP2.....	69
Discussion.....	73
Conclusion.....	85
Bibliographie.....	86

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le Tout Puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience durant mon travail. J'adresse mes remerciements envers les membres de jury qui m'honorent en acceptant d'examiner mon travail.

Je remercie vivement tous ceux qui ont participé d'une manière ou une autre de près ou de loin, à la réalisation de ce travail :

***M^{me} Djerdjouri B** : Responsable du laboratoire de pharmacologie cellulaire et signalisation à la faculté des sciences biologiques, FSB-USTHB.*

***M^{me} Touabti N** : Directrice du laboratoire de contrôle qualité, merci de m'avoir ouvert les portes de vos laboratoires, grand merci.*

***M^r Sighouani M** : Responsable du laboratoire de virologie, Institut Pasteur.*

***M^{elle} Ait Said L** : L'ingénieur de laboratoire de virologie, Institut Pasteur.*

***M^{elle} Mokrani A** : L'ingénieur de laboratoire de physico-chimie, Institut Pasteur.*

***M^r Brahimi M** : Responsable du service rage, Institut Pasteur.*

Mon respect et mes remerciements vont également à toute l'équipe du laboratoire de contrôle de qualité Aventis, Saïdal unité Pharmed, Institut Pasteur d'Alger et laboratoire de pharmacologie cellulaire et signalisation au niveau de la faculté des sciences biologiques, USTHB.

Dédicace

On signe de mon amour, ma reconnaissance et mon estime, je tiens à faire une dédicace très exceptionnelle pour deux personnes qui me sont les plus chère au monde : mon père et ma mère qui ont toujours fait preuve d'un grand sacrifice et d'une extrême patience pour me voir grandir et réussir. Que Dieu me les protège.

Je tiens aussi à exprimer mes profonds sentiments de reconnaissance et de gratitude à ceux qui n'ont su et ne seront épargner aucun effort pour me voir réussir.

A ma bien aimée soeur Lilia et à mon frère Mohamed El Amine.

A mes petites cousines Silina et Kamilia.

A mes amies son exception, merci pour votre disponibilité, vos précieux conseils et surtout pour votre sincère amitié et bon moment passés en votre compagnie.

Ouisseem.

Liste des tableaux (Annexe).

Tableau 1 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les VERO.

Tableau 2 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 3 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 4 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO.

Tableau 5 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO.

Tableau 6 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA.

Tableau 7 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les VERO stimulée par le PMA.

Tableau 8 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les VERO stimulée par le PMA.

Tableau 9 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA.

Tableau 10 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA.

Tableau 11 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la peroxydation lipidique des VERO

Tableau 12 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 13 : Effet de la NAC sur la peroxydation lipidique des VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 14 : Effet de la NAC sur peroxydation lipidique des VERO.

Tableau 15 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO.

Tableau 16 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production du glutathion par les VERO.

Tableau 17 : Effet de la quercétine sur la production du glutathion par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 18 : Effet de la NAC sur la production du glutathion par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 19 : Effet de la NAC sur la production du glutathion par les VERO.

Tableau 20 : Effet de la quercétine sur la production du glutathion par les VERO.

Tableau 21 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH chez les VERO.

Tableau 22 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 23 : Effet de la NAC sur l'activité de la LDH chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 24 : Effet de la NAC sur l'activité de la LDH chez les VERO.

Tableau 25 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les VERO.

Tableau 26 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase chez les VERO.

Tableau 27 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 28 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 29 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase chez les VERO.

Tableau 30 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase chez les VERO.

Tableau 31 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les SP2.

Tableau 32 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 33 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 34 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2.

Tableau 35 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2.

Tableau 36 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulée par le PMA.

Tableau 37 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les SP2 stimulée par le PMA.

Tableau 38 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les SP2 stimulée par le PMA.

Tableau 39 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulée par le PMA.

Tableau 40 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulée par le PMA.

Tableau 41 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la peroxydation lipidique chez SP2.

Tableau 42 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique chez SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 43 : Effet de la NAC sur la peroxydation lipidique chez SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 44 : Effet de la NAC sur la peroxydation lipidique chez SP2.

Tableau 45 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique chez SP2.

Tableau 46 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production du glutathion chez les SP2

Tableau 47 : Effet de la quercétine sur la production du glutathion chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 48 : Effet de la NAC sur production du glutathion chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 49 : Effet de la NAC sur la production du glutathion chez les SP2

Tableau 50 : Effet de la quercétine sur la production du glutathion chez les SP2

Tableau 51 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH chez SP2.

Tableau 52 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 53 : Effet de la NAC sur la l'activité de la LDH chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 54 : Effet de la NAC sur l'activité de la LDH chez les SP2.

Tableau 55 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les SP2.

Tableau 56 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase chez les SP2.

Tableau 57 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 58 : Effet de la NAC sur la l'activité de la catalase chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Tableau 59 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase chez les SP2.

Tableau 60 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase des SP2.

Liste des figures

Figure 1 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	11
Figure 2 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	14
Figure 3 : Antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophérol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β -carotène (famille des caroténoïdes), acide caféique et quercétine (famille des polyphénols).....	17
Figure 4 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.....	20
Figure 5 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.....	21
Figure 6 : Illustration d'un mode d'action des radicaux hydroxyles (addition sur les doubles liaisons) avec une base de l'ADN, la guanine.....	22
Figure 7 : Lésions de L'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.....	23
Figure 8 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les VERO.....	31
Figure 9 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.....	32
Figure 10 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.....	32
Figure 11 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO.....	33
Figure 12 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO.....	34
Figure 13 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA.....	34
Figure 14 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les VERO stimulée par le PMA.....	35
Figure 15 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les VERO stimulée par le PMA.....	36
Figure 16 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA.....	36
Figure 17 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA.....	37
Figure 18 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la peroxydation lipidique des VERO.....	38
Figure 19 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO en présence des	

doses croissantes d'indométacine.....	39
Figure 20 : Effet de la NAC sur la peroxydation lipidique des VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.....	39
Figure 21 : Effet de la NAC sur peroxydation lipidique des VERO.....	40
Figure 22 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO.....	41
Figure 23 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production du glutathion par les VERO.....	42
Figure 24 : Effet de la quercétine sur la production du glutathion par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.	43
Figure 25 : Effet de la NAC sur la production du glutathion par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.....	43
Figure 26 : Effet de la NAC sur la production du glutathion par les VERO.....	44
Figure 27 : Effet de la quercétine sur la production du glutathion par les VERO.....	45
Figure 28 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH chez les VERO.....	45
Figure 29 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.....	46
Figure 30 : Effet de la NAC sur la l'activité de la LDH chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.....	47
Figure 31 : Effet de la NAC sur l'activité de la LDH chez les VERO.....	48
Figure 32 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les VERO.....	48
Figure 33 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase chez les VERO.....	49
Figure 34 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.....	49
Figure 35 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.....	50
Figure 36 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase chez les VERO.....	51
Figure 37 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase chez les VERO.....	52
Figure 38 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les SP2.....	52
Figure 39 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.....	53
Figure 40 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.....	54
Figure 41 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2.....	54

Figure 42 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2.....	55
Figure 43 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulée par le PMA.....	55
Figure 44 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les SP2 stimulée par le PMA.....	56
Figure 45 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les SP2 stimulée par le PMA.....	57
Figure 46 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulée par le PMA.....	57
Figure 47 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulée par le PMA.....	58
Figure 48 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la peroxydation lipidique chez SP2.....	59
Figure 49 : Effet de la quercétine la peroxydation lipidique chez SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.....	60
Figure 50 : Effet de la NAC sur la peroxydation lipidique chez SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.....	61
Figure 51 : Effet de la NAC sur peroxydation lipidique chez SP2.....	62
Figure 52 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique chez SP2.....	62
Figure 53 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production du glutathion chez les SP2.....	63
Figure 54 : Effet de la quercétine sur production du glutathion chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.....	64
Figure 55 : Effet de la NAC sur production du glutathion chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.....	64
Figure 56 : Effet de la NAC sur production du glutathion chez les SP2.....	65
Figure 57 : Effet de la quercétine sur production du glutathion chez les SP2.....	65
Figure 58 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH chez SP2.....	66
Figure 59 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.....	67
Figure 60 : Effet de la NAC sur la l'activité de la LDH chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.....	67
Figure 61 : Effet de la NAC sur l'activité de la LDH chez les SP2.....	68
Figure 62 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les SP2.....	68
Figure 63 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase chez les SP2.....	69
Figure 64 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase chez les SP2 en présence des doses	

croissantes d'indométacine.....	70
Figure 65 : Effet de la NAC sur la l'activité de la catalase chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.....	70
Figure 66 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase chez les SP2.....	71
Figure 67 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase de la moelle osseuse des SP2.....	71

Liste des abréviations

AINS	Anti-inflammatoire stéroïdien.
ADN	Acide désoxyribonucléique.
BSA	Albumine sérique bovine.
CAT	Catalase
°C	Degré Celsius.
DTNB	l'acide 5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoïque).
DMEM	Dulbecco's Modified eagle's Medium.
Gpx	Glutathion peroxydase à sélénium
GSH	Glutathion réduit.
HPGP	La glutathion peroxydase membranaire
HPGPx	La glutathion peroxydase membranaire.
H ₀ ⁻	Radical hydroxyle.
H ₂ O ₂	Le peroxyde d'hydrogène.
Indo	Indométacine.
kDa	Kilodelton.
LDH	lactate déshydrogénase.
L	Litre.
MDA	Malonedialdéhyde
ml	Milligramme de protéine
min	Millilitre.
mg	Minute.
mg de prot	Milligramme.
NAC	N-acétyl cystéine
NO	Nitrites.
NADPH	Nitroperoxyde.
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide.
NBT	Nitro bleu tetrazolium.
ONOOH	Peroxynitrites.
O ₂ ⁻	Anions superoxyde.
OH•	Radical hydroxyle.

PMA	phorbol 12-myristate 13-acétate
PGE	Prostaglandine.
PGE ₂	Prostaglandine E.
PBS	Phosphate buffer solution.
PH	Potentiel d'hydrogène.
Qr	Quercétine
ROS	Espèces réactives de l'oxygène.
SVF	Sérum de veau fœtal.
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate.
TRX	La thiorédoxine.
TBA	Acide thiobarbiturique.
α-TocH	.L'alpha- tocophérol.
8-OH-G	. 8-hydroxy-guamine
μM	Micro molaire.
M	Molaire.
NM	Nano molaire.
μM	Micro molaire.
	.

Introduction

L'inflammation est une réaction de l'organisme à une irritation d'origine diverse : Infection, traumatisme mécanique, traumatisme chimique, trouble métabolique, brûlure, irradiation (Cahen et Coll).

Les AINS sont mieux définies comme étant la classe médicamenteuse qui possède les mêmes propriétés pharmacologiques que l'acide acétylsalicylique (aspirine) : Analgésique, antipyrétique, anti-inflammatoire. Les AINS ont une action symptomatique d'une réaction inflammatoire douleur, rougeur, chaleur, œdème.

Les AINS ont d'autres effets en commune toxicité gastro-intestinale, effet rénaux, action anti-agrégante, plaquettaire, asthme induit et autres réactions de type allergique, retard à l'accouchement.

La diminution de la production tissulaire des prostaglandines et thromboxanes du fait de l'inhibition de la cyclo-oxygénase est le mécanisme d'action commun à tous les AINS (Chauvlatet et Coll).

Le stress oxydatif est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production des radicaux libres oxygénés des radicaux libres et leurs dérivés activés, que l'on peut regrouper sous le terme de substances oxygénées réactives (ROS : Reactive oxygen species) sont continuellement produit dans les cellules, notamment lors du métabolisme oxydatif (Faviar, 2004).

Il a été montré récemment qu'ils pouvaient avoir un rôle dans diverses voies de signalisation.

Cependant, ils sont depuis plus longtemps considérés comme potentiellement toxiques, car ils ont la capacité d'endommager différents composants cellulaires vitaux, tels que les lipides, les protéines et l'ADN et de conduire à la mort cellulaire par le stress oxydatif.

Ces ROS sont normalement tamponnés par différents systèmes antioxydants, une cellule peut toute fois subir un stress oxydatif lorsque son contenu en ROS dépasse ces capacités de défense antioxydante, soit par une augmentation de la production des ROS soit par une diminution de ces capacités de défense, soit par les deux mécanismes combinés (Nafia et Coll., 2005).

NAC précurseur du glutathion

La N-Acétyl cystéine est une molécule synthétique, précurseur du principal anti-oxydant cellulaire, le GSH, grâce à son résidu cystéine (Sener et Coll., 2003).

NAC possède une activité antioxydante (Sener et Coll., 2003) et une activité anti-apoptotique (Zafarullah et Coll., 2003).

Les effets protecteurs de la N-Acétyl cystéine sont dus à son activité antioxydante. La NAC est un puissant scavenger des ROS, possédant une grande affinité pour l'OH et l'HOCl (Areoma et Coll., 1989).

La Quercétine est un flavonoïde-aglycone classé de polyphénols. Elle se trouve dans les fruits, légumes, huile d'olive, thé. Elle manifeste avec un grand potentiel antioxydant de tous les autres flavonoïdes. L'activité antioxydante de Quercétine est basée sur l'effet scavenger des radicaux libres c'est un réactif stabilisant des ROS (anions superoxyde), elle réagit avec les ROS, ce résultat de combinaison entre le radical et interaction avec enzyme fonctionnelle fait que la Quercétine est une molécule thérapeutique malgré qu'elle diminue le niveau primaire de DNA (Julien et Coll).

Objectif

L'indométacine ou acide chlorobenzoyl métoxy méthyl indol acétique est un anti inflammatoire synthétisé par Shen aux U.S.A en 1962, il est de plus antalgique, antipyrétique et inhibiteur de l'agrégation plaquettaire (Cahen et Coll).

Le but de ce travail est d'étudier les effets toxiques des doses croissantes d'indométacine sur deux lignées, les cellules VERO et SP2.

L'implication du stress dans l'intoxication aigue à l'indométacine a été mesuré à l'aide de deux antioxydants, la N-acétyl cystéine (NAC) et la Quercétine (Qr), deux molécules scavenger des radicaux libres oxydants et précurseur du GSH.

Le stress oxydatif a été recherché in vitro par huit doses d'indométacine incubées pendant 24 h.

L'étude biochimique avait aussi pour objectif de révéler les effets d'indométacine associés à la NAC et la Qr sur les deux lignées.

La première partie du manuscrit est une étude bibliographique sur les AINS, leurs cibles, leurs effets thérapeutiques et toxiques, le stress oxydatif et ces conséquences, les radicaux libres et leurs cibles.

La deuxième partie décrit les résultats expérimentaux et leur discussion, cette partie a été organisé pour évaluer le stress oxydatif du à trois molécules (indométacine, NAC, Quercétine) et leur association à l'aide de six marqueurs :

❖ De toxicité :

- MDA : Le Malondialdéhyde indice de la peroxydation lipidique, NO : les nitrites, $O_2^{\cdot -}$: les anions superoxyde, LDH : l'activité du lactate déshydrogénase.

❖ De défense cellulaire :

-GSH et l'activité de la catalase.

Les six marqueurs ont été utilisés pour mesurer le stress oxydatif du à :

- Des doses croissantes d'indométacine.
- Des doses croissantes de la N-Acétyl césteine.
- Des doses croissantes de la Quercétine.
- Des doses croissantes d'indométacine en présence de NAC.
- Des doses croissantes d'indométacine en présence de la Qr.

Ce travail a été réalisé pour les deux lignées et tous les résultats de ce manuscrit ont été exprimés quatre fois.

Chapitre 1 : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I- Les anti-inflammatoires

1- Définition des anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires. A côté des analgésiques antipyrétiques doués, à forte dose ou à doses continues, de propriétés anti-inflammatoires, on distingue des médicaments à activité anti-inflammatoire plus spécifiques, substances de synthèse et hormones glucocorticoïde.

Les anti-inflammatoires sont utilisés quand les processus de réaction inflammatoire sont exagérés par rapport à la cause initiale, dans les maladies rhumatismales, dans les réactions immunitaires exagérées, dans les dégénérescences cartilagineuses des articulations (Cahen, 1999).

L'indométacine

Le chef de cette classe chimique est l'indométacine qui est certainement un des anti-inflammatoires non stéroïdiens les plus efficaces cliniquement et un des plus puissants inhibiteurs de la cycloxygénase biologiquement. Cependant, sa toxicité digestive fait que l'indométacine est rarement utilisée en première intention dans les douleurs ou les réactions inflammatoires passagères. En revanche, elle est connue par les traitements symptomatiques de choix, dans la spondylarthrite ankylosante où elle semble aussi efficace que la phénylbutazone sans avoir la toxicité hématologique de cette dernière. Dans la polyarthrite rhumatoïde, elle n'est le plus souvent prescrite qu'après échec d'autres AINS, généralement mieux tolérés.

L'indométacine est deux à quatre fois plus active que l'hydrocortisone et 20 à 80 fois plus que la phénylbutazone.

Indications thérapeutiques

Retenue par l'OMS, l'indométacine est prescrite aux doses orales quotidiennes de 75 à 150 mg dans les affections rhumatismales, polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite ankylosante (arthrite des articulations intervertébrales), les inflammations des articulations, la goutte. Elle entraîne des céphalées, des urticaires, des ulcères gastroduodénaux.

Elle est contre-indiquée chez les ulcéreux, les colitiques, les allergiques, les femmes enceintes et les enfants. L'indométacine est rapidement absorbée par le tube digestif. Elle est désacétylée et déméthylée et éliminée par voie urinaire sous forme de glycuconjugué

L'indométacine est susceptible de déplacer les anticoagulants coumariniques de leurs liaisons avec les protéines plasmatiques et d'accroître les risques de saignement.

Elle a été associée à la dexaméthasone, ce qui cumule les avantages des corticoïdes à action tardive, aux anti-inflammatoires à action initiale.

2-Captation des radicaux libres

Les radicaux libres réactifs (anions superoxyde, oxygène, radical hydroxyl...) sont notamment produits par les cellules au niveau du foyer inflammatoire.

Dans ce cadre, on peut artificiellement distinguer deux types d'actions pour ces radicaux réactifs :

1) Ils initient l'activation de la cyclooxygénase et à ce titre certains AINS inhiberaient l'enzyme du fait même de la captation de radicaux libres de l'oxygène (Sies et Coll., 1983)

2) A des fortes concentrations, ils peuvent inhiber la cyclooxygénase et surtout ils peuvent être à l'origine des dommages des membranes tissulaires et de la dégradation de l'acide hyaluronique (Lewiset Coll., 1984). En conséquence, la diminution de la production de radicaux réactifs type superoxyde permet de s'opposer à certaines des manifestations de la réaction inflammatoire (Gay et coll., 1984).

3- Pharmacodynamique

3-1- Action analgésique

L'action analgésique des AINS s'exerce à la fois au niveau périphérique et au niveau central, mais les effets périphériques sont prédominants. Leur action analgésique est habituellement associée à leur effet anti-inflammatoire et résulte de l'inhibition de la synthèse des prostaglandines dans les tissus enflammés. Les prostaglandines induisent peu de douleurs en elles-mêmes mais stimulent la douleur induite par d'autres médiateurs de l'inflammation.

3-2- Effet anti-inflammatoire

Le rôle des prostaglandines dans l'inflammation est de produire une vasodilatation et d'augmenter la perméabilité vasculaire. Cependant, l'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS atténue davantage l'inflammation plus qu'elle ne la supprime car les AINS n'inhibent pas d'autres médiateurs de l'inflammation.

L'effet anti-inflammatoire relativement modeste des AINS donnés à la plupart des patients présentant une arthrite rhumatoïde, soulage parfois la douleur, la raideur et le gonflement.

3-3- Effet antipyrétique

Les AINS ne réduisent pas la température normale du corps ou les températures élevées observées en cas de coup de chaleur. Dans ce cas, l'hyperthermie est due à un

dysfonctionnement hypothalamique. En cas de fièvre, le pyrogène endogène (interleukine-1) est libéré des leucocytes et agit directement sur le centre thermorégulateur dans l'hypothalamus pour augmenter la température corporelle. Cet effet est associé à une augmentation du taux de prostaglandines cérébrales (qui sont pyrogènes). L'aspirine prévient les effets d'augmentation de température induits par l'interleukine-1 en prévenant l'augmentation du taux des prostaglandines cérébrales (Cahen., 1999).

4- Toxicité des AINS

4-1- Toxicité digestive

Tous ces AINS ont en commun, avec l'aspirine des effets digestifs, à prédominance gastrique, qui jusqu'à présent ne sont pas dissociables de leur activité anti-inflammatoire. La toxicité de ces médicaments peut être représentée par des signes fonctionnels banals (brûlure épigastrique, douleurs, nausées...).

Les formes rectales d'AINS sont fréquemment responsables d'irritation, d'inflammation de la muqueuse et parfois de saignements. Les AINS semblent également, par un effet systémique, favoriser la survenue d'ulcération colique (Weisman et Coll., 1996).

Etant donné que la toxicité digestive des AINS semble indissociable de leur puissance anti-inflammatoire, il est probable que l'inhibition de la synthèse des prostaglandines digestives (principalement la PGE, chez l'homme), soit un des principaux facteurs intervenant dans le développement de cette toxicité.

L'absence des prostaglandines «protectrices» permettrait aux AINS d'exercer leurs effets sur la muqueuse (Dearden et Coll., 1984).

La prescription d'AINS est associée à une augmentation de la perméabilité intestinale et donc à une perte de l'intégrité intestinale. Toutes les conséquences de cet effet, notamment sur la résorption digestive d'autres molécules, ne sont pas encore déterminées (Brassine et Coll., 1984).

4-2- Toxicité rénale

Plusieurs types d'atteintes rénales, secondaires à la prise des AINS, sont actuellement individualisés.

Néphropathie aux analgésiques

Cette néphropathie qui correspond histologiquement à une nécrose papillaire, est due à l'abus d'analgésiques : fortes doses, pendant des mois ou des années, de plus d'un analgésique. L'association acide acétylsalicylique et phénacétine ou paracétamol est la plus souvent incriminée tandis que l'aspirine seule, même à fortes doses pendant des dizaines d'années, ne paraît pas pouvoir entraîner ce type de néphropathie. Il en serait de même avec les autres AINS (Guyon et Coll., 1983).

L'indométacine est la plus souvent incriminée mais les autres AINS dont l'aspirine le sont également. Leur point commun serait la mise en jeu des prostaglandines (E₂ et I₂) qui, en particulier en cas d'hypoperfusion rénale, assurent, ou tendent vers le maintien du débit sanguin rénal et du débit de filtration glomérulaire. L'inhibition de synthèse rénale de ces prostaglandines par les AINS, rompant un équilibre précaire, serait responsable de la baisse brutale de perkaliémie, d'une hyponatrémie avec rétention hydrique et d'une hyporéninémie (Svendsen et Coll., 1984).

Néphrite interstitielle immuno-allergique

Tout AINS semble pouvoir en être responsable. Elle apparaît en moyenne un mois après le début du traitement.

Il n'y a pas de syndrome néphrotique. La pathologie de l'atteinte n'est pas déterminée même si elle semble impliquer les lymphocytes T (Dearden et Coll., 1984).

Néphrite interstitielle avec syndrome néphrotique

La néphrite interstitielle avec syndrome néphrotique est une insuffisance rénale d'intensité variable. Elle survient après plusieurs semaines ou mois de traitement (Guyon et Coll., 2002; Bender et coll., 1984).

En l'absence d'atteinte rénale, les AINS peuvent entraîner une rétention hydrosodée (avec hyponatrémie). Ceci a été décrit pour les AINS les plus « puissants » : indométacine phénylbutazone, aspirine à fortes doses, piroxicam. La rétention peut être à l'origine d'une hypertension artérielle ou d'une décompensation cardiaque, chez des sujets prédisposés, en particulier les enfants atteints de rhumatisme articulaire aigu avec atteinte cardiaque. La rétention hydrique peut, à tort, faire croire à un saignement du fait de l'hémodilution qui en résulte (Guyon et Coll., 1983; Lijnen et Coll., 1984).

4-3- Toxicité hépatique

Il semble que pratiquement tous les AINS puissent entraîner des altérations des fonctions hépatiques (Zimmerman et Coll., 1974).

L'indométacine d'une part, et la clométacine, médicament antalgique isomère de l'indométacine d'autre part, peuvent être à l'origine d'hépatites qui diffèrent généralement dans leur mode d'expression et leur évolution. Actuellement on ne sait pas si la toxicité est croisée entre les deux médicaments.

4-4- Toxicité cutanée

Les très rares cas de vascularité due aux AINS associent des lésions cutanées et des lésions viscérales (rein, foie...). Le pronostic peut être mauvais, en dépit de l'arrêt de l'AINS et de l'institution d'une corticothérapie. Cette toxidermie a été décrite avec le diclofénac,

l'indométacine, les pyrazolés, le fenbufène, le naproxène (Brien et Coll., 1984; Jean-Pastor et Coll., 1984).

4-5- Toxicité broncho-pulmonaires

L'intolérance à l'aspirine revêt des aspects cliniques variés : signes respiratoires « asthme » à l'aspirine (Weinberger et Coll., 1978).

L'intolérance à l'aspirine est croisée avec tous les autres AINS à l'exception de l'acide salicylique (ou un de ses sels comme le salicylate de sodium). L'indométacine serait celui qui « croise » le plus fréquemment l'aspirine.

Cette intolérance peut aussi, bien que plus rarement, être croisée avec le paracétamol, et la tartrazine (ou E 102), qui est un colorant jaune présent dans de nombreux médicaments et aliments.

Pour les autres AINS, il y a une bonne corrélation entre les doses qui inhibent la cyclooxygénase in vitro, et celles qui déclenchent des crises d'asthme chez les sujets intolérants à l'aspirine (Buchanan et Coll., 1983).

L'histamine pourrait être un des médiateurs responsables du bronchospasme chez ces sujets : l'asthme à l'aspirine est associé à une augmentation des concentrations plasmatiques d'histamine. L'action de l'histamine serait favorisée par l'inhibition de la PGE₂ dont un des rôles est de stabiliser l'histamine à l'intérieur des mastocytes (Buchanan et Coll., 1983).

4-6-Effet sur le système nerveux et les organes sensoriels

Atteinte auditive

Le principal effet de l'aspirine est représenté par les tintements d'oreille qui, avec éventuellement des céphalées, des troubles mineurs de la conscience et des troubles digestifs d'origine centrale, traduisent le début d'un surdosage par l'anti-inflammatoire (Vrhovac et Coll., 1984).

Atteintes oculaires

L'aspirine peut donner des conjonctivites dans le cadre d'une réaction allergique, associant généralement d'autres signes cliniques (voir effets broncho-pulmonaires et dermatologiques).

Parmi les autres AINS, le traitement prolongé (voie orale) par l'indométacine peut être responsable d'effets mineurs non rares (vision floue, sensation de tension oculaire, douleur conjonctivale) et exceptionnellement d'effets graves (rétinopathie) (Vrhovac et Coll., 1984).

L'ibuprofène, dans les premiers mois du traitement peut être responsable d'une amblyopie toxique (Collum et Coll., 1971). Ces deux médicaments peuvent aussi modifier la perception

des couleurs. Conjonctivites, atteintes cornéennes (Davis et Coll., 1977; Williams et Coll., 1976).

4-7-Effet sur les fonctions immunitaires et dans les infections

La prostaglandine E₂ est un inhibiteur de diverses fonctions lymphocytaires (Davis et Coll., 1977; Williams et Coll., 1976). L'indométacine du fait de l'inhibition de la synthèse des prostaglandines, stimule in vitro les fonctions des lymphocytes T mais inhibe la production, par les lymphocytes B, des immunoglobulines et du facteur rhumatoïde (IgM) via, peut-être, la stimulation de lymphocytes T suppresseurs (Williams et Coll., 1976).

Au total, bien que quelques cas d'aggravation d'infections intercurrentes aient été rapportés chez des enfants recevant de l'indométacine, ce type de médicament semble pouvoir améliorer l'expression de l'immunité cellulaire expérimentale.

L'action symptomatique antalgique et antipyrétique de tout AINS peut masquer les signes cliniques d'une infection (Vrhovac et Coll., 1984).

II- Le stress oxydatif

1-Définition

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses anti-oxydantes. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques. Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui procèdent un électron célibataire (ou non apparié). Le champ magnétique créé par sa rotation, ou spin, n'est donc pas compensé par la rotation en sens inverse d'un électron apparié. Cette propriété rend les radicaux libres aptes à réagir avec différentes molécules, notamment lors de réactions en chaîne dont l'exemple le plus connu est celui de la peroxydation des lipides.

La réactivité des radicaux de l'oxygène ne doit pas non plus être exagérée car elle est très variable selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde (O₂⁻), comme le monoxyde d'azote (NO[•]) ne sont pas très réactifs mais constituent des radicaux précurseurs pouvant être activés en d'autres espèces plus réactives.

La faible réactivité de ces deux radicaux (O₂⁻) et NO[•] permet d'ailleurs leur utilisation par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions biologiques telles la respiration et la vasodilatation capillaire (Angelos et Coll., 2001; Wolin et Coll., 2002; Soares, 2005).

Par contre des radicaux comme les radicaux pyroxyles (R00[•]) ou surtout le radical hydroxyle (H0[•]) sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants.

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé « espèces réactives de l'oxygène ». Les dommages liés à un stress oxydant se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN (Wiseman, Halliwell et Coll., 2000; Soares, 2005).

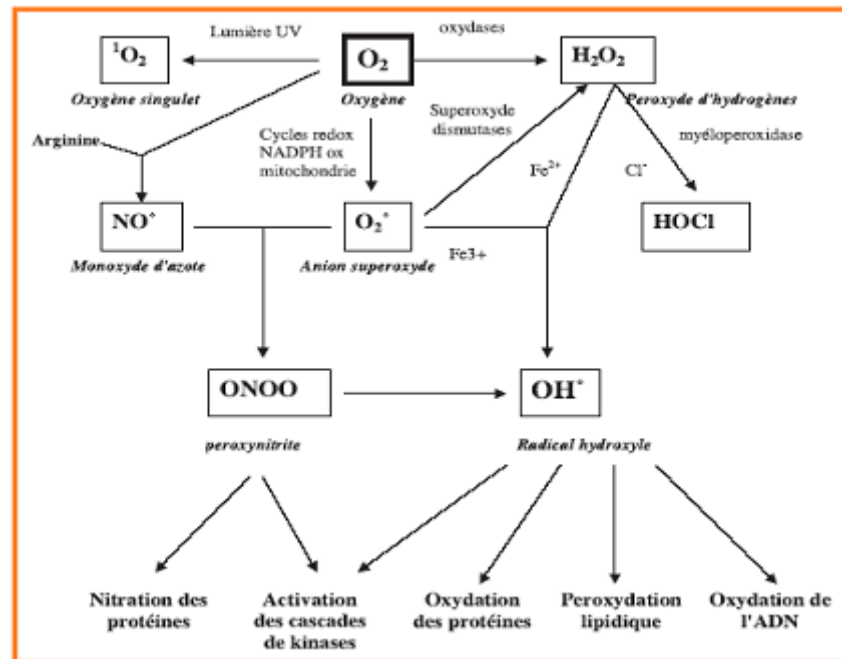


Figure 1: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier et Coll., 2004).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires.

Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le radical hydroxyle OH^{\cdot} ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} . D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet (O_2^{\cdot}) le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux.

2- Mécanismes prooxydants

Une production continue d'anions superoxydes se produit lorsque la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne. Si cette production de radicaux superoxydes reste faible et ne concerne que quelques pourcents de l'oxygène utilisé par la respiration, elle peut s'amplifier lorsque la respiration devient plus intense (effort physique) ou lorsque intervient des désordres mitochondriaux génétiques, inflammatoires ou nutritionnels.

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées soumises à un phénomène appelé explosion oxydative, qui consiste en l'activation du complexe de la NADPH oxydase capable d'utiliser de l'oxygène pour produire de grandes quantités d'anion superoxyde dans la membrane cellulaire.

D'autres cellules comme les lymphocytes B possèdent sur leur membrane des systèmes NADPH oxydase similaires produisant des radicaux en quantité plus faible comme médiateurs intercellulaires. (Moumen et Coll., 2000; Soares, 2005).

3- Mécanismes anti-oxydants

3-1- Les Enzymes

3-1-1 Les superoxydes dismutases (SOD)

La SOD est un enzyme antioxydant primaire essentiel qui réagit en défense de l'organisme contre les produits toxiques du métabolisme cellulaire. Il est capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Son rôle est de transformer dans les mitochondries, les radicaux superoxydes en peroxydes d'hydrogène, ce dernier, étant beaucoup moins réactifs (Moumen et Coll., 2000; Soares, 2005).

Il existe différents cofacteurs sur son site actif, qui sont classés par isoenzymes, dont la structure d'ensemble est très bien conservée lors de l'évolution.

Les isoenzymes forment un puit hydrophobe au centre de la protéine, dans lequel se glisse l'anion superoxyde.

Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permet de distinguer les différentes SODs : la SOD à Cuivre-Zinc (CuZn-SOD), possèdent deux sous-unités identiques avec une structure moléculaire de 32 kDa, les atomes de Cu et Zn sont liés par un pont dans la position His 61.

Les CuZn-SOD sont aussi classées selon leur rôle dans l'organisme en (CuZn-SOD) protégeant le cytosol, (CuZn-SOD) située sur la face externe de la membrane des cellules endothéliales, l'espace interstitiel des tissus et les fluides extracellulaires, et encore (CuZn-SOD) pour celle présente dans le plasma sanguin (Kaynar et Coll., 2002; Soares, 2005).

La SOD à manganèse (Mn SOD) et au Fer (Fe SOD) sont homologues avec un hème tétramère de 96 kDa qui contient un atome de manganèse ou de fer par sous unité, son rôle biologique est la protection de la mitochondrie (Fridovich et Coll., 2000; Soares, 2005), et la SOD au nickel (Ni-SOD) (Barondeau et Coll., 2001; Soares, 2005).

3-1-2- Les catalases

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Parmi les enzymes connus c'est un des plus efficaces. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH, avec une masse moléculaire de 240 kDa. Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogènes en molécules d'eau pour prévenir la formation des radicaux hydroxyles (Matés et Coll., 2001; Soares, 2005).



3-1-3 -Les peroxydases

3-1-3-1 -Glutathion peroxydase à sélénium (GPx)

Ces enzymes ont en commun une structure tétramérique, chaque tétramère possédant un atome de Sélénium dans son site actif, très fortement fixé à la chaîne peptidique, puisque incorporé sous forme de sélénocystéine dans la séquence primaire. L'introduction du sélénium se faisant selon un mécanisme particulier dit péri-traductionnel.

La GPx est inactivée par H_2O_2 , le *ter*butyl hydroperoxyde, et HO^\cdot quand elle est incubée sans glutathion. L'enzyme natif n'est pas sensible à la trypsine ni à la chymotrypsine. Cet enzyme fait 80 kDa, sa sensibilité à la protéolyse augmente après traitement par des radicaux ou des peroxydes. Le rôle de la glutathion peroxydase à sélénium est très important dans la plupart des tissus où elle réalise la quasi-totalité de l'élimination de H_2O_2 comme dans les globules rouges ou les plaquettes.

3-1-3-2- La glutathion peroxydase cytosolique

Il s'agit d'un tétramère dont chaque sous unité porte une molécule de sélénocystéine sur son site actif. Le fonctionnement de l'enzyme nécessite un flux de glutathion recyclé par la coopération de plusieurs enzymes dont la glutathion réductase (GR) qui réduit le glutathion oxydé en consommant du NADPH (Matés et Coll., 2001; Soares, 2005).

3-1-3-3- La glutathion peroxydase plasmatique

Les glutathion peroxydases présentes dans le plasma et dans le cytosol sont différentes et proviennent des globules rouges ou des cellules endothéliales, les séquences et le poids moléculaire sont différents, 23 kDa pour la sous unité GPx plasmatique, contre 22 kDa pour la

sous unité érythrocytaire. Le mécanisme d'action est identique, mais il y a un effet plus fort du zinc sur la GPx plasmatique.

3-1-3-4- La glutathion peroxydase membranaire (HPGPx)

Cette glutathion peroxydase est capable de réduire les peroxydes membranaires, seulement, après action de la phospholipase A2. Elle agit sur les acides gras hydroperoxydes. La HPGPx réduit directement les hydroperoxydes du cholestérol, des cholestéryl-esters, et des phospholipides présents dans les membranes des globules rouges oxydés ou des lipoprotéines oxydés.

3-1-4 La thiorédoxine (TRX)

Cet enzyme a une structure proche de celle de la glutathion réductase. Il consomme aussi du NADPH dans son fonctionnement. Il joue un rôle protecteur contre une grande variété de stress oxydatifs grâce à ses propriétés de capture des radicaux libres. Des données biochimiques montrent que les thiorédoxines réduisent des protéines clefs pour le développement, la division cellulaire ou la réponse au stress oxydatif (Reichheld et Coll., 2000; Soares, 2005).

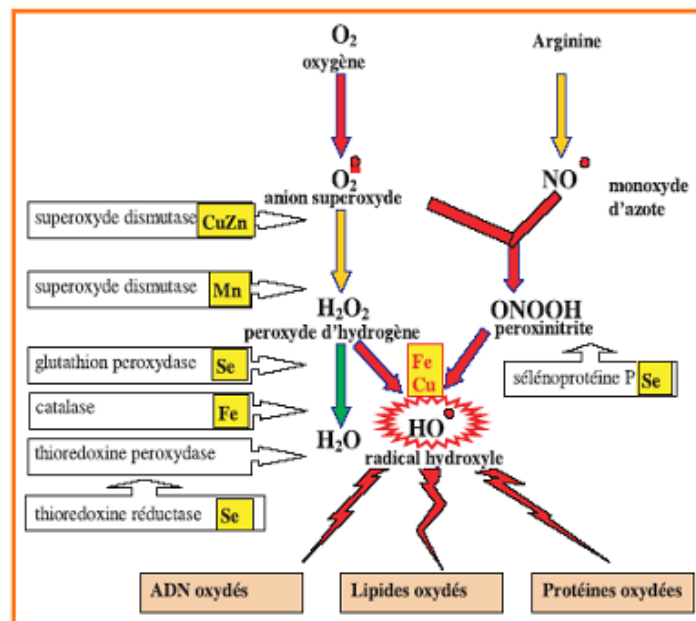


Figure 2 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier et Coll., 2004).

3-2- Les molécules antioxydantes

3-2-1- La vitamine C

La vitamine C (ou acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle est hydrosoluble à la concentration physiologique.

La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée ([Chen et Coll., 2000](#); [Soares, 2005](#)).

3-2-2 -La vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ avec une activité antioxydante variable.

L'alpha- tocophérol (α -TocH) est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Il est admis que les radicaux tocophéryles sont régénérés par l'acide ascorbique et que, sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs ([Can et Coll. 2000](#); [Soares, 2005](#)). Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' α -TocH, connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical $R00\cdot$, et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection ([Khalil et Coll., 2004](#); [Soares, 2005](#)).

3-2-3- Le sélénium

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisin de celui de la vitamine E. Cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anti-cancéreux et anti-vieillessement, attribués au sélénium ([Wolters et coll., 2002](#); [Soares, 2005](#)).

3-2-4 -Le zinc

Cet oligo-élément est un des co-facteurs essentiels de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction des protéines antioxydantes comme les métallothionéines.

Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (Mezzetti et Coll., 2004; Soares, 2005).

3-2-5-La quercétine

La quercétine est un flavonoïde-aglycone class de polyphénols, elle se trouve dans les fruits, légumes, huile d'olive, thé, elle manifeste avec un grand potentiel antioxydant de tous les autres flavonoïdes. L'activité antioxydante de quercétine est basée sur l'effet scavenger des radicaux libres c'est un réactive stabilisant des ROS (anions superoxyde) elle réagit avec les

ROS, ce résultat de combinaison entre le radical et interaction avec enzyme fonctionnelle (Boccard et Coll., 2004)

Les anions superoxyde sont responsables de la fragmentation de DNA, mais elle est prévenue par les composés phénoliques tels que les flavonoïdes, flavonol, quercétine (Yucra, Gasco et coll., 2004), Pour se protéger contre cet oxygène toxique, notre organisme dispose d'un réseau antioxydant très complexe composé d'enzymes, de protéines transporteuses du fer et du cuivre, de vitamines, de caroténoïdes, de flavonoïdes.

L'absorption d'oignons provoque après quatre heures une augmentation maximale et significative de la concentration plasmatique en flavonoïdes (quercétine-3-gluco- côté, isorhamnétine-4-glucoside) qui est associée avec une diminution maximale de la concentration urinaire.

En revanche, sur un traitement de longue durée, aucun effet n'est observé sur l'oxydation des lipides (Pincemala et Coll., 2007)

3-2-6-La N-acétyl céstiène

A faible dose, la NAC est protectrice, alors qu'à forte dose, probablement du fait d'une interaction avec le Fe, elle peut avoir des effets pro-oxydants délétères. Ainsi, quand la NAC est administrée conjointement avec la déféroxamine, un chélateur de fer, la production d'anion superoxyde est diminuée et la survie des animaux septiques réanimés est augmentée (Dervaux et Coll., 2006).

NAC précurseur du glutathion

La N-Acétyl cystéine est une molécule synthétique, précurseur du principal antioxydant cellulaire, le GSH, grâce à son résidu cystéine (Sener et Coll., 2003).

NAC, activité antioxydante

Comme pour le glutathion, l'activité antioxydante de la N-Acétyle Cystéine est supportée par les propriétés chimiques du groupement thiol (-SH) de la cystéine, capable de scavenger les radicaux libres (Sener et Coll., 2003)

La N-Acétyle cystéine a une grande affinité pour l'OH et l'HOCl (Areoma et Coll., 2001).

La NAC augmente l'activité des complexes I et IV de la chaîne respiratoire mitochondriale in vitro et in vivo. Elle stimule ainsi la respiration et la production d'ATP par les mitochondries, ce qui inhibe la génération des ROS (Banaclocha et Coll., 2001)

Plusieurs travaux ont montré que la NAC augmente l'expression de la catalase, enzyme d'un système antioxydant cellulaire (Polidoros, Scandaélios et coll., 2002)

NAC activité anti-apoptotique

La NAC protège différents types cellulaires contre une variété de stimuli pro apoptotiques, en inhibant le facteur de transcription NF-KB par réduction des groupements thiols de ses résidus cystéines, Elle active également les voie de signalisation intracellulaire, qui aboutissent à la production des molécules anti-apoptotique, comme la Bcl-2 (Zafarullah et Coll., 2003)

Ces effets protecteurs de la N-Acétyle cystéine sont dus à son activité antioxydante. La NAC est un puissant Scavanger des ROS, possédant une grande affinité pour l'OH et l'HOcl (Areoma et coll., 1989).

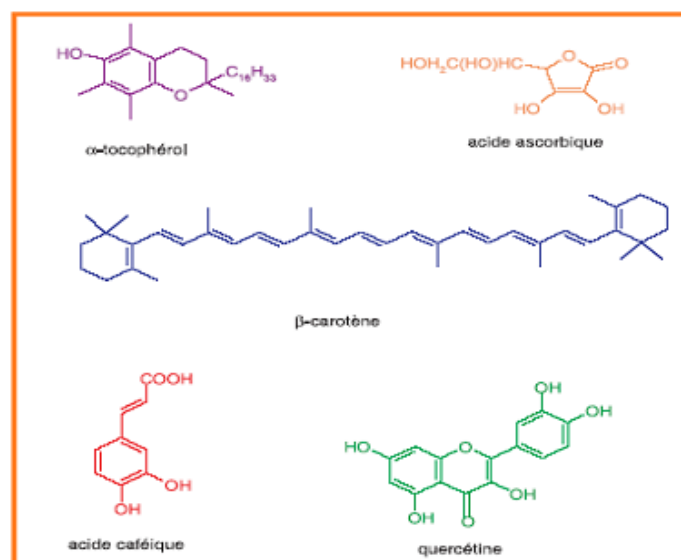


Figure 3 : Antioxydants d'origine alimentaire : α -tocophénol (vitamine E), acide ascorbique (vitamine C), β -carotène (famille des caroténoïdes), acide caféique et quercétine (famille des polyphénols) (Monique, 2003).

4- Le stress oxydant dans la cellule.

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre les espèces chimiques pro-oxydants et les systèmes de défense antioxydants, avec comme conséquences des altérations du fonctionnement cellulaire. Le stress oxydant a plusieurs origines.

Il peut provenir de l'environnement. Exposition prolongée au soleil, à l'ozone, tabagisme, consommation excessive d'alcool, contact avec des agents cancérigènes, consommation de médicaments, pollution, sont autant de situations qui génèrent un stress oxydant. Par ailleurs, plusieurs systèmes biochimiques de l'organisme sont à l'origine de la production d'agents pro-oxydants. C'est la découverte en 1969 du superoxyde dismutase (SOD) (Mccord, Fridovich, 1969; Soares, 2005).

Un enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène, qui a fait prendre conscience que la production de ROS est le corollaire inévitable de la vie en aérobie.

La production de peroxyde d'hydrogène par les mitochondries avait été démontrée auparavant (Jensen, 1966; Hinde et coll., 1967), amenant à citer une fuite de la chaîne mitochondriale comme la source probable de ROS.

En effet, il est généralement accepté que le complexe III mitochondrial est un générateur important d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) dans la cellule et que le changement d'activité de la chaîne respiratoire altère la production de ce radical libre (Poderoso et Coll., 1996; Soares, 2005).

Cependant pour certains auteurs, la production de ($O_2^{\cdot-}$) a une constante d'équilibre très en défaveur de sa production, qui est donc thermodynamiquement défavorable, ce qui signifie que la production de ($O_2^{\cdot-}$) n'est pas spontanée, contrairement à ce qui est généralement affirmé (Furchgott et Coll.) et ne peut survenir que lorsque l'équilibre est déplacé par le couplage à une seconde réaction comme la dismutation de ($O_2^{\cdot-}$) en H_2O_2 . Ainsi, ($O_2^{\cdot-}$) est un intermédiaire alors que la production de H_2O_2 est catalysée par la SOD. La production de H_2O_2 par les mitochondries est dépendante de la concentration en oxygène.

L'augmentation de la production de H_2O_2 n'est observée que pour des concentrations en oxygène très supérieures aux concentrations physiologiques. Par ailleurs, la fixation de NO^{\cdot} sur le cytochrome c oxydase inhibe le flux d'électron à travers le complexe III, ce qui augmente la réduction à travers la chaîne respiratoire et accroît la production de H_2O_2 . La production de H_2O_2 par les mitochondries a traditionnellement été considérée comme incontrôlée et H_2O_2 perçu comme un sous-produit toxique de la respiration.

De faibles concentrations en NO^{\cdot} se fixent sur le cytochrome c oxydase ce qui peut augmenter l'oxygène dans la membrane interne des mitochondries et stimuler la production de ($O_2^{\cdot-}$) par la réduction du complexe III. Mais si la concentration en NO^{\cdot} augmente, il peut réagir avec ($O_2^{\cdot-}$), ce qui est plus rapide que la dismutation en H_2O_2 , et produire du peroxy-nitrite.

Il a également été suggéré que le peroxydinitrite et NO^\bullet peuvent inhiber le complexe III et de la sorte augmenter la production de $(\text{O}_2^{\bullet-})$ et de H_2O_2 . Cette dernière est une molécule de signalisation aux propriétés variées dont une des propriétés est sa diffusibilité dans la cellule. Elle a d'ailleurs été impliquée dans plusieurs systèmes de signalisation (Bogoyevitch et Coll., 2000; Iles et Coll., 2002; Ramachandran et coll., 2002; Soares, 2005).

La question reste posée de savoir si le H_2O_2 produit par les mitochondries correspond ou non à un système de signalisation. La relation entre NO^\bullet et la production des radicaux oxygénés par les mitochondries reste pour l'essentiel incomprise.

5-Conséquences du stress oxydatif

Dans le cas de l'ADN, le radical hydroxyle réagit avec les bases en s'additionnant sur les doubles liaisons. (Figure 7)

Le radical hydroxyle peut également réagir avec les acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires et des lipoprotéines, initiant ainsi des chaînes de peroxydation lipidique (Figure 4)

De même, les acides aminés constitutifs des protéines sont très sensibles à l'attaque des radicaux hydroxyles. En outre, lorsqu'une protéine possède une fonction enzymatique, les radicaux hydroxyles sont susceptibles d'inactiver, tout au moins en partie, le site actif.

(Figure 5) (Monique, 2003).

5-1-Sur les acides gras

Les ROS peuvent attaquer les lipides, et plus particulièrement les acides gras polyinsaturés qui sont facilement oxydables. Ceci conduit à une réaction en chaîne de peroxydation lipidique, qui modifie la fluidité et la perméabilité de la membrane et peut aussi altérer le fonctionnement des protéines membranaires. La peroxydation des lipides est généralement initiée par un radical **R**, particulièrement réactif selon la réaction $\text{LH} + \text{R} \longrightarrow \text{L}^\bullet + \text{RH}$.

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



L'hydroperoxyde lipidique (LOOH) formé lors de la phase de propagation de la réaction de peroxydation est relativement stable. Cependant, en présence de métaux de transition, il peut reformer de nouveaux radicaux lipidiques (LO^\bullet radical alkoxyde ou LOO^\bullet radical peroxyde)

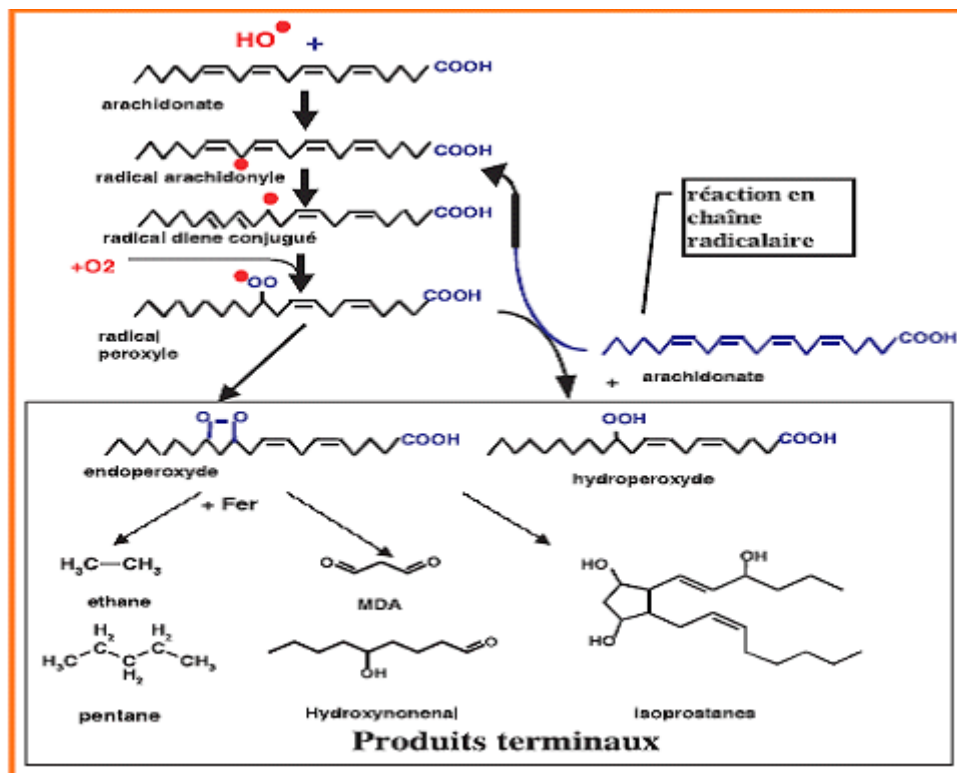
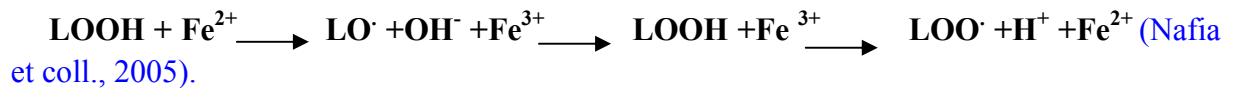


Figure 4 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier et Coll., 2004)

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxy formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical dièneconjugué.

Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution : être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) qui, de par leur volatilité, sont éliminés par voie pulmonaire. Le radical peroxy, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malonal dialdéhyde ou l'hydroxynonenal.

La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes (figure 3). Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires (Favier et Coll., 2004).

5-2-Sur les protéines

L'effet des ROS sur les protéines est complexe, allant de l'oxydation du squelette protéique, c'est à dire de la chaîne polypeptidique conduisant à son clivage, à celle des chaînes latérales de différents acides aminés. Certaines protéines voient leur activité augmenter suites à une oxydation, mais la plupart deviennent inactives. Ces processus réversibles d'oxydation et réduction, notamment des groupements thiols des résidus cystéines des protéines, sont impliqués dans bon nombre de processus de signalisation et de régulation de l'expression des gènes (signalisation redox). Ils nécessitent des concentrations des ROS bien plus faibles que celle requises pour induire des dommages oxydatifs irréversibles.

Le contrôle de la signalisation redox, est assuré notamment par le glutathion (GSH), tripeptide (γ -L-glutamyl-L-cystéinyl-glycine) aux fonctions antioxydantes, qui représente le thiol non protéique le plus abondant, dans les cellules des mammifères. Il permet de garder les groupements SH des protéines cellulaires sous forme réduite, contribuant ainsi au maintien du potentiel redox de la cellule et donc au maintien des processus de signalisation redox.

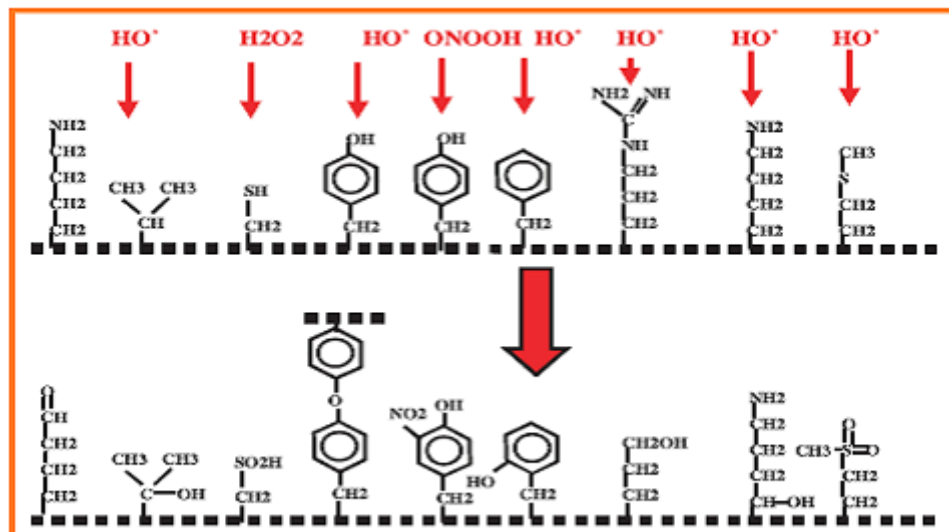


Figure 5 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier et Coll., 2004).

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire.

Les protéines peuvent alors soit subir des réticulations par formation notamment de ponts bi-tyrosine détectables par leur fluorescence, soit subir des coupures en cas d'agression forte, soit des modifications de certains acides aminés en cas d'agressions modérées. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (Favier et Coll., 2004).

5-3-Sur les acides nucléiques

Les ROS peuvent provoquer des lésions des acides nucléiques susceptibles d'entraîner des mutations ou d'altérer l'expression des gènes. Il peut y avoir jusqu'à 70 modifications oxydatives différentes des acides nucléiques, certaines affectant les bases d'autres induisant des cassures dans les brins. L'un des marqueurs d'une attaque oxydative des acides nucléiques est la présence de 8-hydroxy-guanine (8-OH-G) les dommages causés aux ARN_s ne sont pas réparés, en revanche, les processus de réparation de l'ADN semble pouvoir éliminer pratiquement sans erreurs les lésions oxydatif peut être compromise. Par ailleurs, les cassures des brins D'ADN causés par les ROS, activent la poly (ADP-didose) polymérase (PARP) et son activation prolongée peut rapidement épuiser les réserves énergétiques des cellules.

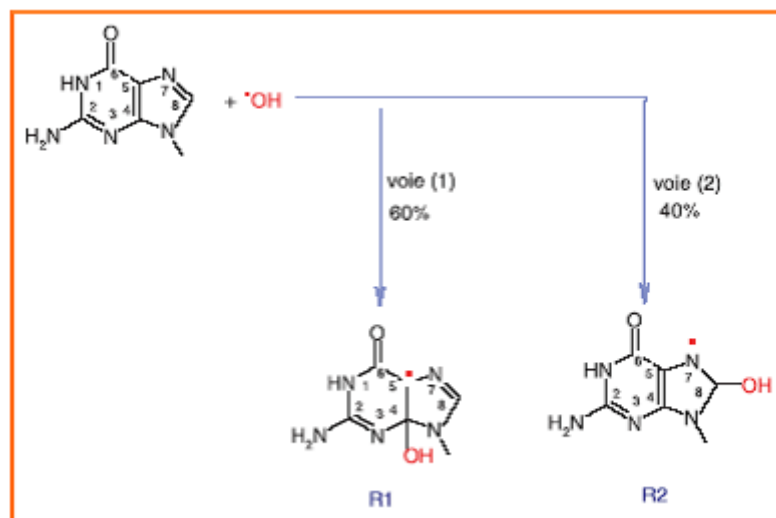


Figure 6: Illustration d'un mode d'action des radicaux hydroxyles (addition sur les doubles liaisons) avec une base de l'ADN, la guanine (Monique et Coll., 2003).

Deux radicaux libres sont formés : R1 (centré sur l'atome de carbone 5) et R2 (centré sur l'atome de carbone 7). Ce dernier (R 2) donne naissance à la 8- oxoguanine, un des principaux marqueurs du stress oxydant dans l'ADN.

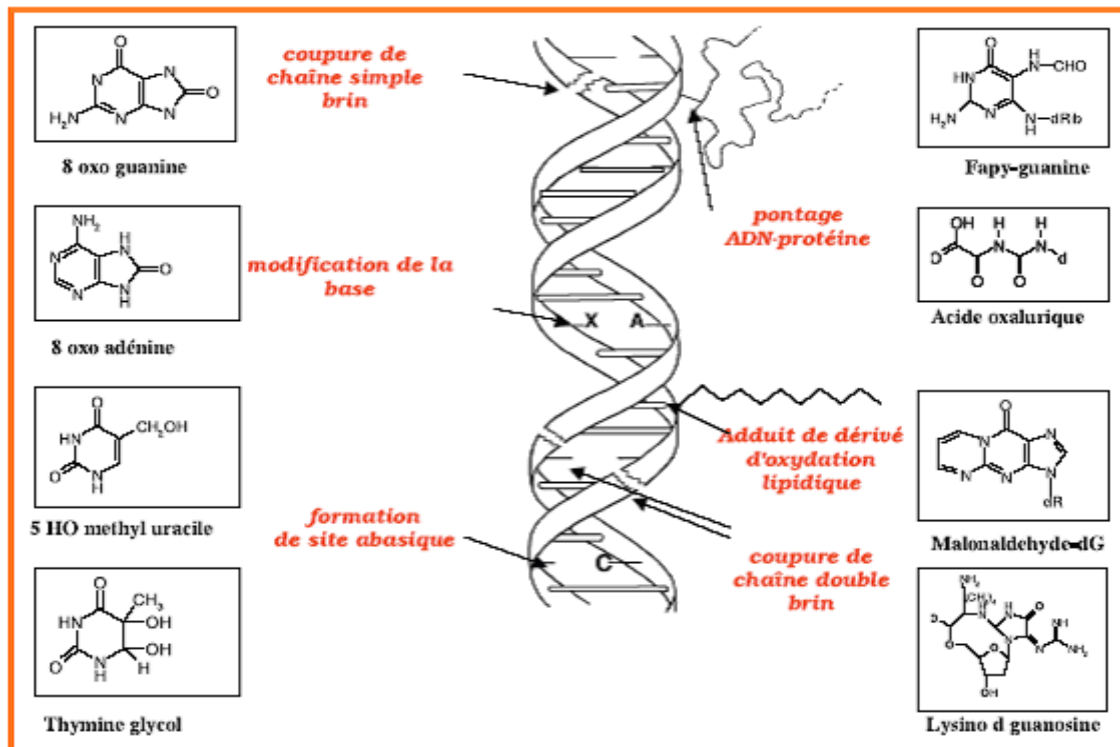


Figure 7 : Lésions de L'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier et Coll., 2004).

Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaires, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines. Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées : 8 oxo guanine, 8 nitroguanine, formamidopyrimidine, 8 oxo adénine, formimido uracile, 5 hydroxy cytosine, 5 hydroxy méthyl uracile, thymine diol, oxazolone. Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant unité abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin.

Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine ou éthénodérivés.

L'attaque radicalaire des protéines qui sont très nombreuses à entrer en contact avec l'ADN pour le protéger (histones) ou pour le lire (enzymes et facteurs de la réplication ou de la transcription), entraîne des pontages des protéines ou des adduits sur des bases de type lysinoguanine.

Le rôle des nombreux métaux fixés à l'ADN, qui est un poly anion (Fe, Mg, Zn, Cu, Ni, Cd...), est crucial pour amplifier ou orienter le profil de ces lésions. Cette attaque de l'ADN est quotidienne puisque le nombre de lésions se formant chaque jour dans une cellule est estimé à 104.

Heureusement, la fidélité de la séquence des 4.10⁹ paires de bases de notre ADN cellulaire est maintenue depuis des milliers d'années et dans des milliards de cellules grâce à des systèmes de réparation perfectionnés, dont les principaux sont la réparation par excision de base (BER) ou par excision de nucléotide (NER), couplées ou non à la transcription, le système de réparation des mésappariements et la réparation par recombinaison (figure 7).

Malheureusement, ce beau mécanisme peut se dérégler soit par une surcharge de lésions en cas de stress massif, soit par un mauvais fonctionnement de ces systèmes de réparation chez des sujets déficients en cofacteurs (thioredoxines, zinc) ou atteints d'une anomalie génétique. Dans ce cas, les lésions non réparées vont perturber les mécanismes de réplication de l'ADN et entraîner soit des erreurs de lecture et de synthèse par des ADN polymérases translésionelles infidèles aboutissant à une mutation ponctuelle dans le génome, soit une impossibilité de copie de l'ADN qui aboutira à la mise en route du suicide programmé des cellules par un mécanisme appelé apoptose.

Enfin, cette modification de l'ADN induit des mutations par transversions GC (guanine/cytosine) vers TA (thymine/adénine) souvent observées spontanément dans les cellules cancéreuses (Favier et coll., 2004).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

2.1-Matériel

2.1.1- Equipement

- Haute à flux laminaire équipé d'un dispositif complet pour irradiation ultraviolette, poste de sécurité microbiologique, poste de contrôle de flux laminaire.
- Autoclave de paillasse.
- Congélateur vertical (Température allant de -26 à -9°C).
- Congélateur vertical (Température allant jusqu'à -86°C).
- Microscope inversé complet pour observation en culture cellulaire.
- Pompe aspirante manuelle.
- Pompe aspirante électrique.
- Poste de sécurité microbiologique de type II.
- Réservoir de stockage et de transport d'azote liquide (capacité 26 L).
- Réservoirs de stockage cryobiologique (capacité 13 et 5.2 L).
- Agitateur magnétique chauffant (Température allant jusqu'à 300°C).
- Agitateur type vortex.
- Balance de précision.
- Centrifugeuse de paillasse Dispositif complet.
- Pipettes automatiques.
- pipettes manuelles autoclavable.
- Spectrophotomètre UV-visible.
- Dispositif complet pour irradiation ultraviolette.
- Etuve pour séchage
- PH-mètre.
- Bain marie.
- balance électrique
- Étuve à 37°C, 0.5% de CO₂.

2.1.2-Consommable

- Matériels de cultures stériles :
- Verrerie.
- Boite de Pétri.
- Microplaques 24 puits, 96 puits, 6puits a fond pour culture cellulaire.
- Cônes stérile.
- Flacons pour culture cellulaire stérile.
- Petit et grand filtre de 0.5µm.
- Pipettes.
- Embouts.
- Flasks de culture.

2.1.3-Locaux

- une salle pour la congélation et la conservation des lignées cellulaires.
- une salle pour préparation des milieux de culture et le contrôle physicochimique.
- une salle pour la manipulation et incubation équipée d'un dispositif pour irradiation ultraviolette.
- une salle pour le lavage des verreries.
- une salle pour la stérilisation.

2.1.4-Réactif chimique et biologique

- DMEM.
- 10% du SVF.
- Glutamine.
- Antibiotique.
- Trypsine-Versène: pH [7.2 - 7.3]
- L'eau physiologique.
- Lignées cellulaires VERO, SP2.
- Bleu trypan (0.4%).
- Eau oxygénée.
- Bicarbonate de sodium à 0.1M.
- Solution de griess.

- NBT.
- PMA.
- PBS.
- Acide acétique à 20 %.
- SDS à 8.1%.
- TBA à 0.8%.
- Eau distillée.
- Lactate.
- NAD.
- Acide sulfasalial à 5%.
- Tampon phosphate (0.2M, PH=8).
- DTNB (0.6mM).

2.2-Méthodes

Après la désinfection du matériel et élimination du milieu ancien, les flasques de culture sont rincés, la trypsine est renouvelée. Les cellules seront par la suite surveillées par microscope.

Pour inactiver la trypsine un milieu complémenté est rajouté, nous prélevons d'une fraction de la suspension pour le dénombrement après une série d'aspiration refoulements prolongée pour détacher les cellules.

Mise en culture des cellules Vero et SP2

Les cellules ($2.5 \cdot 10^5$ /puits) sont cultivées en plaque de 24 puits à fond plat en présence d'une gamme d'indométacine (50, 75, 100, 150, 250, 1500, 4500 μ M final) et d'un contrôle milieu seul. On déposera dans la plaque 500 μ l d'une suspension de cellules, les dilutions des gammes étalon sont faites directement dans la plaque pour un volume final de 1 ml.

Une deuxième série est réalisée en présence des mêmes doses d'indométacine associée avec 15 μ M de quercétine pendant 24 h.

Une troisième série est réalisée en présence des mêmes doses d'indométacine associée avec 50 μ M de NAC pendant 24 h.

Une quatrième série est réalisée en présence des doses croissantes de quercétine (5, 10, 25, 50, 75, 100, 300 μ M) pendant 24 h.

Une cinquième série est réalisée en présence des doses croissantes de NAC (25, 50, 75, 100, 300 μ M) pendant 24 h.

Les anions superoxyde sont dosés 24 h après incubation, Les surnageants de culture sont récupérés et conservés à -80 °C jusqu'au jour du dosage.

2.2.2.1-Dosage de nitrites (NO⁻)

Le dosage des métabolites de NO⁻ a été réalisé selon la méthode colorimétrique de Griess, (1879), basée sur une réaction de diazotation en deux étapes.

Les nitrites forment un sel de diazonium avec l'acide sulfanilique qui est ensuite couplé avec une fonction amine (N-naphtyléthylène diamine) pour donner un colorant azoïque (rose) qui absorbe à 540 nm (Grand et Coll., 2001 ; Sun et Coll., 2003).

L'analyse de la production de NO⁻ a été faite au niveau du surnageant de deux systèmes cellulaires.

Le monoxyde d'azote NO⁻ dans le surnageant de culture des VERO et SP2 est quantifié de manière indirecte par le dosage de nitrites NO₂⁻ un métabolite stable de NO⁻ ces derniers sont mesurés par la méthode de griess.

Un volume de surnageant de culture est mélangé avec un même volume de sulfanilamide à 1 % à 37°C, après 10 minutes, le même volume de N-naphthylène- diamine dihydrochloride à 0.1% est ajouté.

La lecture de la densité optique à 540 nm du mélange est effectuée après 10 min d'incubation à 37°C les concentrations des nitrites en nmoles/ml/ mg protéines sont calculées à partir d'une courbe d'étalon, établie avec une solution du NaNO₂ de 0 à 400µM.

2.2.2.2-dosage des anions superoxydes (O₂⁻)

La production des anions superoxyde a été mesurée par la méthode spectrophotométrique dans laquelle les anions superoxyde O₂⁻ sont produits par l'activité NADPH oxydase.

Pour un volume réactionnel final de 1 ml, l'échantillon contient 800 µl de la suspension cellulaire par le PBS⁺⁺, 195 µL de NBT, 5 µl de PMA, le mélange est incubé à 37 °C pendant 30 min.

L'activité des anions superoxyde se traduit par un virage de couleur (jaune, bleu) et une augmentation de la densité optique détectée à 550nm.

2.2.2.3- Dosage du taux de malondialdéhyde (MDA)

Le stress oxydatif aboutit à une attaque des composés cellulaires, les molécules biologiques expliquent la peroxydation lipidique.

Le protocole utilisé est celui de (Lefèvre et Coll., 1998), le dosage repose sur la formation en milieu acide et à chaud (100°C) entre le MDA et deux molécules thiobarbiturique TBA d'un pigment rose absorbant à 530 nm après précipitation des homogénats par centrifugation à (3000g, +4°C, 10 min).

100µL de chaque surnageant est additionné à 150 µl d'acide acétique à 35%, 150 µl d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0.8%, 50 µL SDS à 8%. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 1 h et refroidit dans un bain glacé, la densité optique est déterminée par spectrophotométrie à 532 nm. Le taux de MDA mesuré est exprimé en nmoles/ml/ mg protéines.

2.2.2.4-Dosage du glutathion GSH

Le dosage du glutathion réduit a été réalisé selon la méthode d'Ellman, (1959).

Cette méthode est basée sur la formation d'une couleur jaune quand l'acide dithionitrobenzoïque (DNTB, réactif d'Ellman) se lie à des groupements sulfhydriles

(Padmondabhan et Coll., 2006).

La mesure du GSH se fait une fois les surnageants sont récupérés, 150 µl de chacun est incubé en présence de 300 µL de l'acide sulfosalicylique 5% à froid à (+4°C) dans la glace pendant 1h, suivie d'une centrifugation à 3000g pendant 10 min à +4 °C.

100µl de chaque surnageant après centrifugation est mis en présence de 0.2 ml de DTNB (0.6 mM), 0.9 ml de TP (0.2 mM, PH=8), 0.1 ml du chaque surnageant centrifugé; après 9 min la réaction sera suivie à 410 nm dans une cuve en quartz.

Les taux du GSH sont exprimés en nmoles/ ml/mg protéines.

2.2.2.5-Dosage de l'activité du lactate déshydrogénase (LDH)

La LDH est une enzyme qui transforme la lactate en pyruvate en transformant NADPH en NAD, la mesure de la LDH est indirecte par le dosage de NADPH formée.

100 µl de chaque surnageant est incubé en présence de 2.4 ml du lactate (0.33%) dans du TP (10 mM à PH=9), 100µL de NAD (6 mM) le mélange réactionnel est bien mélangé à 30°C dans des cuves en quartz.

La réaction est déclenchée par l'addition de 100 µl de surnageant cellulaire au milieu

réactionnel et la vitesse de formation du NADH est suivie pendant 3 min (Wahlefeld, 1983).

L'activité LDH est exprimée en n moles de NADH formées/ ml/min/ mg protéines.

2.2.2.6-Dosage de la catalase

L'activité de la catalase a été mesurée selon la technique décrite par (Starrs et Coll., 2001). La mesure est basée sur la détermination du taux de décomposition H₂O₂ selon la réaction suivante :



Une fois les surnageants sont récupérés 100 µl de chaque est mis en présence de 10 mM d'H₂O₂, 900µL (TP, 50mM, PH=7), la réaction se déroule à 25 °C pendant 2 min, la diminution de l'absorbance est suivit à 240nm.

L'activité de la catalase est exprimée en µmoles /ml/min/mg de prot.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I- Résultats

I-1-Effet de la NAC quercétine sur la toxicité à l'indométacine chez les VERO

I-1-1-Effet de la NAC quercétine sur la production de nitrites par les VERO en présences des concentrations croissantes d'indométacine

I-1-1-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les VERO

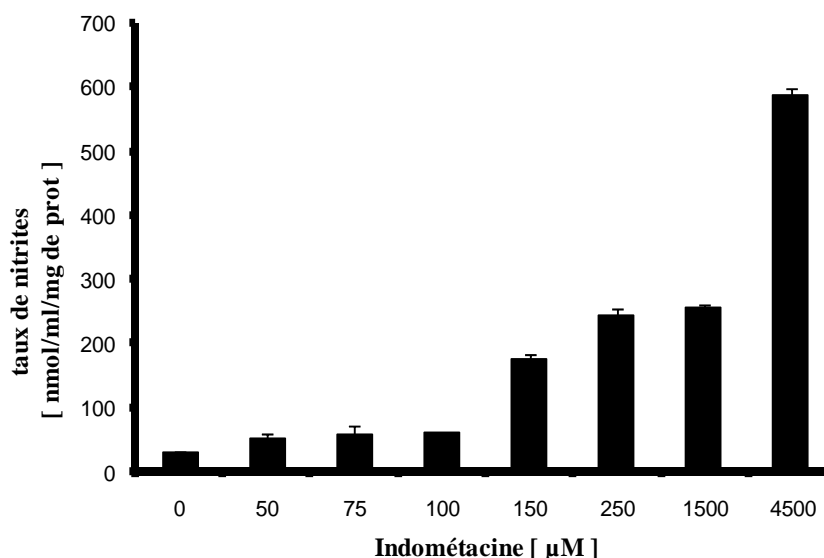


Figure 8 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les cellules VERO en culture.

Les cellules dérivées de rein de singe (lignée VERO), en culture libèrent un taux basal de nitrites égal à 26.49 ± 0.74 nmol/ml/mg de prot.

Le traitement pendant 24 heures de cellules VERO par 50, 75 et 100 μM d'indométacine augmente fortement les taux de nitrites, mesuré dans les surnageants de culture. Les pourcentages d'augmentation sont respectivement de 87.754%, 116.33%, 128.57%.

Ces cellules traitées par des concentrations plus élevées d'indométacine 150, 250, 1500 et 4500 μM libèrent des taux excessifs de nitrites. Les pourcentages au témoin (26.49 ± 0.74 nmol/ml/mg de prot) sont respectivement de 559.18%, 813.33%, 861.22%, 2118.37 (tableau1, figure8).

I-1-1-2-Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine

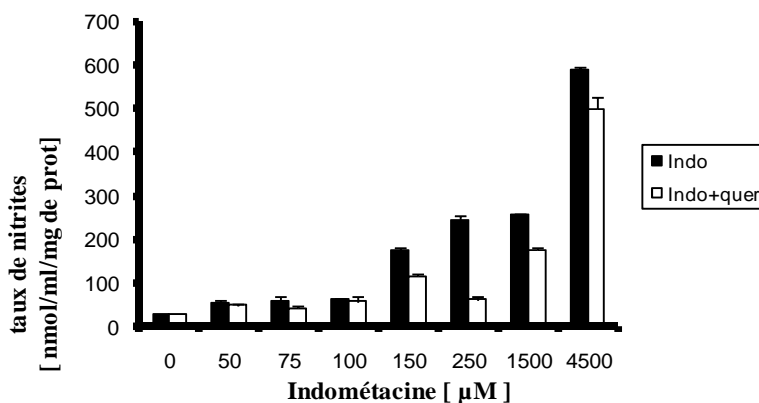


Figure 9 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

La mise en culture des cellules VERO en présence de (50 μM , 75 μM et 100 μM) et 15 μM de quercétine n'a pas d'effet marqué sur nitrites, 4.35%, 31.13%, 9.82%. Tandis que le prétraitement par la même dose de quercétine en présence de (150 μM , 250 μM , 1500 μM , 4500 μM) d'indométacine les réduit légèrement.

Les pourcentages respectifs sont de 34.67%, 74.72%, 31.63%, 15.8%, comparés aux cellules traitées uniquement par l'indométacine (Tableau 2, figure 9).

I-1-1-3-Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine

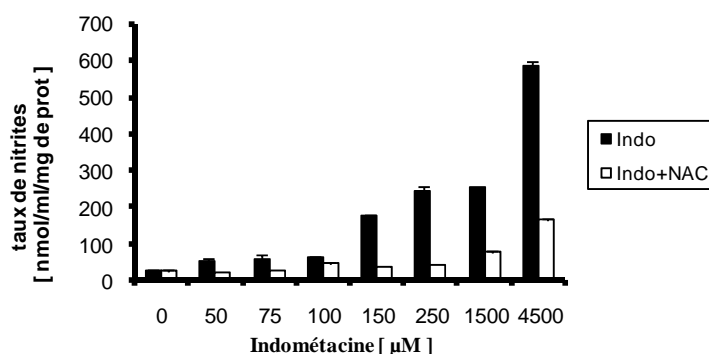


Figure 10 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine

Le prétraitement des VERO par 50 μM de NAC en présence des concentrations croissantes d'indo contrôle différemment le taux de nitrites.

En présence de (50, 75, 100 μM) d'indo la présence de 50 μM de NAC réduit partiellement le taux de nitrites. Les pourcentages sont respectivement de 64.13%, 60.32%, 25.89%

L'effet protecteur maximal de la NAC contre la production des nitrites est mesuré par la même concentration de NAC (50 μM) en présence des concentrations plus élevées d'indométacine (150 μM , 250 μM , 1500 μM , 4500 μM). Cet effet est traduit par les pourcentages respectifs (78.64%, 82.32%, 71.76%, 71.89%), mesurés par rapport au traité par d'indo seul (Tableau 3, figure 10).

I-1-1-4-Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO

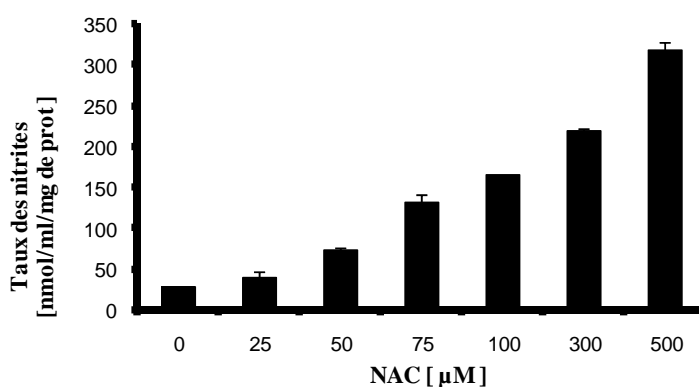


Figure 11 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO.

Le prétraitement des VERO par (25 μM , 50 μM , 75 μM) de NAC réduit faiblement le taux de nitrites. Les pourcentages respectifs sont de (44.9%, 173.47%, 397.96%) du taux de nitrites mesuré chez les VERO témoin (26.49 \pm 0,0014 nmol/ml/mg de prot).

Au contraire l'administration de la NAC à des concentrations plus élevées (300 μM , 500 μM) provoque une augmentation très remarquable de nitrites qui plafonne à 726.13%, 1100%, comparés aux témoins non traité (26.49 \pm 0,76nmol/ml/mg de prot) (tableau 4, figure11).

I-1-1-5-Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO

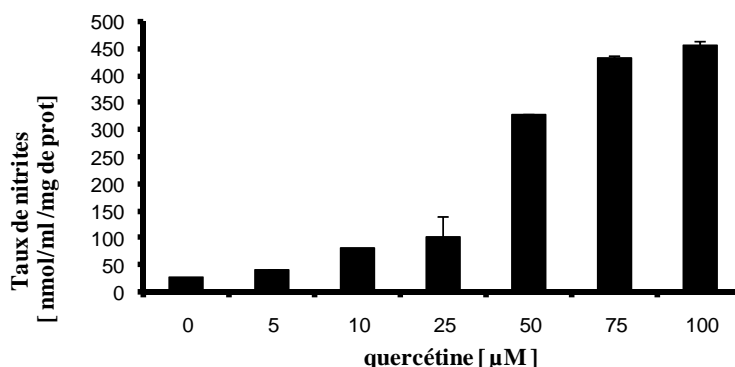


Figure 12 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO.

Les cellules VERO traitées par (5µM, 10µM, 25µM) de quercétine augmentent les taux de nitrites. Les pourcentages d'augmentation au témoin sont de (48.89%, 204.08%, 283.67%).

Cependant le traitement par des concentrations plus élevées de Quercétine (50µM, 75µM, 100µM) les augmente fortement. Les pourcentages respectifs sont de 1132.65%, 1538.77 %, 1555.1%, mesurés par rapport au témoin non traité (0%, 26.49±0,76nmol/ml/mg de prot) (Figure 12, tableau 5).

I-1-2-Effet de la NAC quercétine sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulé par le PMA en présences des concentrations croissantes d'indométacine

I-1-2-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA

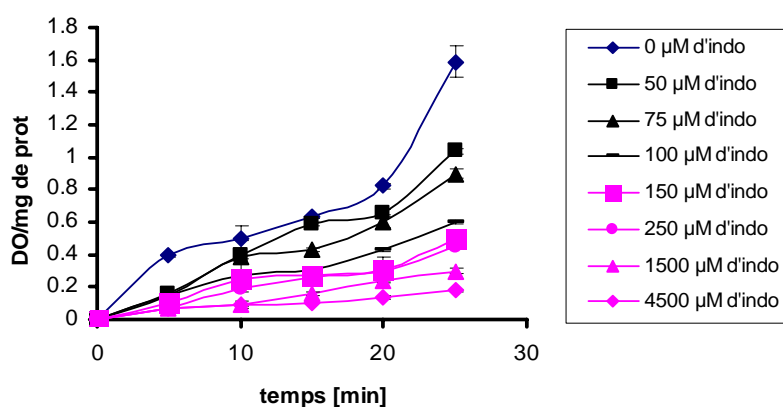


Figure 13 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA

Le traitement des VERO par (25µM, 50µM, 75µM) d'indométacine après 24 h de culture réduit partiellement le taux des anions superoxyde. Les pourcentages respectifs au témoin sont de (65%, 56.41%, 37.31%), mesurés par rapport au témoin non traité. Cependant le traitement de ces cellules par des concentrations plus élevées d'indométacine (100µM, 150µM, 250µM, 1500µM, 4500µM) les réduit fortement. Les pourcentages au témoin sont respectivement de (31.44%, 28.17%, 19.61%, 11.06%), comparés au témoin non traité (Tableau 6, figure 13).

I-1-2-2- Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des concentrations croissantes d'indométacine stimulée par le PMA par les VERO

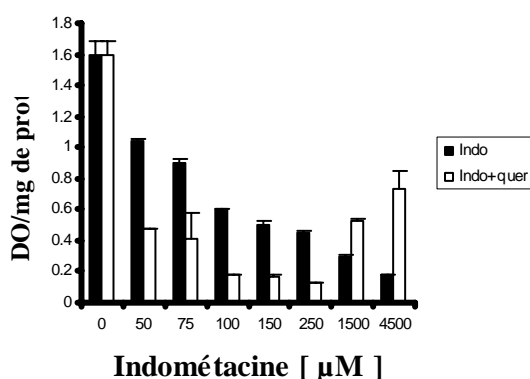


Figure 14 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des concentrations croissantes d'indométacine par les VERO stimulée par le PMA

Un prétraitement par la Qr 15 µM après un traitement par l'indo a neutralisé les taux des anions superoxyde.

Les pourcentages de réduction sont respectivement de 54.57%, 53.62%, 70.06%, 65.4%, 39.5%, mesurés par rapport au VERO traitées par les concentrations croissantes d'indométacine seulement (25µM, 50µM, 75µM, 100µM, 150µM, 250µM).

Au contraire, en présence des concentrations plus élevées d'indométacine (1500µM, 4500µM), le prétraitement par la Qr 15 µM augmente fortement la production d'anion superoxyde. Les pourcentages d'augmentation sont respectivement de 79%, 310% du taux d'anion superoxyde libéré par les VERO traitées par 1500µM, 4500µM d'indo seulement (Tableau 7, figure 14).

I-1-2-3-Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des concentrations croissantes d'indométacine stimulée par le PMA par les VERO

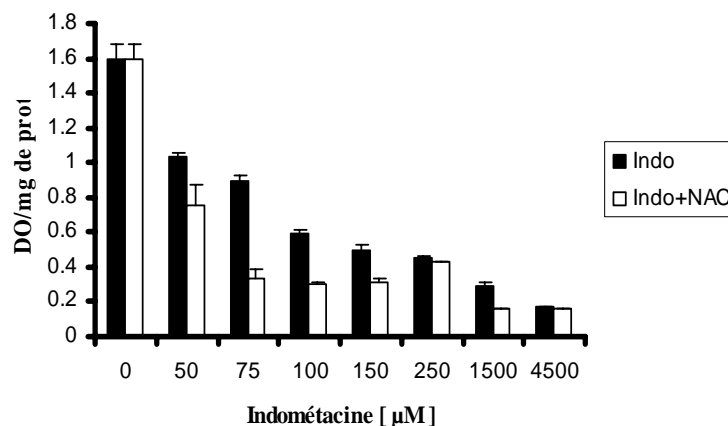


Figure 15 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des concentrations croissantes d'indométacine par les VERO stimulée par le PMA

L'effet protecteur de la NAC contre les anions superoxyde est partiel, en présence des concentrations croissantes d'indo (50µM, 75µM, 100µM, 150µM, 250µM, 1500µM, 4500µM). Les pourcentages sont respectivement de (27.81%, 62.87%, 48.66%, 38%, 3.12%, 45.94%, 8.5%), mesurés par rapport au VERO traitées par l'indométacine seulement (Tableau 8, figure15).

I-1-2-4-Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde stimulé par le PMA par les VERO

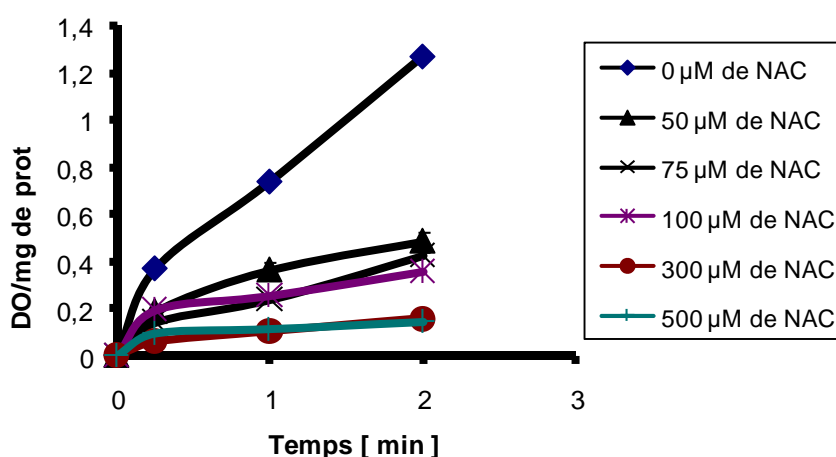


Figure 16 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde stimulé par le PMA par les VERO.

Le traitement par la NAC (25 μ M, 50 μ M, 75 μ M, 100 μ M) réduit les taux des anions superoxyde. Les pourcentages respectifs sont de 71.44%, 55.36%, 34.15%, 33.97, 14.37%. Tandis que le traitement des cellules VERO par des dose élevées de la NAC (300 μ M, 500 μ M) les réduit fortement et respectivement 14.37%, 10.84%, mesurés par rapport au témoin VERO non traité (Tableau 9, figure 16).

I-1-2-5-Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde stimulé par le PMA par les VERO

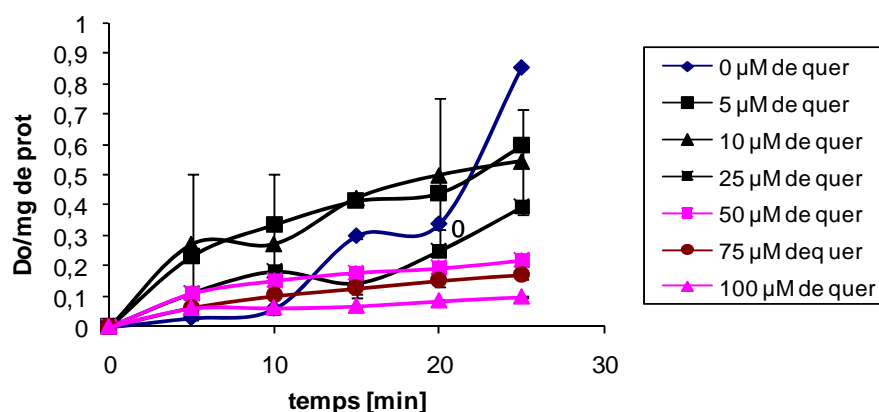


Figure 17 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde stimulé par le PMA par les VERO

Le traitement par les faibles concentrations de quercétine (5 μ M, 10 μ M) réduit légèrement le taux en anions superoxyde. Les pourcentages respectifs sont de (69%, 63.52%), alors que le traitement par des concentrations plus élevées de quercétine (50 μ M, 75 μ M, 100 μ M) les réduit fortement. Les pourcentages au témoin sont respectivement de (25.64%, 20.20%,11.65%) (Tableau 10, figure 17).

I-1-3-Effet de la NAC quercétine sur la peroxydation lipidique (MDA) des VERO en présences des concentrations croissantes d'indométacine

I-1-3-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la peroxydation lipidique des VERO

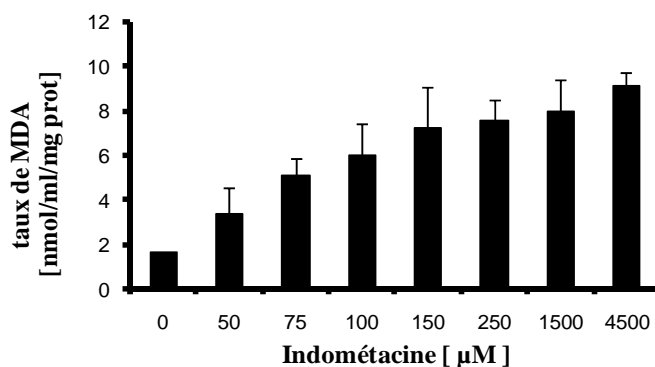


Figure18 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la peroxydation lipidique des VERO

Le traitement par (50 μM , 75 μM , 100 μM) d'indométacine après 24 heures en culture augmente à deux fois la peroxydation lipidique, mesurée dans les surnageants de culture témoin. Les pourcentages respectifs sont de (105.7%, 211.43%, 265.71%) du taux de MDA mesuré chez le témoin non traité (1.645 \pm 0.0329 nmol/ml/mg de prot).

Les cellules VERO traitées par des concentrations plus élevées d'indo (150 μM , 250 μM , 1500 μM , 4500 μM) potentialise la production de MDA, d'une manière très élevée (x 4) (340%, 360%, 382.86%, 454.28%), du taux de MDA mesuré chez les VERO non traitées (Figure 18, tableau 11).

I-1-3-2-Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine

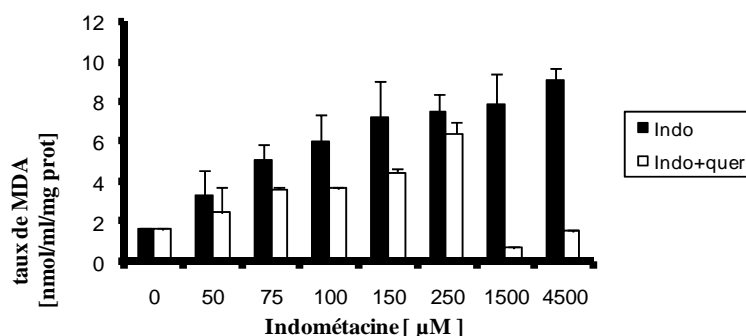


Figure 19 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine

Le prétraitement par 15 μM de quercétine en présence des concentrations croissantes d'indo (50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 250 μM) prévient partiellement la peroxydation lipidique et la réduit. Les pourcentages de réduction sont respectivement de (26.38%, 28.44%, 38.28%, 38.31%, 14.9%), par rapport au VERO traité par l'indométacine seulement.

Contrairement au prétraitement par la même dose de Qr 15 μM en présence des fortes concentrations d'indo (1500 μM , 4500 μM) prévient totalement la peroxydation lipidique (90.88%, 82.99%), par rapport au taux de MDA libéré par les VERO traitées uniquement par l'indo (figure19, tableau12).

I-1-3-3-Effet de la NAC sur la peroxydation des lipides des VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine

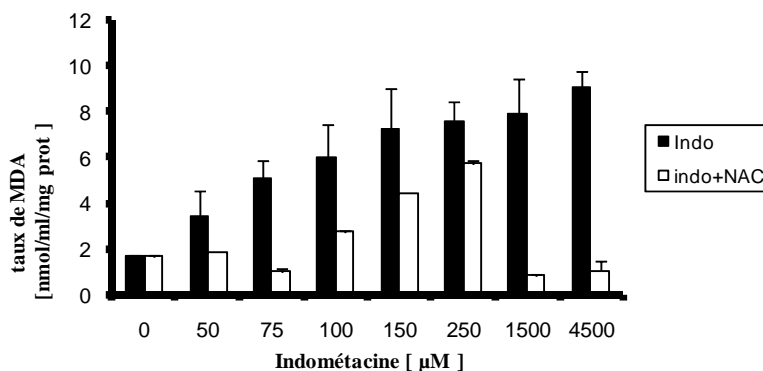


Figure 20 : Effet de la NAC sur la peroxydation des lipides des VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

Le prétraitement par la NAC 50 μM simultanément à des concentrations croissantes d'indo (50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 250 μM) a partiellement prévenue la formation de MDA. Les pourcentages respectifs sont de (47.2%, 80.73%, 54.69%, 34.41%, 24.22%) comparés au taux de MDA libéré par les cellules VERO traitées uniquement par l'indo seul.

Au contraire le prétraitement par la même dose de NAC en présence de très forte dose d'indo (1500 μM , 4500 μM) a efficacement prévenue la peroxydation lipidique respectivement de (89.94%, 88.92%), mesurés par rapport aux cellules VERO traitées uniquement par l'indo (Tableau13, figure 20).

I-1-3-4-Effet de la NAC sur peroxydation lipidique des VERO

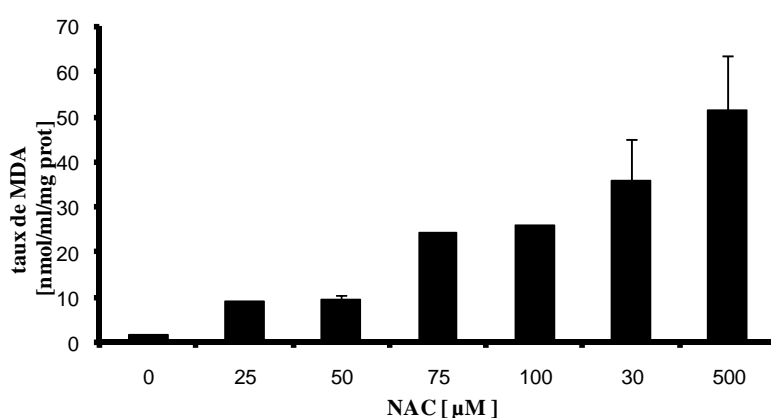


Figure 21 : Effet de la NAC sur peroxydation lipidique des VERO.

L'administration de la NAC a provoqué une augmentation de MDA au témoin non traité (1.645 ± 0.0329 nmol/ml/mg de prot) de (454.28%, 480%). Cette augmentation a été attribuée respectivement à des concentrations de NAC (25 μM , 50 μM), alors que le traitement par (75 μM , 100 μM) de NAC induit une augmentation importante de MDA qui oscille entre 1385.4 % et 1477.4 % et qui plafonne à 2077.14 %, 3040% respectivement après un traitement par la NAC 300 μM et 500 μM (Figure 21, tableau 14)

I-1-3-5-Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO

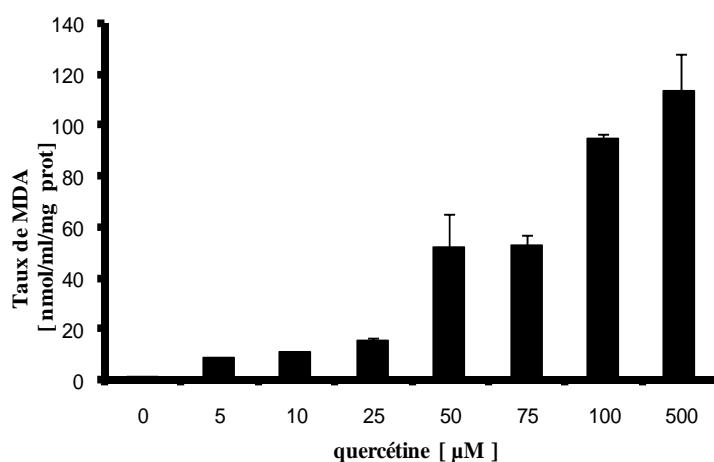


Figure 22 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO.

La quercétine à son tour interfère différemment sur la peroxydation lipidique.

Le traitement par des faibles concentrations de quercétine (5 μM , 10 μM , 25 μM) augmente les taux de MDA. Les pourcentages d'augmentation au témoin sont de 437.17%, 457.28%, 837.14% respectivement.

L'administration des concentrations plus élevées de quercétine (50 μM , 75 μM , 100 μM , 300 μM) augmente fortement la peroxydation lipidique au témoin non traité (1.645 \pm 0.0329 nmol/ml/mg de prot). Les pourcentages respectifs sont de (645.76, 3134.28%, 5671.04%, 6814.28%) (Figure 22, tableau 15).

I-1-4-Effet de la NAC quercétine sur le système antioxydant (GSH) en présences des concentrations croissantes d'indométacine chez les VERO

I-1-4-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur le système antioxydant (GSH) chez les VERO

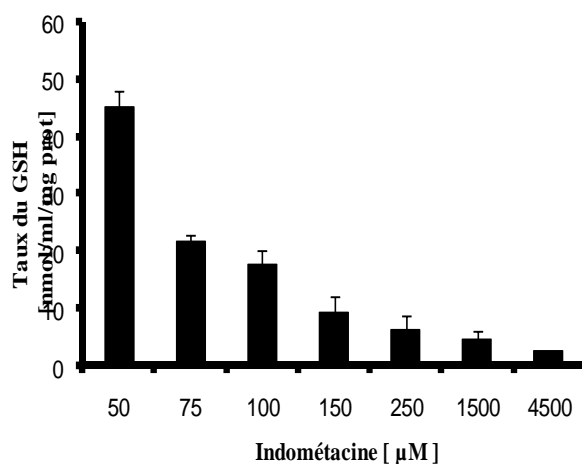


Figure 23 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur le système antioxydant (GSH) chez les VERO.

Le Taux du GSH chez les VERO traitées par 50 μM d'indo est pratiquement équivalent chez les VERO non traité, tandis que les VERO traitées par (75 μM , 100 μM) d'indométacine le réduit partiellement.

Contrairement aux concentrations très élevées d'indo 250 μM , 1500 μM , 4500 μM où la réduction du GSH est pratiquement totale (Figure 23, tableau16).

I-1-4-2-Effet de la quercétine sur le système antioxydant (GSH) en présence des concentrations croissantes d'indométacine par les VERO

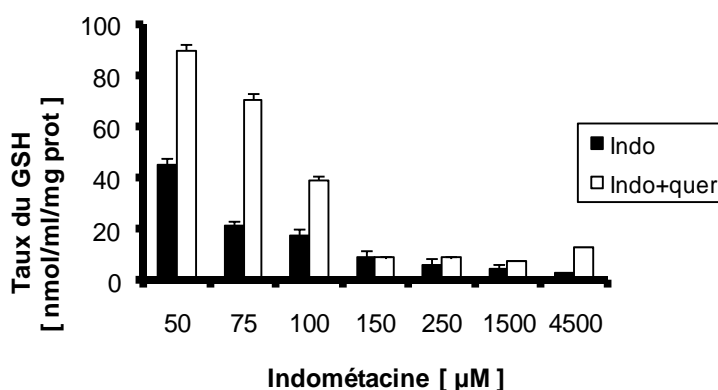


Figure 24 : Effet de la quercétine sur le système antioxydant (GSH) en présence des concentrations croissantes d'indométacine par les VERO

L'administration de quercétine 15 μM en présence des concentrations croissantes d'indo (50 μM, 75 μM, 100 μM, 150 μM, 250 μM, 1500 μM, 4500 μM) restaure efficacement la production du GSH, qui rattrape le témoin par plus de 200%, comparés aux VERO traitées par l'indométacine (50 μM, 75 μM, 100 μM, 150 μM).

Tandis que le traitement par 4500 μM en présence de 15 μM de Qr, augmente les taux en GSH trois fois par rapport au traité par 4500 μM d'indométacine seul (378.3%) (Figure 24, tableau 17).

I-1-4-3-Effet de la NAC sur le système antioxydant (GSH) en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les VERO

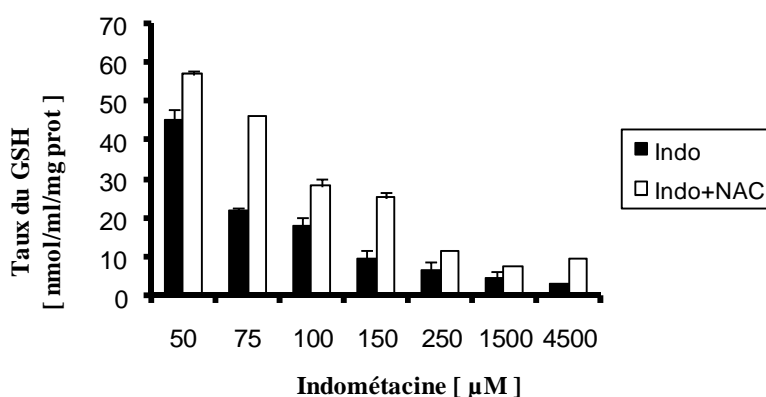


Figure 25 : Effet de la NAC sur le système antioxydant (GSH) en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les VERO.

Le prétraitement par 50 μ M de NAC simultanément aux différentes concentrations d'indo (50 μ M, 75 μ M, 100 μ M, 150 μ M, 250 μ M) augmente fortement la production du GSH qui atteint des taux très élevés.

Les pourcentages respectifs sont de 26.7%, 112.33%, 60.35%, 160.55%, 76.22%, mesurés par rapport aux cellules VERO traitées uniquement par l'indométacine.

Cependant le traitement par 4500 μ M d'indo en présence de 50 μ M de NAC restaure efficacement la production du GSH, plus que trois fois celle du traité uniquement par 4500 μ M d'indo (232.94%) (Figure 25, tableau 18).

I-1-4-4-Effet de la NAC sur le système antioxydant (GSH) chez les VERO

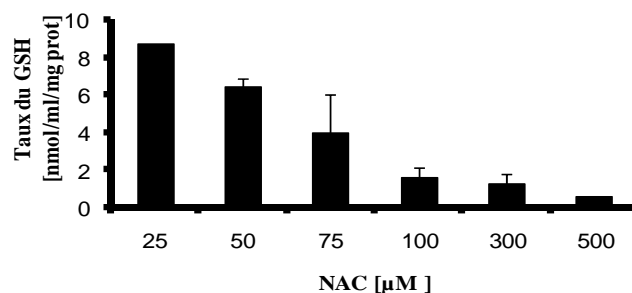


Figure 26 : Effet de la NAC sur le système antioxydant (GSH) chez les VERO.

La présence de 25 μ M de NAC n'interfère pratiquement pas sur la production du GSH chez les VERO qui reste très élevée.

La réduction des taux du GSH commence à apparaître après l'administration de (50 μ M, 75 μ M) de NAC, tandis que le traitement par des concentrations très élevées de NAC (100 μ M, 3000 μ M, 500 μ M) les réduit totalement par rapport au témoin non traité (Figure26, tableau19).

I-1-4-5-Effet de la quercétine sur le système antioxydant (GSH) chez les VERO

L'administration de 5, 10 μM de quercétine n'interfère pratiquement pas sur la production du GSH, or que le traitement par (25 μM , 50 μM) réduit de moitié les taux du GSH. Tandis que le traitement par la quercétine (75 μM , 100 μM) le réduit fortement (Figure27, tableau 20).

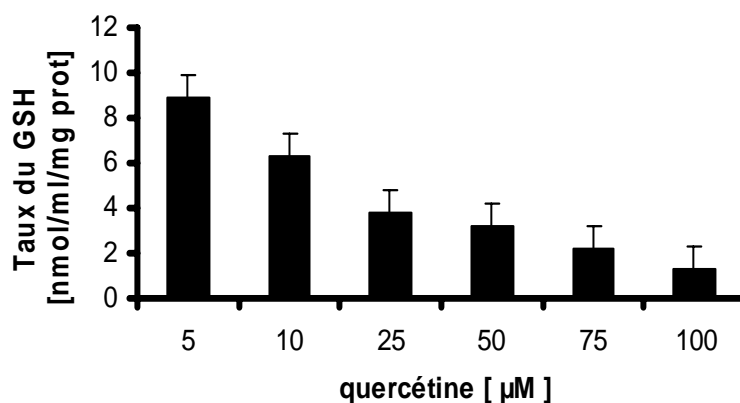


Figure 27 : Effet de la quercétine sur le système antioxydant (GSH) chez les VERO.

I-1-5-Effet de la NAC quercétine sur l'activité de la LDH en présences des concentrations croissantes d'indométacine chez les VERO

I-1-5-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH des VERO

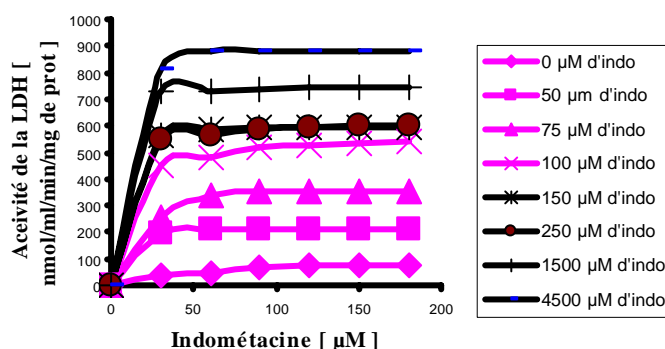


Figure 28 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH des VERO

Le traitement des cellules VERO par 50 μM d'indo après 24 h de culture interfère légèrement sur l'activité de la LDH mesurée dans les surnageants de culture, un pourcentage faible à été mesuré (27.39%) par rapport au témoin non traité (861 nmol/ml/min/mg de prot/), ce qui représente le 100%.

Les cellules VERO traité par (75 μM , 100 μM , 150 μM) augmentent l'activité de la LDH respectivement de (45.95%, 69.39%, 77.38%), tandis que le traitement par (250 μM , 1500 μM , 4500 μM) d'indométacine l'augmente fortement et totalement. Les pourcentages respectifs sont de (77.80%, 96.05%, 114%) mesurées par rapport au témoin traité par le triton X-100 (861 nmoles/ml/mg de prot/min) (Figure28, tableau21).

I-1-5-2-Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les VERO

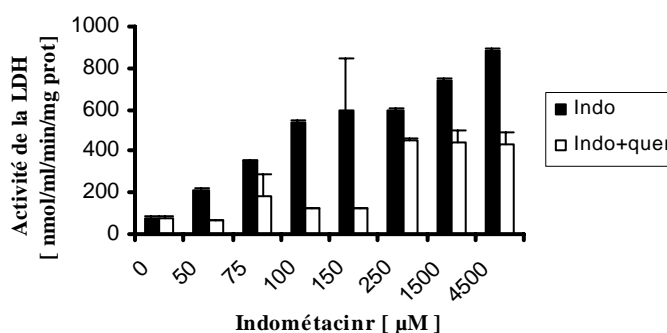


Figure 29 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les VERO

Le traitement par 15 μM de quercétine en présence des concentrations croissantes d'indo (50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 250 μM , 1500 μM , 4500 μM) contrôle partiellement l'activité de la LDH. Les pourcentages respectifs sont de 8.92%, 48.03%, 76.13%, 57.1%, 25.06%, 39.94%, 61.03%, mesurés chez les VERO témoins traitées par l'indométacine seul (Figure29, tableau22).

I-1-5-3-Effet de la NAC sur la l'activité de la LDH en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les VERO

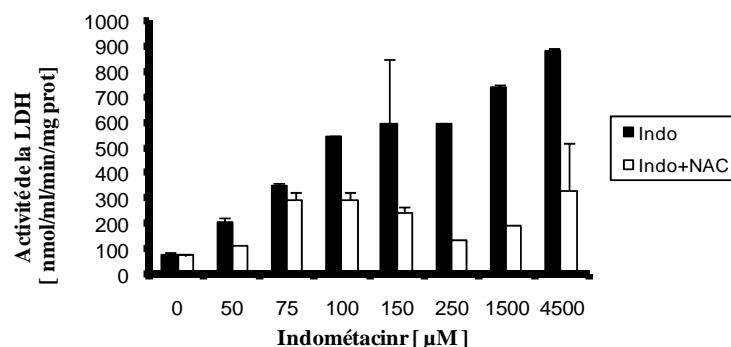


Figure 30 : Effet de la NAC sur la l'activité de la LDH en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les VERO.

L'activité de la LDH mesurée dans les surnageants de culture est partiellement prévenue chez les VERO traitées par (50μM, 75μM, 100μM, 150μM) d'indo et prétraité par la NAC 50μM. Les pourcentages respectivement sont de 8.92%, 45.28%, 45.14%, 59.25%, mesurés par rapport VERO témoins traitées par l'indométacine seulement.

Au contraire le traitement par la même dose de la NAC (50 μM) en présence d'indo (250μM, 1500μM, 4500μM), prévient l'activité de la LDH respectivement à ce qui représentent près de 77.22%, 73.89%, 62.25%, comparés à l'activité de la LDH, mesurées chez les VERO traitées par l'indométacine seulement (Figure 30, tableau 23).

I-1-5-4-Effet de la NAC sur l'activité de la LDH chez les VERO

Le traitement des VERO par la NAC (25μM, 50μM, 75μM, 100μM) augmente partiellement l'activité de la LDH. Tandis que les concentrations plus élevées de NAC (300μM, 500μM) l'augmentent fortement et totalement (84.13%, 133.29%) mesurés au témoin traité par le triton X-100 (Figure 31, tableau 24).

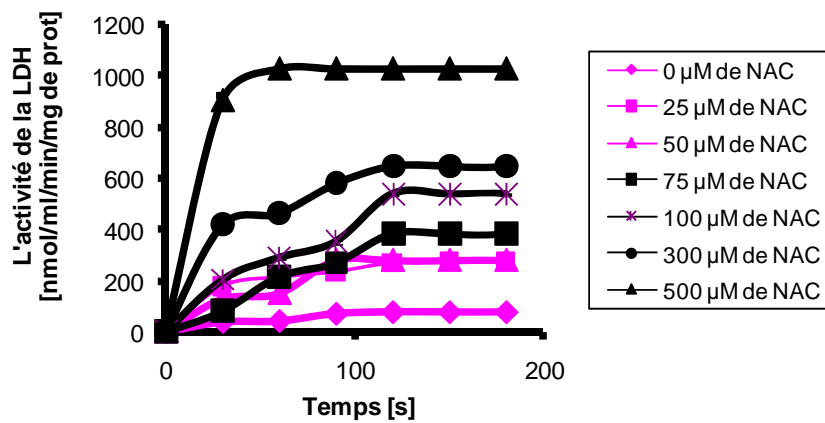


Figure 31 : Effet de la NAC sur l'activité de la LDH chez les VERO.

I-1-5-5-Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH des VERO

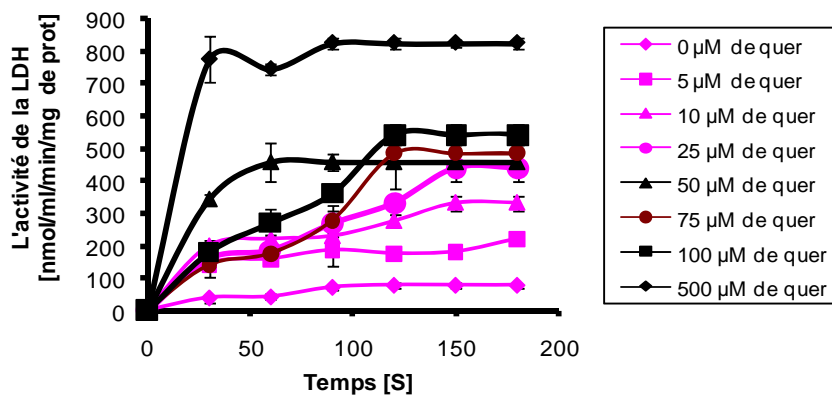


Figure 32 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH des VERO.

L'administration de quercétine (5µM, 10µM, 25µM, 50µ, 75µM) augmente l'activité de la LDH respectivement à ce qui représente près de 23.55%, 43.05 %, 56.74%, 59.44%, 62.76%, mesurés par rapport au témoin traité par le triton X100 à 1%. Tandis que le traitement par 100 µM, 300µM de quercétine augmente fortement l'activité de la LDH au près de 70.29%, 106.8%, mesurés au témoin traité par le triton X100 à 1% (Tableau25, figure32).

I-1-6-Effet de la NAC quercétine sur l'activité de la catalase en présences des concentrations croissantes d'indométacine chez les VERO

I-1-6-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase des VERO

Le stress oxydatif se traduit par la diminution de l'activité de la catalase mesurée chez les cellules qui est d'autant plus petite que la dose d'indo est élevée, chez les VERO le traitement par (50 μ M, 75 μ M, 100 μ M, 150 μ M, 250 μ M, 1500 μ M, 4500 μ M) d'indo réduit respectivement l'activité de la catalase (85.9, 64.58%, 42.58, 48.11%, 34.12%, 31.25%, 25.51%), de l'activité de la catalase mesurée chez les VERO témoin non traité (Figure33, tableau26).

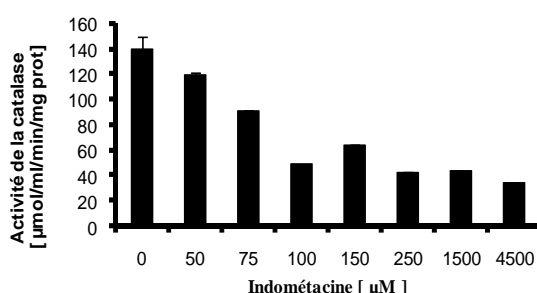


Figure 33 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase des VERO

I-1-6-2-Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase des VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine

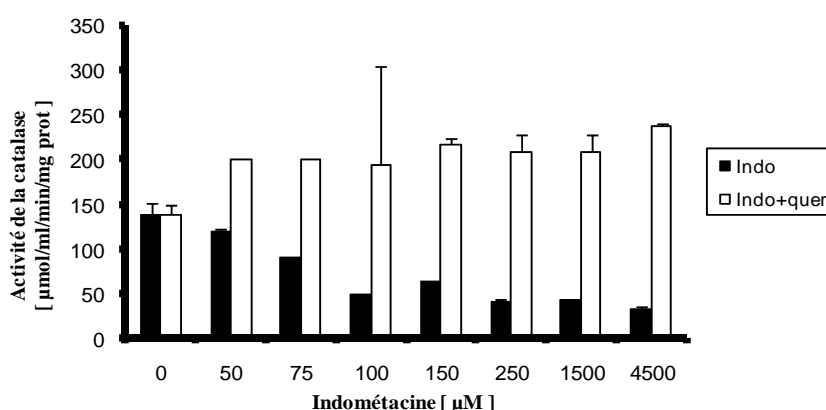


Figure 34 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase des VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

L'administration de 15 μM Quercétine en présence des concentrations plus élevée d'indo (50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 250 μM) augmente l'activité de la catalase qui atteint des taux très élevés, 56.6%, 123.3%, 226.9%,57.27%,115.7%.

La présence simultanée de 15 μM de Qr avec (1500 μM , 4500 μM) d'indo, interfère fortement sur l'activité de la catalase qui atteint une valeur très élevée et qui plafonne à 449% 719.45% par rapport au VERO traitées uniquement par l'indométacine (Figure34, tableau27).

I-1-6-3-Effet de la NAC sur l'activité de la catalase des VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine

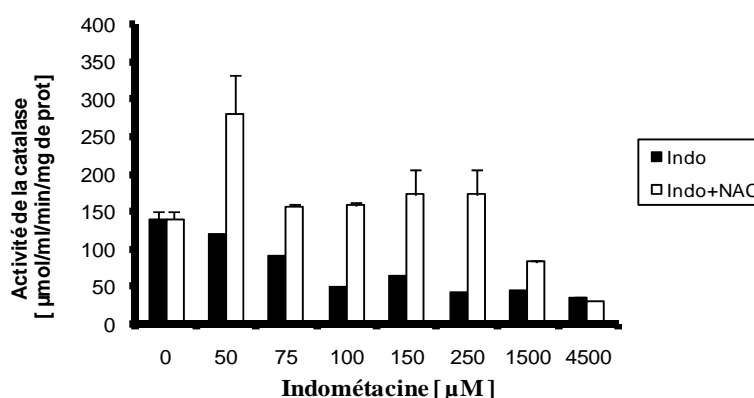


Figure 35 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase des VERO en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

L'administration de la NAC (50 μM) en présence des concentrations croissantes d'indo restaure l'activité de la catalase. Les pourcentages respectifs sont de 68.8%, 70.66%, 163.81%, 157.2%, 115.7%, 89.65%, 746%, respectivement comparés au VERO traitées uniquement par 50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 250 μM , 1500 μM d'indo (Figure35, tableau28).

I-1-6-4-Effet de la NAC sur l'activité de la catalase des VERO

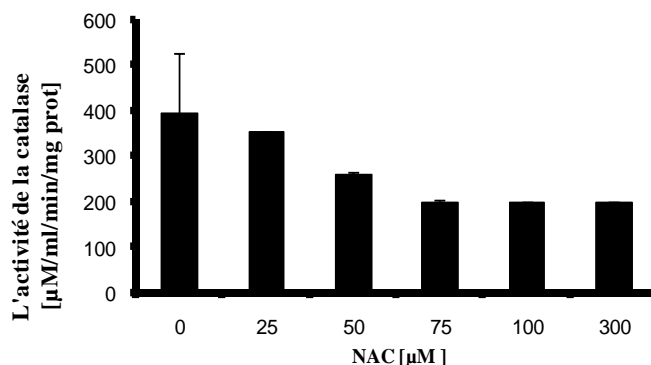


Figure 36 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase des VERO.

Le traitement des VERO par (5µM, 50µM) de NAC modifie légèrement l'activité de la catalase qui passe de 100% (témoin) à 76.99%, 70.25% respectivement. Ce pendant l'administration des concentrations plus élevées de NAC (75µM, 100µM), la réduit de moitié.

L'effet toxique de la NAC commence à apparaître clairement à 300µM où l'activité de la catalase est réduite au près de 36.47 %, au témoin non traité (309±80.6 nmol/ml/mg de prot/min), ce qui représente le 100% (Figure 36, tableau 29).

I-1-6-5-Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase des VERO

Le prétraitement des VERO par (5µM, 10µM, 25µM, 50 µM) de Qr a réduit près de moitié l'activité de la catalase. Les pourcentages de réduction au témoin sont respectivement de 63.38%, 59.62%, 52.72%, 51.24%, 31.22%. Ce pendant le traitement des VERO par 75µM, 100µM, 300µM de quercétine la réduit fortement.

Les pourcentages sont respectivement de 26.26%, 27.93 %, mesurés au témoin non traité (309±80.6 nmol/ml/mg de prot/min) (Figure 37, tableau30).

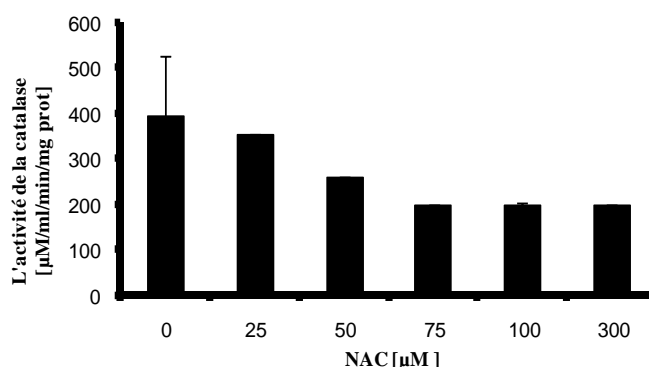


Figure 37 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase des VERO

I-2-Effet de la NAC quercétine sur la toxicité du myélome de la moelle osseuse SP2 à l'indométacine

I-2-1-Effet de la NAC quercétine sur la production de nitrites par les SP2 en présences des concentrations croissantes d'indométacine

I-2-1-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les SP2

Les résultats du dosage de nitrites au niveau des surnageants de culture des cellules SP2 sont représentés dans la figure suivante (Figure 38).

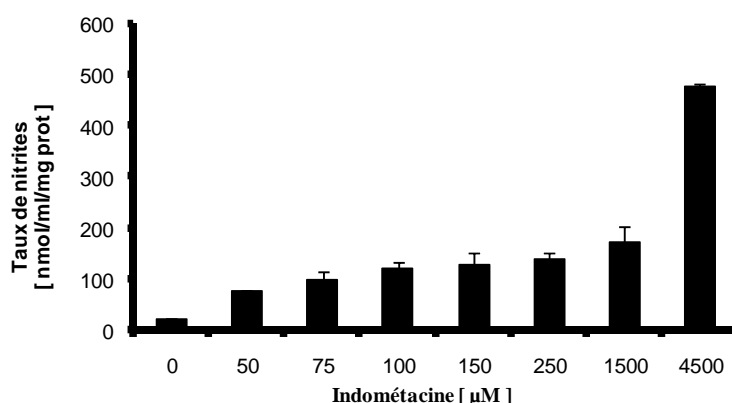


Figure 38 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les SP2

Les cellules dérivées de myélome de la moelle osseuse (lignée SP2), en culture libèrent un taux basal de nitrites égal à $15.68 \pm 3,43$ nmol/ml/mg de prot.

Le traitement pendant 24 heures des cellules SP2 par 50, 75 et 100 μ M d'indométacine augmente fortement le taux de nitrites mesuré dans les surnageants de culture.

Les pourcentages d'augmentation sont respectivement de 268.41%, 384.21%, 484.21%.

Les cellules SP2 traitées par des concentrations plus élevées d'indométacine (150, 250 et 1500 μ M) libèrent des taux excessifs de nitrites, respectivement de 534.21%, 586.84%, 750%, 2234.21%, comparés aux cellules non traitées (21.08 nmol/ml/mg de prot) (tableau 31, figure 38).

I-2-1-2-Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

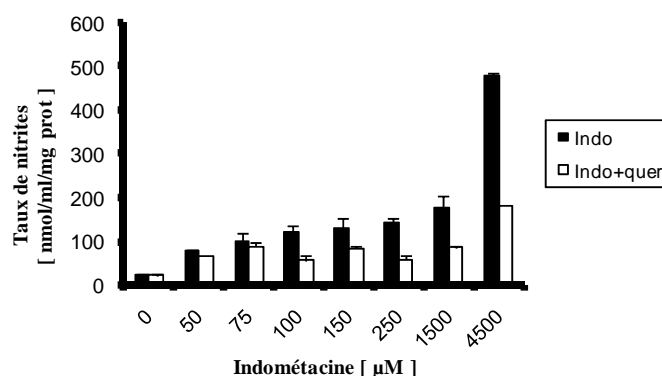


Figure 39 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

Un prétraitement par la Quercétine 15 μ M permet de diminuer le taux de nitrites témoin par 4.35%, 31.13%, 9.82%, 34.67%, 74.72%, 31.63%, 15.18% suite d'un traitement par 50 μ M, 75 μ M, 100 μ M, 150 μ M, 250 μ M, 1500 μ M, 4500 μ M d'indométacine (Tableau 32, figure 39).

I-2-1-3-Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2 en présence des concentrations d'indométacine

Un prétraitement par la NAC 50 μ M, atténue aussi l'augmentation du NO induite par 50 μ M, 75 μ M, 100 μ M, 150 μ M, 250 μ M, 1500 μ M, 4500 μ M d'indométacine.

Les pourcentages de réduction au témoin non traité sont respectivement de 64.13%, 60.38%, 25.89%, 78.64%, 82.32%, 71.76%, 71.89% (Tableau 33, figure 40).

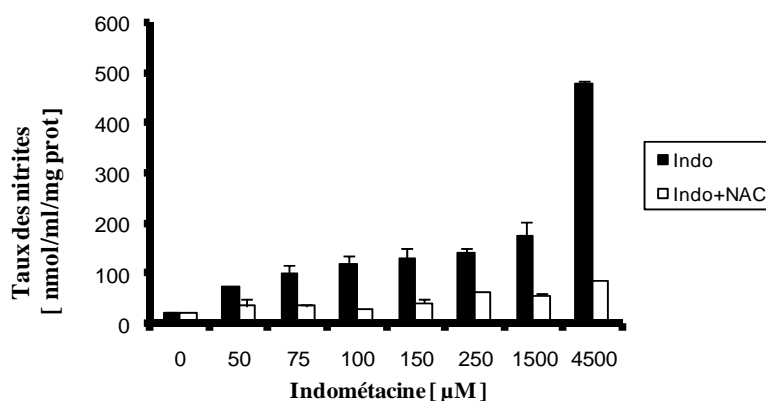


Figure 40 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

I-2-1-4-Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2

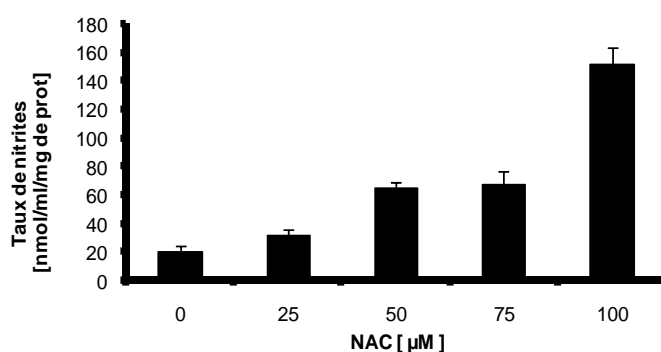


Figure 41 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2.

Le taux en nitrites chez les SP2 témoin est de 15.68 ± 3.43 nmol/ml/mg de prot (100 %).

Cette concentration a augmenté de 55.26%, 218.48%, 228.94%, 642.10% suite d'un traitement par 25, 50, 75, 100 µM de NAC (Tableau 34, figure 41).

I-2-1-5-Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2

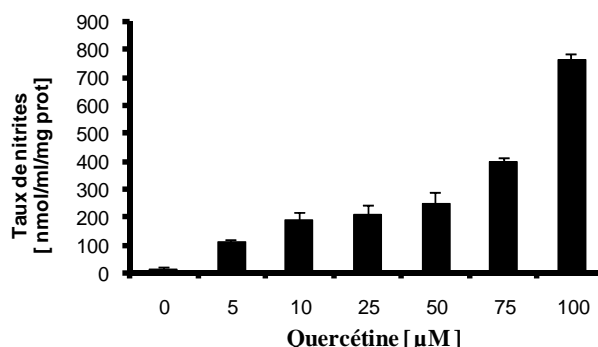


Figure 42 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2

Le taux en nitrites chez les SP2 témoin est de 15.68 ± 3.43 nmol/ml/mg de prot (100 %).

Cette concentration a augmenté de 439.47%, 834.21%, 907.89%, 1094.7%, 1842.1 %, 3621.05 % après un traitement par 5µM, 10µM, 25µM, 50 µM, 75 µM, 100 µM, 300 µM de Qr (Figure42, tableau35).

I-2-2-Effet de la NAC quercétine sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulé par le PMA en présences des concentrations croissantes d'indométacine

I-2-2-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde chez les SP2 stimulé par le PMA

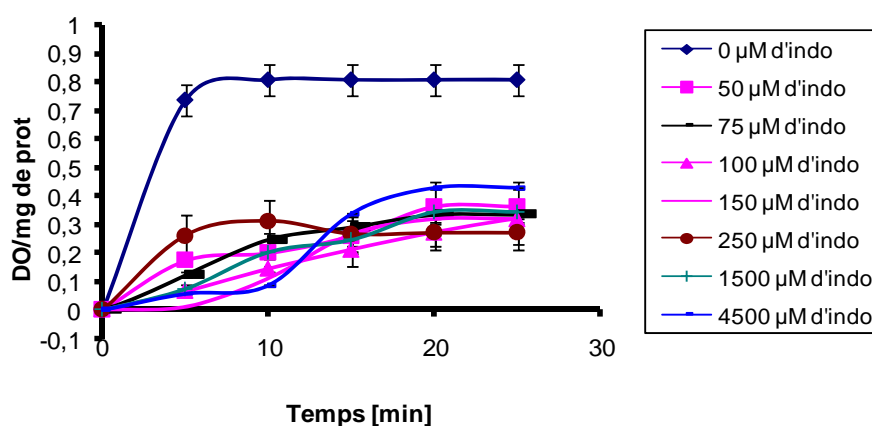


Figure 43 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde chez les SP2 stimulé par le PMA.

La production basale d'anion superoxyde des cellules SP2 augmente après stimulation par le PMA 160 nM et atteint une DO de (0.809).

Une stimulation par le PMA à 160 nM préalablement incubés avec les cellules SP2 après un traitement par d'indométacine (25µM, 50µM, 75µM, 100µM, 150µM, 250µM, 1500µM, 4500µM) potentialise l'explosion oxydative qui atteint de ce qui représente près de (65%, 56.41%, 37.31%, 39.44%, 31.44%, 28.17%) de l'activité respiratoire oxydative des SP2 (tableau 36, figure 43).

I-1-2-2-Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les SP2 stimulée par le PMA

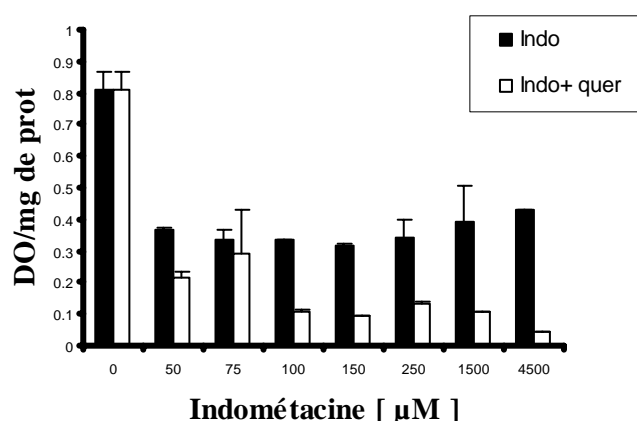


Figure 44 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les SP2 stimulée par le PMA.

Une réduction plus importante des taux des anions superoxyde est mesurée chez les SP2, traitées par les concentrations croissantes d'indométacine (50µM, 75µM, 100µM, 150µM, 250µM, 1500µM, 4500µM) et prétraitées par 15 µM de Qr.

La présence de Qr neutralise ces taux à 24.72%, 14.03%, 68.05%, 70.22%, 61.05%72.51%, 89.95% mesurés par rapport au taux des anions superoxyde des cellules SP2 non traités (tableau 37, figure 44).

I-2-2-3-Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les SP2 stimulée par le PMA

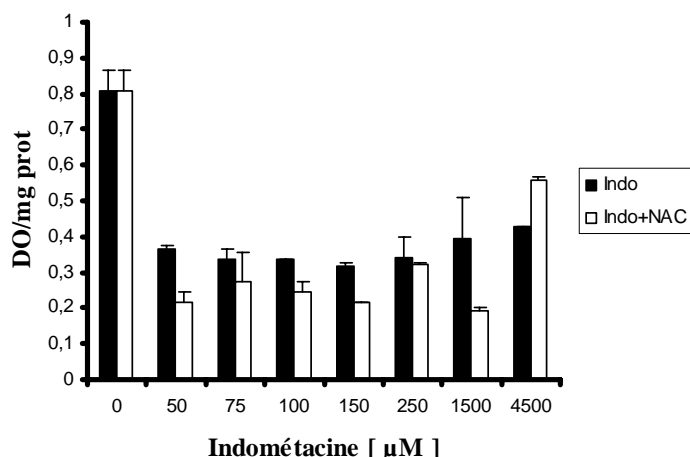


Figure 45 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des concentrations croissantes d'indométacine chez les SP2 stimulé par le PMA.

L'effet protecteur de la NAC contre la production des anions superoxyde est partiel en présence des concentrations croissantes d'indo (50µM, 75µM, 100µM, 150µM, 250µM, 1500µM, 4500µM). Les pourcentages de réduction sont respectivement de (40.38%, 17.91%, 26.26%, 31.86%, 47.48%, 15.28%, 30.37 %) par rapport aux cellules Sp2 traitées uniquement par l'indométacine (Tableau 38, figure 45).

I-2-2-4-Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde chez les SP2 stimulé par le PMA

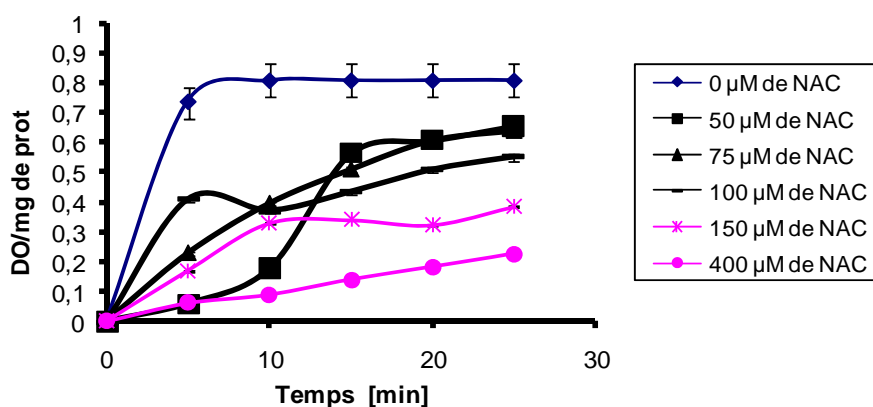


Figure 46 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde chez les SP2 stimulé par le PMA

Le traitement par la NAC (25 μ M, 50 μ M, 75 μ M, 100 μ M) réduit les taux en anions superoxyde respectivement de 80.98%, 79.17%, 68.13%, 24%, 47.5%, mesurés par rapport au témoin SP2 non traité. Tandis que le traitement des SP2 par 400 μ M de NAC le réduit fortement. Le pourcentage de réduction au témoin est de 28.03% (tableau 39, figure 46).

I-2-2-5-Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde chez les SP2 stimulé par le PMA

Le traitement par (5 μ M, 10 μ M) de la quercétine réduit légèrement les taux des anions superoxyde au témoin respectivement (65.33%, 53.8%), tandis que le traitement par la quercétine (25 μ M, 50 μ M, 75 μ M, 100 μ M) les réduit fortement.

Les pourcentages respectifs sont de (23.05%, 24%, 22.66%, 14.74%) mesurés par rapport au témoin non traité (Tableau 40, figure 47).

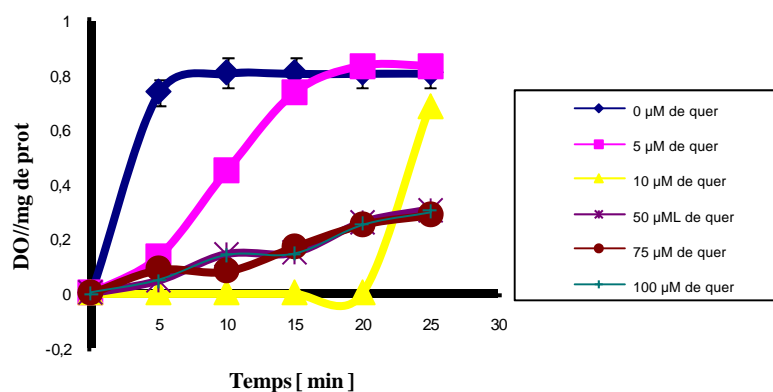


Figure 47 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde chez les SP2 stimulé par le PMA.

I-2-3-Effet de la NAC quercétine sur la peroxydation lipidique (MDA) des SP2 en présences des concentrations croissantes d'indométacine

I-2-3-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la peroxydation des lipides

Le taux du malondialdéhyde, MDA marqueur de la peroxydation lipidique a été dosé dans Les surnageants de culture. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante (Figure 48)

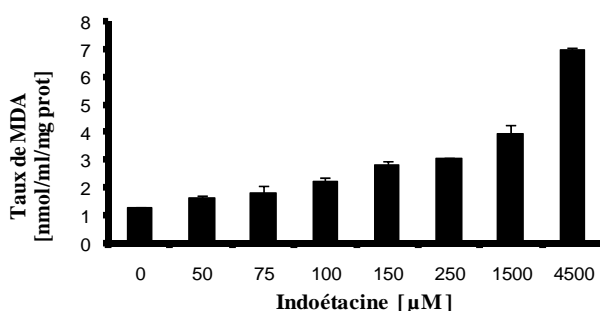


Figure 48 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur la peroxydation des lipides des SP2.

Le taux de MDA dans les surnageants de culture des cellules SP2 témoins est de $0.50 \pm 0,006$ nmoles/ml/mg de prot (100%). Ce taux atteint une augmentation de 29.74%, 40.15%, 87.36% nmoles/ml/mg de prot suite d'un traitement par 50µM, 75µM, 100µM d'indométacine.

Les cellules Sp2 traitées par 150µM, 250µM, 1500µM, 4500µM d'indométacine libèrent des taux excessifs de MDA à ce qui représente 121.93%, 140.89%, 211.52%, 453.16% du taux MDA mesuré chez les SP2 témoin (Figure 48, tableau 41).

I-2-3-2-Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

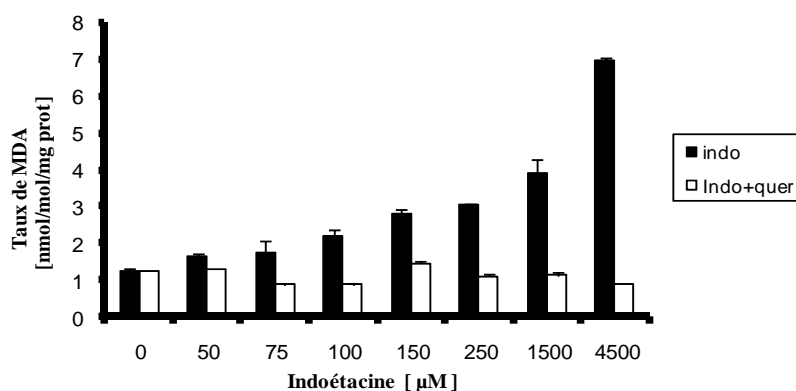


Figure 49 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

La comparaison des niveaux de production de MDA entre les cellules SP2 traitées par (0-4500 μM) d'indométacine seul et les cellules prétraitées par 15 μM de Qr montre que ces teneurs sont nettement supérieures chez les cellules traitées par l'indo seul.

Chez les SP2 prétraitées par la Quercétine 15 μM , le taux de MDA est égal à $0.50 \pm 0,006$ nmoles/ml/mg de prot (100%).

Les taux de MDA après un traitement par la Quercétine 15 μM diminuent de 26.38%, 28.44%, 38.28%, 38.31%, 14.9%, comparé aux SP2 traitées par 50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 250 μM d'indométacine.

Au contraire le prétraitement par 15 μM Qr en présence des fortes concentrations d'indo (1500 μM , 4500 μM) prévient totalement la peroxydation lipidique. Les pourcentages respectifs sont de 71.12%, 87.03% (Figure 49, tableau 42).

I-2-3-3-Effet de la NAC sur la peroxydation lipidique des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

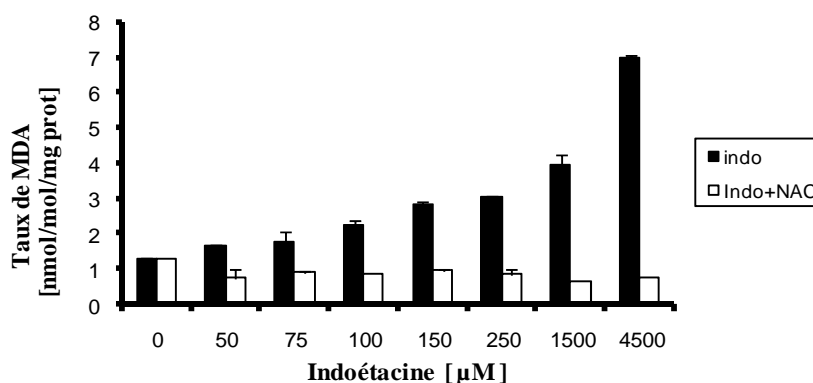


Figure 50 : Effet de la NAC sur la peroxydation lipidique des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

Un prétraitement par la NAC 50 μM atténue de 83.41%, 89.31%, 19.30%, 47.74%, 62.89%, 66%, 72.38% l'augmentation de MDA observée chez les SP2 traitées par 50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 250 μM , 1500 μM , 4500 μM .

Ce résultat indique que cette molécule a réduit efficacement la peroxydation lipidique et maintient l'intégrité cellulaire (Tableau 43, figure 50).

I-2-3-4-Effet de la NAC sur peroxydation lipidique des SP2

Le taux de MDA dans les surnageants de culture des SP2 témoin est de 0.50 ± 0.006 nmoles/ml/mg de prot (100%). Il augmente de 5.04%, 89.19%, 188.07 %, 465.14 %, 500%

chez les SP2 traitées par 25 μM , 50 μM , 75 μM , 100 μM , 400 μM de la NAC (Tableau 44, figure 51).

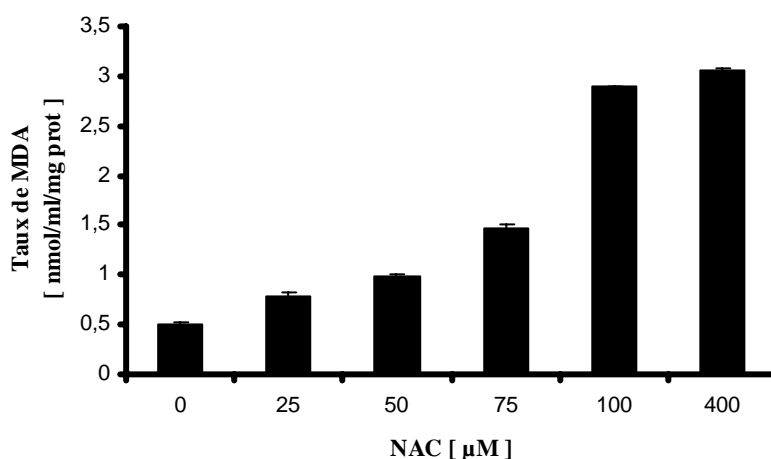


Figure 51 : Effet de la NAC sur peroxydation lipidique des SP2

I-2-3-5-Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des SP2

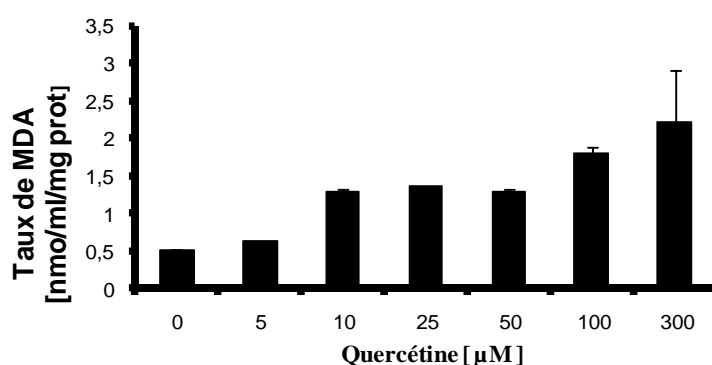


Figure 52 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des SP2.

Le traitement des cellules Sp2 par (5µM, 10µM) de quercétine modifie respectivement les taux de MDA de (21.61%, 149.54%).

Au contraire les SP2 traitées par (25µM, 50µM, 75µM, 100µM, 300µM) produit respectivement des taux très élevés de MDA (166.97, 149.5%, 253.21%, 333.07) dans les surnageants de culture des SP2 (Tableau45, figure52).

I-2-4-Effet de la NAC quercétine sur le système antioxydant (GSH) chez les SP2 en présences des concentrations croissantes d'indométacine

I-2-4-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur le système antioxydant (GSH) chez les SP2

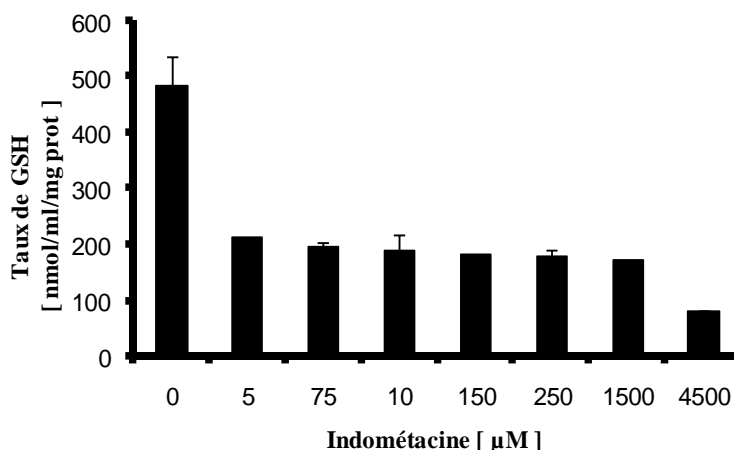


Figure 53 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur le système antioxydant (GSH) chez les SP2

Le taux de GSH mesuré chez les SP2 contrôles est de $483.6 \pm 65,63$ nmol/ml/mg protéines (100%).

En présence de $50\mu\text{M}$ d'indométacine, ce taux est similaire $486,2 \pm 4,04$ nmol/ml/mg protéines à celui du contrôle, tandis qu'il diminue à 36.72% ,53.48 %, 16.02% suite d'un traitement par $250\mu\text{M}$, $1500\mu\text{M}$, $4500\mu\text{M}$ d'indométacine (Figure53, tableau 46)

I-2-4-2-Effet de la quercétine sur le système antioxydant par la production du glutathion chez les SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

Un prétraitement à la Quercétine $15\mu\text{M}$ montre une augmentation du GSH qui rattrape le témoin par plus de 200% suite d'un traitement par 50, 75, 100, 150, 250, $1500\mu\text{M}$ d'indométacine. Cette augmentation plafonne à 477.18% chez les SP2 traitées par $4500\mu\text{M}$ d'indométacine. (Tableau 47, figure 54).

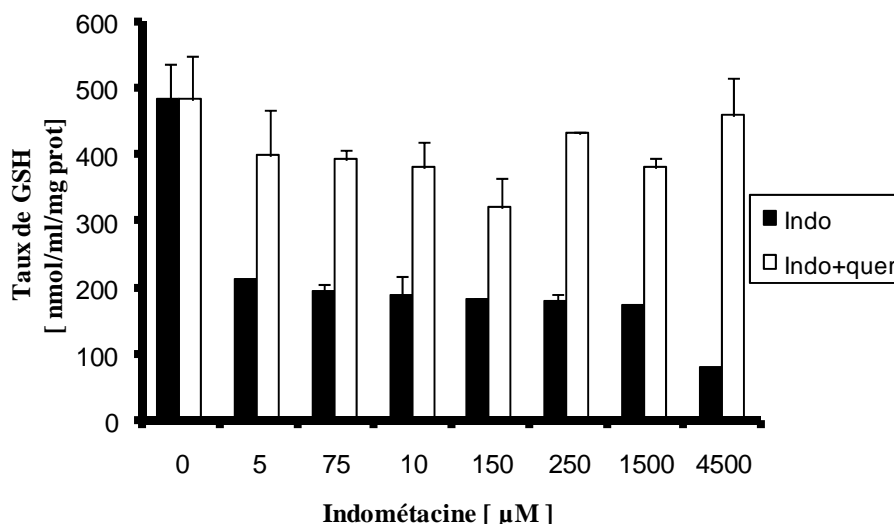


Figure 54 : Effet de la quercétine sur le système antioxydant (GSH) les SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

I-2-4-3-Effet de la NAC sur le système antioxydant (GSH) les SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

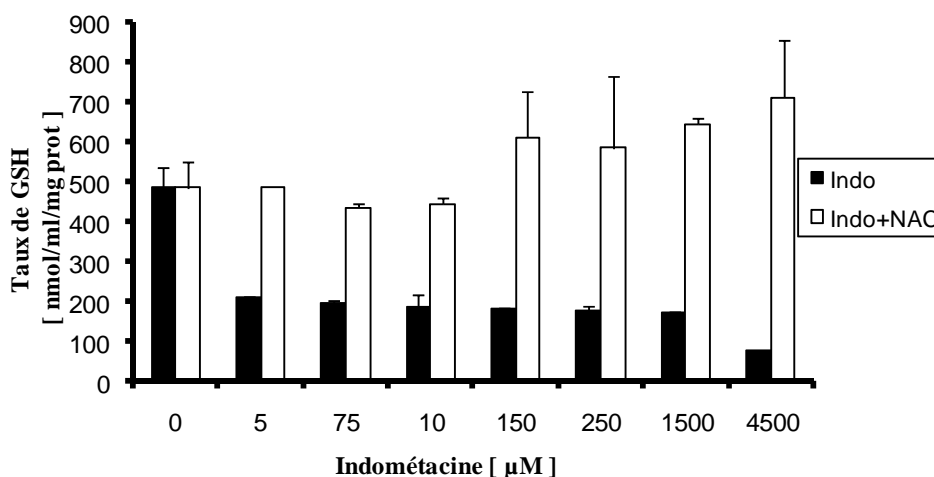


Figure 55 : Effet de la NAC sur le système antioxydant (GSH) chez les SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

De même les SP2 non traitées présente un taux basale de GSH de $483.6 \pm 65,63$ nmol/ml/mg protéines (100%), le prétraitement par la NAC $50 \mu\text{M}$ potentialise la production du GSH d'une manière très élevée, elle augmente de 71%, 124.16%, 135.96%, 236.87%, 229.86% comparée aux SP2 traitées par l'indométacine seule ($50\mu\text{M}$, $75\mu\text{M}$, $100\mu\text{M}$, $150\mu\text{M}$, $250\mu\text{M}$).

Cette production est mieux restaurée par la même concentration de NAC mais en présence de 1500, 4500 μM d'indométacine. Les pourcentages sont de 275%, 818.79% mesurés par rapport au témoin non traité (Tableau48, figure 55).

I-2-4-4-Effet de la NAC sur le système antioxydant (GSH) chez les SP2

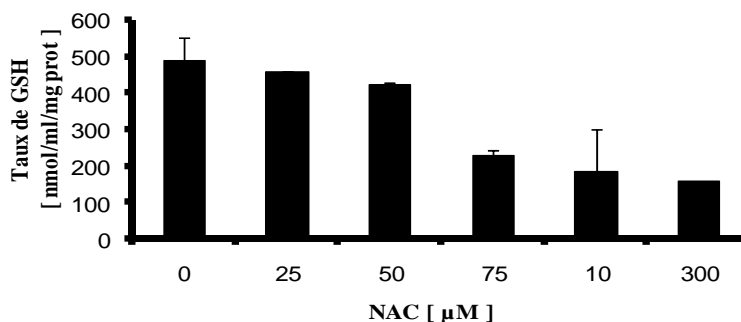


Figure 56 : Effet de la NAC sur le système antioxydant (GSH) chez les SP2

Un traitement des SP2 à la NAC 25, 50 μM n'interfère pratiquement pas sur le taux basale de GSH $483.6 \pm 65,63$ nmol/ml/mg protéines (100%), tandis qu'il diminue à 36.72% ,53.48 %, 16.02% suite d'un traitement par la NAC 75 μM , 100 μM , 300 μM . (Figure56, tableau 49).

I-2-4-5-Effet de la quercétine sur le système antioxydant (GSH) chez les SP2

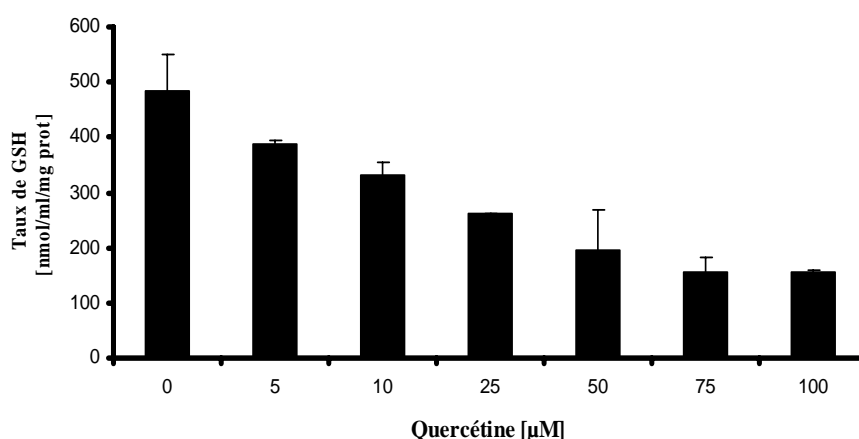


Figure57 : Effet de la quercétine sur le système antioxydant (GSH) chez les SP2.

De même le traitement à la quercétine 5 μM n'interfère pratiquement pas sur la production du GSH, cette production représente 80.37% du taux GSH mesuré chez les SP2 non traitées

Au contraire un traitement par 10 μM , 25 μM , 50 μM , 75 μM , 100 μM réduit près de la moitié de cette production. Les pourcentages de réduction au témoin sont de 68.44%, 54.08% 40.75%,32.47%, 32.41% (Tableau 50, figure57).

I-2-5-Effet de la NAC quercétine sur l'activité de la LDH des SP2 en présences des concentrations croissantes d'indométacine

I-2-5-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH des SP2

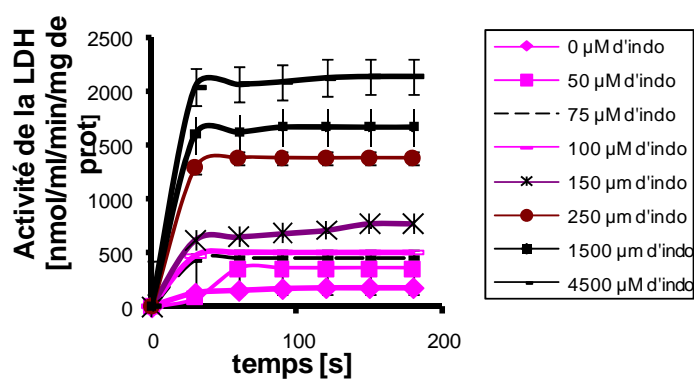


Figure 58 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH des SP2.

L'activité basale du lactate déshydrogénase dans les surnageants, après 24 h de culture est de 177 nmol de NADH formée/min/mg de prot (100%).

Cette activité augmente suite à un traitement par 75 μM , 100 μM , 150 μM d'indométacine et atteint 200, 203,2, 217,6 nmol/ml/min /mg de prot.

Cette augmentation est plus importante après un traitement des SP2 par 250, 1500, 4500 μM d'indométacine et atteint 172,8, 283,2, 592 nmol/ml/min /mg de prot (Figure 58, tableau, 51).

I-2-5-2-Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH de la moelle osseuse des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

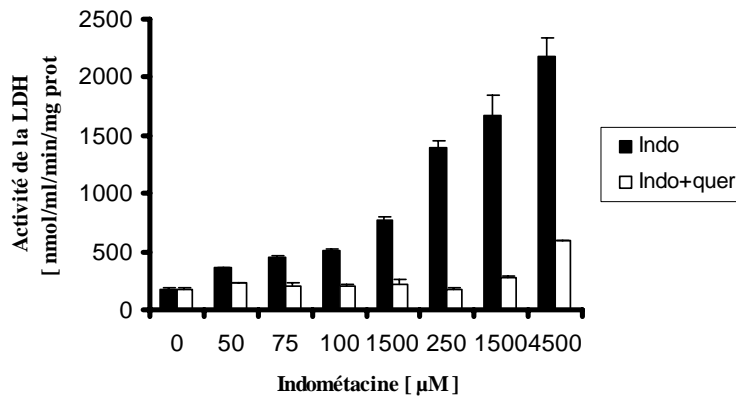


Figure 59 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine en présence de la quercétine sur l'activité de la LDH des SP2.

Un prétraitement à la quercétine 15 μM semble avoir un effet sur cette augmentation observée

Chez les SP2 traitées par l'indométacine.

La quercétine contrôle partiellement l'activité LDH, elle diminue de 34.52%, 55.51%, 59.55%, 71.72%, 87.55%, 83.04%, 72.79% comparée aux SP2 traitées uniquement par l'indométacine (Figure 59, tableau, 52).

I-2-5-3-Effet de la NAC sur la l'activité de la LDH des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

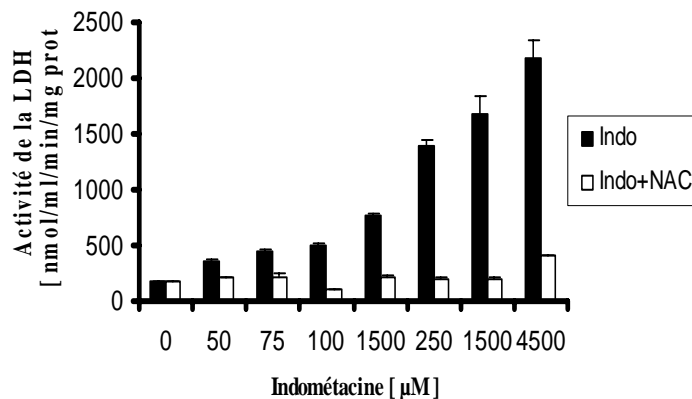


Figure 60 : Effet de la NAC sur la l'activité de la LDH des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

L'activité LDH chez les SP2 est contrôlée après un prétraitement à la NAC 50 μM , cette activité diminue de 39.91%, 52.31%, 79.53%, 72.55%, comparée au SP2 traitées par 50, 75, 100, 150 μM d'indométacine.

Cette diminution est efficacement restaurée par le même prétraitement mais en présence de 250, 1500, 4500 μM d'indométacine. L'activité LDH est similaire à celle des SP2 contrôles,

Elle diminue de 85.83%, 88.02%, 81.23%, (Tableau 53, figure60).

I-2-5-4-Effet de la NAC sur l'activité de la LDH des SP2

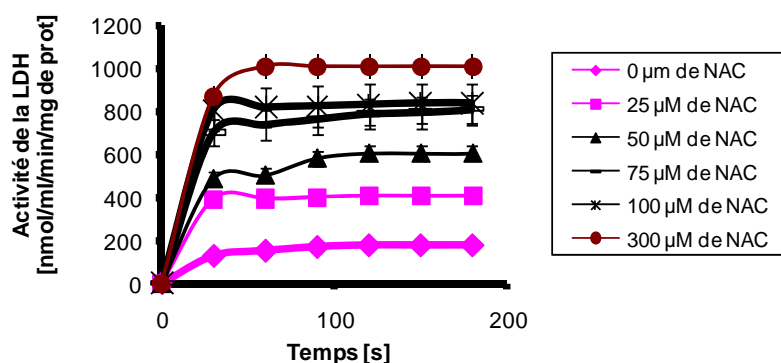


Figure 61 : Effet de la NAC sur l'activité de la LDH des SP2.

Le traitement des SP2 par 25 μM , 50 μM , 75 μM , 100 μM de NAC augmente partiellement l'activité de la LDH, tandis que cette activité est fortement augmentée suite à un traitement par la NAC 300 μM (1008,6 nmol/ml/min /mg de prot) mesurée au témoin non traité (Figure 61, tableau 54).

I-2-5-5-Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH des SP2

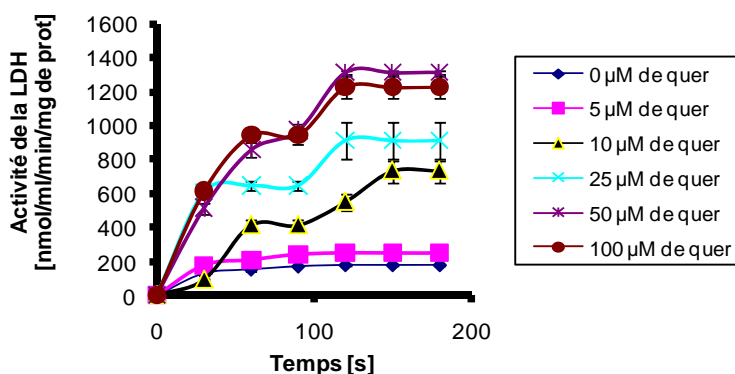


Figure 62 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH des SP2.

L'activité basale du lactate déshydrogénase dans les surnageants, après 24 h de culture est de 177 nmol de NADH formée/min/mg de prot (100%).

Cette activité augmente suite à un traitement à la quercétine 5 μ M, 10 μ M, 25 μ M, 50 μ M et atteint respectivement 200, 203,2, 217,6 nmol/ml/min /mg de prot.

Cette augmentation est plus importante après un traitement à la Quercétine 100 μ M et atteint 1224 nmol/ml/min/mg de prot, mesurée au témoin non traité (Figure 58, tableau, 51).

I-2-6-Effet de la NAC quercétine sur l'activité de la catalase des SP2 en présences des concentrations croissantes d'indométacine

I-2-6-1-Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase des SP2

L'activité catalase a été également mesurée chez les cellules Sp2, les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante (Figure 63).

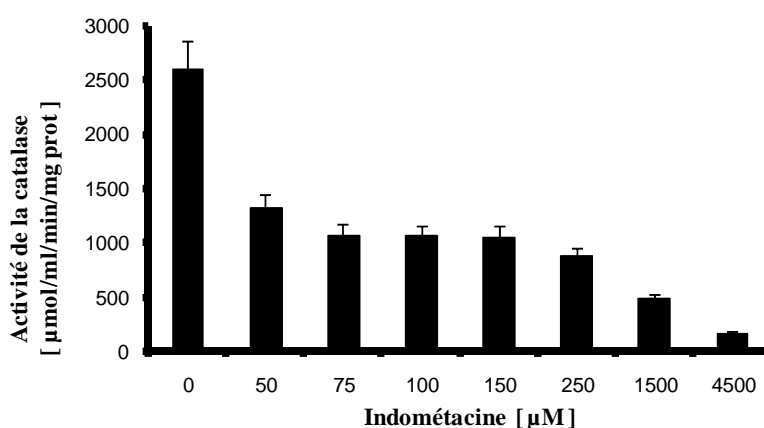


Figure63 : Effet des concentrations croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase des SP2

Le stress oxydatif se traduit par la diminution de l'activité de la catalase qui est d'autant plus petites que la dose d'indométacine est élevée.

L'activité basale de la catalase chez les SP2, après 24 h de culture est de 273 μ mol/ml/min/mg de prot (100%), cette activité diminue chez les SP2 traitée par (50 μ M, 75 μ M, 100 μ M, 150 μ M, 250 μ M, 1500 μ M, 4500 μ M) d'indométacine. Les pourcentages au témoin sont de 50.46, 40.98%, 40.46, 33.29%,20.57 %,22.71% (Figure 63, tableau 56).

I-2-5-2-Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

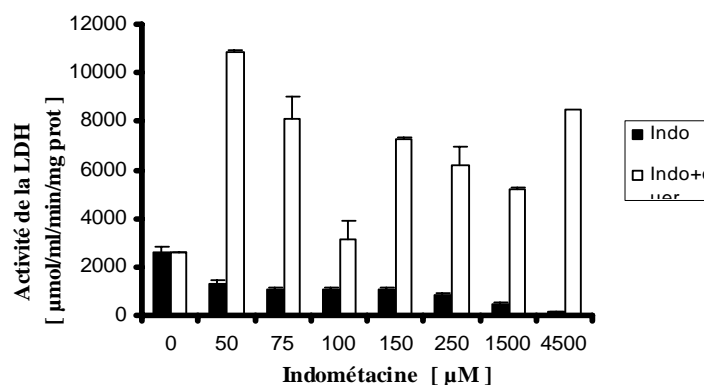


Figure64 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

Un prétraitement à la quercétine 15 μM conduit à une augmentation de l'activité catalase de 871.02%, 791.96%, 230%, 884.89%, 581.29%, par rapport à celle du traité par 50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 250 μM d'indométacine seule.

Le prétraitement par la quercétie 15 μM interfère fortement sur l'activité de la catalase suite d'un traitement par 1500 μM , 4500 μM d'indométacine, qui atteint une valeur très élevée et qui plafonne à 1022.19%, 1519.36% (Tableau 57, figure 64).

I-2-5-3-Effet de la NAC sur la l'activité de la catalase des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine

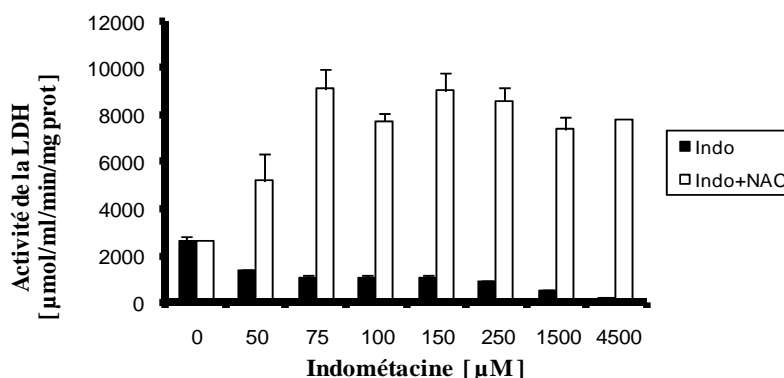


Figure 65 : Effet de la NAC sur la l'activité de la catalase des SP2 en présence des concentrations croissantes d'indométacine.

Un prétraitement à la NAC 50 μM diminue de 374.91%, 931.71%, 785.71%, 1159.55 %, 893.51%, 1586.79%, 1483.7% l'augmentation de l'activité catalase observée chez les SP2 traitées par 50 μM , 75 μM , 100 μM , 150 μM , 250 μM , 1500, 4500 μM d'indométacine seule (Figure65, tableau 58)

I-2-5-4-Effet de la NAC sur l'activité de la catalase des SP2

L'activité basale de la catalase chez les SP2, après 24 h de culture est de 273 ± 31.81 $\mu\text{mol/ml/min/mg}$ de prot (100%), cette activité augmente suite d'un traitement par 25, 50 μM de NAC puis elle diminue après un traitement à la NAC 75, 100 μM .

Malgré cette diminution cette activité semble être supérieure à celle du contrôle. Les pourcentages au témoin sont de 291.27%, 328.67%, 273.93%, 204.27% comparés au témoin non traité (Tableau 59, figure66).

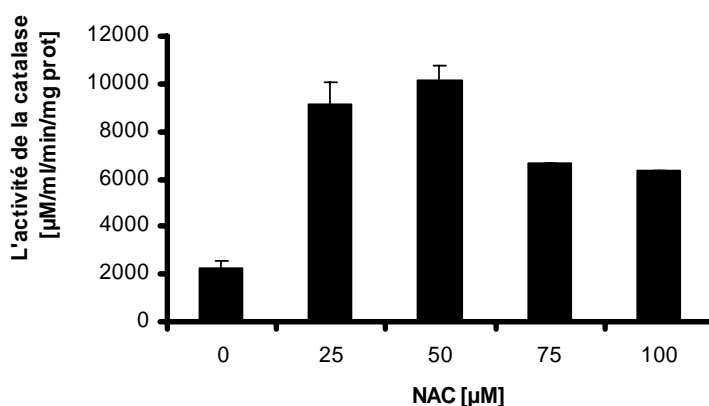


Figure 66 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase des SP2.

I-2-5-5-Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase des SP2

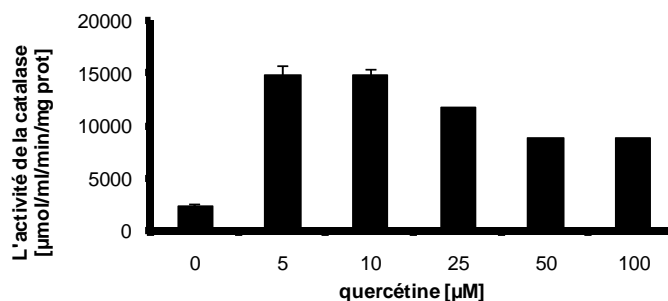


Figure 67 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase des SP2.

L'activité basale de la catalase chez les SP2, après 24 h de culture est de 273 ± 31.81 $\mu\text{mol/ml/min/mg}$ de prot (100%).

De même cette activité augmente suite d'un traitement par 5, 10 μM de Qr puis elle diminue après un traitement à la Qr 25, 50, 100 μM .

Malgré cette diminution cette activité semble être supérieure à celle du témoin. Les pourcentages au témoin sont de 493.64 %, 575.72%, 401.73%, 320.8 %, 297.68%.

(Tableau 60, figure67).

Discussion

Nous constatons qu'en présence des concentrations croissantes d'indométacine le taux de nitrites, des anions superoxyde, MDA, LDH augmentent, contrairement au taux de GSH, et l'activité de la catalase qui sont d'autant plus petites que la dose d'indométacine est élevée. Ce résultat indique un effet toxique d'indométacine.

La diminution de l'activité de la catalase et des taux du GSH est expliquée par la consommation de ces molécules durant le stress oxydatif.

Ces résultats suggèrent l'induction d'un stress oxydatif au niveau des deux lignées.

L'augmentation de l'activité de la LDH est expliquée par la lise cellulaire et l'ouverture des pores de perméabilités ce qui permet à la LDH de diffuser dans les surnageants ce qui nous permet par la suite de la doser, ce résultat explique également l'induction du stress oxydatif en présence d'indométacine.

L'augmentation de MDA en fonction des doses croissantes d'indométacine reflète l'induction d'un stress oxydatif par l'indo au niveau des deux lignées cellulaires VERO et SP2. Ces résultats suggèrent que le stress oxydatif induit par l'indométacine altère les lipides membranaires ce qui cause la mort cellulaire.

L'augmentation des taux de nitrites et des anions superoxyde indique que la production des ROS et à l'origine de ce stress.

La présence de 15 μ M de Quercétine ou 50 μ M de NAC réduit la production de nitrites des anions superoxyde, MDA et l'activité de la LDH et prévient à la fois la diminution de l'activité de la catalase et le GSH.

Par ailleurs, les deux antioxydants testés exercent par eux même un effet pro-oxydant dose dépendant à forte concentration.

L'ensemble de ces résultats suggère que :

- L'effet protecteur de ces deux molécules sur les deux lignées à faible dose.

-La NAC et la Qr sont des molécules capables de capter les radicaux libres.

-La NAC et la Qr ont corrigé efficacement toutes les activités, ceci suggère qu'une implication directe des ROS dans le processus toxique d'indométacine.

1-L'indométacine perturbe la balance Redox en libérant des ROS conduisant à un stress oxydatif

La réduction photochimique des anions superoxyde qui peuvent être mise en évidence par leur capacité à réduire le NBT en bleu de tetrazolium qui absorbe la lumière à 560 nm.

Le dosage de cette anion au court du temps et très difficile, comme nous avons vue précédemment, les DO diminuent puis elle se stabilise cela est expliqué par l'activité SOD en détournant les anions superoxyde, inhibe cette réaction et peut être quantifié sur cette base, ce qui représente l'inconvénient de cette méthode (Remon, 2006), d'ailleurs ce qui explique les chutes des DO en fonction du temps.

Le stress oxydatif s'exprime par l'augmentation des taux des anions superoxyde qui sont d'autant plus petits que les doses d'indométacine sont élevées.

L'oxygène (espèces réactives oxygénées) :

La phosphorylation oxydative représente la voie métabolique énergétique principale de l'organisme assurant une production importante et permanente d'ATP. En effet, l'ATP est produit dans la mitochondrie grâce à l'énergie qui résulte du transfert des électrons du NADH et FADH₂ à l'oxygène par l'intermédiaire d'une série de transporteurs d'électrons appelés collectivement la chaîne de transport d'électrons (Koechlin, 2006).

L'accumulation des ROS détériore les macromolécules (Kaminski et Coll., 2005).

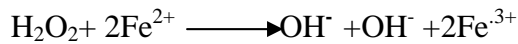
Quand O₂^{•-} se trouve en présence de NO[•], il peut rapidement interagir avec celui-ci pour donner une espèce radicalaire hautement réactive, le ONOO⁻, celui-ci est un médiateur important de la peroxydation lipidique et de la nitration protéique, En absence de NO immédiatement accessible, O₂^{•-} est rapidement transformé par la superoxyde dismutase (SOD) en une ROS plus stable mais hautement diffusible, le H₂O₂. Cette ROS est ensuite détoxifiée en H₂O soit par les catalases ou par la glutathion peroxydase (GSH-PX).

L'étude des espèces radicalaires n'est pas aisée, spécialement en biologie, étant donné les nombreuses réactions et interactions impliquées dans les phénomènes radicalaires (Huet et Coll., 2006). Lors du métabolisme oxydatif, 2 à 5% de l'oxygène consommé est converti en radical superoxyde.

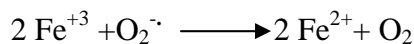
Ceci est dû à des électrons qui échappent de la chaîne respiratoire et se fixent directement sur l'oxygène moléculaire (O₂), selon la réaction : $O_2 + 2e^- \longrightarrow 2 O_2^{\bullet -}$

Le radical superoxyde est peu réactif, il ne traverse pas les membranes cellulaires et il est rapidement dismuté en peroxyde d'hydrogène lors de la réaction suivante, catalysée par un des membres des la famille des superoxyde dismutase (SOD) : $2 O_2^{\bullet -} + 2 H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$.

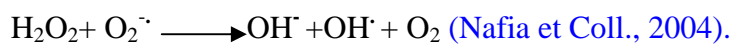
Le peroxyde d'hydrogène est également peu réactif mais il a la capacité de traverser les membranes cellulaires et en présence de métaux de transition tel que le Fe^{2+} , de se transformer en un puissant oxydant, le radical hydroxyle, selon les réactions suivantes (ou réaction de Fenton) :



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



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



La faible réactivité de ces deux radicaux $\text{O}_2^{\cdot-}$, NO, permet d'ailleurs leur utilisation par l'organisme comme médiateur régulant des fonctions biologiques telle la vasodilatation Capillaire par contre les radicaux comme les radicaux peroxydes (ROO) ou surtout le radical hydroxyle (OH) sont extrêmement réactifs, et c'est avec toutes les molécules des tissus vivants qui pourront donc être présentées, à fort, comme des piègeurs, voire des antioxydants. D'autres espèces dérivées dites espèces actives de l'oxygène comme le peroxyde d'oxygène (H_2O_2), ou le nitroperoxyde (ONOOH), sont elles aussi réactives. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Favier, 1996).

L'arginine est l'unique substrat des NO-synthétase pour la production de NO, en cas d'apport massif d'arginine la production de NO est augmentée, ce qui pourrait avoir des effets cytotoxiques majeurs (Suchner et Coll).

Le NO inhibe réversiblement la cytochrome c oxydase, et entre en compétition avec l'oxygène au niveau du site III de la chaîne respiratoire (Borown et Coll., 2002). D'autre part, le peroxynitrite (ONOO $^\cdot$) radical mixte produit par l'interaction, inhibe le complexe I et III de manière irréversible inhibe également l'ATP synthase, l'aconitase, la créatine kinase et provoque l'ouverture des pores de perméabilités de transitions (Borown et Coll., 1999)

Des études antérieures portant sur la toxicité rénale de l'indométacine et du diclofénac sodique ont montré l'implication du stress oxydatif (Hickey et Coll., 2001).

Les mitochondries sont une cible pour les ROS qui sont libérés dans le microenvironnement tissulaire lors d'un stress oxydatif, induit par des AINS (Basivireddy et Coll., 2000).

Beaucoup de travaux (pacher et Coll) ont montré que l'oxyde de nitrites est cytotoxique est due au peroxynitrite produit par une réaction entre l'oxyde de nitrite est anions superoxyde (Paulo., Baua et Coll., 2007)

Les antioxydants dans le régime préviennent l'oxydation des lipoprotéines qui peut être due à l'augmentation de la concentration des radicaux libres (Kalogeropoulos et Coll., 2006)

Le stress oxydatif est dû à une production de ROS qui provoque par la suite une faiblesse du système de défense antioxydant. Les ROS réduisent les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Pincemaila, Fabian Degruneb et Coll., 2007).

2-L'indométacine perturbe la balance redox en libérant des ROS conduit à une peroxydation lipidique

Il s'agit de la dégradation des lipides biologiques qui peuvent constituer des marqueurs non invasifs de l'action des radicaux libres oxygénés.

Reste l'indice biochimique le plus connue étant la mesure d'un dérivé de la peroxydation lipidique les malondialdéhyde (MDA) ou la détermination des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique TBA et ça s'exprime par l'augmentation des DO à 532 nm.

Le stress oxydatif se traduit par l'augmentation des doses optiques de MDA qui sont d'autant plus grandes que la concentration d'indométacine est élevée.

Le malondialdéhyde est le test le plus pratique bien que controversé après réaction avec l'acide thiobarbiturique, elle mesure pas uniquement le MDA libre contenue dans le système étudié mais peut également mesurer Le MDA généré in vitro lors de la décomposition des peroxydes lipidique au cours de la réaction de chauffage avec l'acide. Enfin plusieurs autres substances comme les sucres les acides aminés et la bilirubine sont capables de réagir avec l'acide thiobarbiturique.

La sensibilité de ce test peut être augmentée par le traitement chromatographique par HPLC du mélange réactionnel (Devega et Coll).

Les espèces radicalaires ont pour cible privilégiée les membranes lipidiques elles entraînent leur fluidification et leur dégradation par peroxydation lipidiques. Celle-ci est caractérisée par trois phases :

-L'initiation de laquelle le radical OH^\bullet , en particulier, déstabilise les acides gras polyinsaturés des membranes cellulaire donnant naissance à un radical lipidique.

-La propagation par réaction en chaîne des radicaux lipidiques produits sur les autres acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire.

-Enfin, la terminaison par réaction des radicaux lipidiques entre eux. (Huet et Coll., 2006).

Les PN accumulés dans les tissus lésés, s'activent et libèrent le précurseur des espèces réactives d'oxygène (l'anion superoxyde, $O_2^{\cdot-}$) et des protéases, capables d'attaquer les composants majeurs de la matrice extracellulaire.

En effet, lors d'un stress oxydatif sévère, toutes les structures et les macromolécules sont altérées et les voies métaboliques sont inactivées, ce qui provoque la mort cellulaire par nécrose (Parola, 2001)

La peroxydation lipidique en présence des anions superoxyde est un procédé important pour le métabolisme cellulaire, division et différenciation, biosynthèse des hormones, prostaglandines en contre partie ils ont inconvénients par différents procédés. Les anions superoxyde sont scavenger par le système de défense (les antioxydants)

La peroxydation dans la membrane cellulaire implique fortement des perturbations ce qui cause la mort cellulaire Les radicaux libre causent des modifications au niveaux de ADN (Kaminski, Kurhalyuk et Coll., 2005).

L'attaque des radicaux libres au sein des double liaisons lipidiques membranaires induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information. Lors d'un soufre oxydant, les ROS non « détoxiquées » attaquent et endommagent les macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, l'ADN. La toxicité des ROS s'exerce également sur les protéines.

Les ROS sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine, l'histidine sur lesquels le radical s'additionne, modifiant la conformation de la protéine.

Sur les acides aminés contenant un atome de soufre tels que la cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduits à la création de ponts désulfure, donc à l'agrégation de plusieurs molécules de protéines.

Les ROS sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de provoquer ainsi des fragments protéiques. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ attaque également les protéines des tissus de soutien, comme le collagène du tissu conjonctif. L'oxydation de ces acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction protéique.

Les protéines oxydées perdent leur capacité à se fixer correctement sur un récepteur ou à fixer spécifiquement un ligand, altérant l'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, et également une cible majeure des ROS.

Les radicaux $O_2^{\cdot-}$ et NO provoquent des lésions de l'ADN. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques : cassures chromosomiques, mutations, délétions, amplifications, à l'origine d'un dysfonctionnement au niveau du métabolisme protéique (Koechlin, 2006).

3-L'indométacine perturbe la balance redox en consommant le GSH durant le stress oxydatif

La glutathion réductase est une enzyme NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit) dépendante qui catalyse la réduction du glutathion oxydé GSSG en glutathion GSH.

Le GSH formé peut réagir avec l'acide 5 dithiobis (2 nitro benzoïque DTNB pour produire du thionitrobenzoate (TNB) facilement mesurable à 412 nm (smith et Coll., 1988).

La cellule dispose pour sa protection du glutathion (Lahouel et Coll., 1988), c'est le principal antioxydant qui protège la cellule, il agit par captation des radicaux toxiques grâce à son pôle SH (Lahouel et Coll., 1998).

Le GSH est le thiol non protéique le plus abondant dans les cellules des mammifères. Le GSH possède plusieurs fonctions importantes pour la viabilité cellulaire. C'est un antioxydant majeur, soit en interagissant directement avec différents ROS (radical hydroxyle, superoxyde, NO), soit en tant que Co-substrat de la GPX, soit en régénérant d'autres antioxydants.

C'est aussi une forme de transport et de stockage de cystéine et du NO, un régulateur de l'apoptose et de la prolifération cellulaire, un partenaire dans les réactions de détoxification des xénobiotiques auxquels il est conjugué par la GSH S-transférase. Il est aussi considéré comme un cofacteur des réactions d'isomérisation et également impliqué dans la synthèse des désoxyribonucléiques et dans le métabolisme des leucotriènes, des prostaglandines, des stéroïdes et des mélanines. Enfin, il permet de garder les groupements SH des protéines cellulaires sous forme réduite, contribuant ainsi au maintien du potentiel redox de la cellule et donc au maintien de bon nombre de processus de signalisation (Nafia et Coll., 2004)

Le glutathion est un tripeptide (composé de cystéine, de glycine et de glutamate) qui sous sa forme réduite (GSH), agit comme antioxydant, soit directement en interagissant avec OH^{\cdot} ou H_2O_2 , soit indirectement en tant que substance de l'enzyme glutathion peroxydase, Le glutathion peroxydase est une enzyme cytoplasmique qui permet de convertir le H_2O_2 en eau, et de maintenir sous forme réduite les protéines et la vitamine E, Le Sélénium est un cofacteur à l'activité de cette enzyme (Dervaux et Coll., 2006)

Un radical très réactif capable de réagir avec plusieurs molécules, l' $HOCl$ oxyde le GSH en un dérivé sulfamide cyclique stable, ce qui empêche le glutathion réductase de le réduire, entraînant l'augmentation de la forme oxydée GSSG, l'altération des systèmes antioxydants et la perturbation de l'homéostasie redox (Keith et Coll., 1998).

Le GSH se trouve dans plusieurs types de cellules rein, muscle, poumon, foie, cerveau.

L'augmentation de MDA produit en fin de la peroxydation lipidique réduit le taux du GSH (Deliorman et Coll., 2007). Ce qui concorde avec nos résultats et prouvera les fortes corrélations entre les différents marqueurs et les activités enzymatiques.

Les enzymes telles que les superoxydes dismutases, dépendantes du cuivre et du zinc ou du manganèse comme la catalase, la GSH peroxydase, dépendante du sélénium, et la GSH réductase, le GSH, les vitamines en particulier C et E. Ces systèmes sont importants non seulement pour limiter les lésions tissulaires mais également pour prévenir l'excès de production de facteurs pro-inflammatoires. (Jean-Pascal et Coll)

Glutathion (GSH) est considéré comme un système de renvoi très important des radicaux (Yamada et Coll., 2008).

4-L'indométacine pereturbe la balance redox en consommant la catalase durant le stress oxydant

L'inhibition de la catalase suggère la consommation du H₂O₂ (Sakano et Coll., 2004).

L'oxydation des protéines altère leurs fonctions (catalase) (Winke, 1998)

De plus, l'inhibition de l'activité catalase chez les rats traités par 20mg/Kg d'ibuprofène (traduit une insuffisance dans le système antioxydant), et la conséquence de l'oxydation de groupements sulfhydryl de site actif de la catalase par les ROS produit par les PN infiltrant le tissu rénal après traitement par cette dose de l'ibuprofène (Rachel et Coll., 2002).

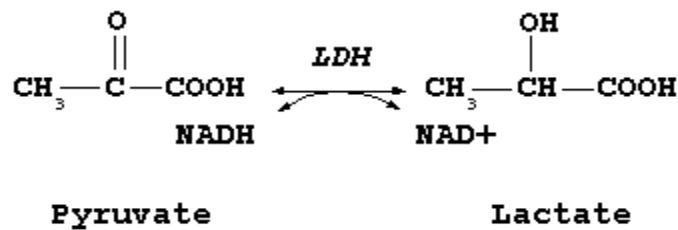
La baisse de la teneur en catalase montrée chez les VERO est SP2 est un indice d'une sur consommation de cette molécule pendant le stress oxydatif. Elle peut être expliquée par la peroxydation des lipides gastriques (coefficient de corrélation entre les différents marqueurs) induite par la production des ROS et sa consommation en détournant H₂O₂ en oxygène plus eau.

Les catalase, en présence de fer, catalyse la conversion du H₂O₂ en oxygène moléculaire et en eau, leur localisation exclusive, intraperoxysomale limite leur action (Dervaux et Coll., 2006).

Logiquement, à cause de la diminution de la production de H₂O₂, l'induction de l'activité catalase aussi diminue (Tuncela N et Coll., 1999).

5-L'indométacine perturbe la balance redox en activant la LDH

La lactate déshydrogénase (LDH) ou déshydrogénase lactique est une [enzyme](#) présente dans une grande diversité d'organismes, aussi bien végétaux qu'animaux. Elle catalyse la conversion réciproque de [pyruvate](#) et de [lactate](#) accompagnée de la conversion concomitante de NADH et de NAD⁺.



6-La NAC restaure efficacement l'activité enzymatique et rétablit la balance redox

Les radicaux libres de l'oxygène constituent des espèces certes réactives, mais indispensables au fonctionnement de l'organisme. Malgré leur caractère dangereux, l'organisme les maîtrise par un ensemble des molécules piègeurs dont les vitamines antioxydantes et d'enzymes comme les superoxydes dismutases et les peroxydases. Malheureusement ce système de contrôle peut se dérégler, dans un type cellulaire ou un tissu précis, par suite d'une surproduction massive (inflammation, irradiation, intoxication) ou d'un effondrement des défenses endogènes par suite de préférences en micronutriments antioxydants (vitamine C, E).

L'administration de la NAC (50 µM) a totalement restauré l'activité catalase ce qui suggère une altération directe de la molécule protéique, ou une inhibition de son activité par les ROS ([Stadtman, 1990](#))

La NAC prévient efficacement la diminution de l'activité catalase et les altérations histologiques, La NAC est un puissant antioxydant des ROS et constitue également un précurseur du glutathion intracellulaire ([Bernhard et Coll., 1998](#) ; [De Rosa et Coll., 2000](#) ; [Banacloàcha, 2001](#)).

L'effet protecteur de la NAC serait dû à son action scavenger sur les radicaux libres tels que les ROS ([Droge, 2000](#))

La NAC empêche la liaison des métabolites actifs avec les lipides membranaires de la cellule hépatique ce qui se traduit par la diminution des taux cellulaires en MDA ([Cotgreave et Coll., 1997](#)).

De plus, la NAC est capable de délivrer le GSH et la cystéine, qui protège contre la toxicité induite par les AINS ([Jeng et Coll., 1994](#)), Enfin le rôle primaire de la NAC dans le traitement de l'intoxication par le paracétamol est le remplacement de la réserve hépatique en glutathion ([Lauterburg et Coll., 1983](#)).

A faible dose, la NAC est protectrice, alors qu'à forte dose, probablement du fait d'une interaction avec le Fe, elle peut avoir des effets pro-oxydants délétères. Ainsi, quand la NAC est administrée conjointement avec la déféroxamine, un chélateur de fer, la production d'anion superoxyde est diminuée et la survie des animaux septiques réanimés est augmentée (Dervaux et Coll., 2006). Ces résultats sont en accords avec nos résultats.

NAC précurseur du glutathion

La N-acétyl cystéine est une molécule synthétique, précurseur du principal antioxydant cellulaire, le GSH, grâce à son résidu cystéine (Sener et Coll., 2003)

NAC, activité antioxydante

Comme pour le glutathion, l'activité antioxydante de la N-acétyl cystéine est supportée par les propriétés chimiques du groupement thiol (-SH) de la cystéine, capable de scavenger les radicaux libres (Sener et Coll., 2003)

La N Acétyl cystéine a une grande affinité pour l'OH et l'HOCl (Areoma et Coll., 1989).

LA NAC augmente l'activité des complexes I et IV de la chaîne respiratoire mitochondriale in vitro et in vivo. Elle stimule ainsi à respiration et la production d'ATP par les mitochondries, ce qui inhibe la génération des ROS (Banaclocha, 2001).

Plusieurs travaux ont montré que la NAC augmente l'expression de la catalase, enzyme d'un système antioxydant cellulaire (Polidoros et Scandaélios, 1999).

NAC activité anti-apoptotique

La NAC protège différents types cellulaires contre une variété de stimuli pro apoptotiques, en inhibant le facteur de transcription NF-KB par réduction des groupements thiols de ses résidus cystéines. Elle active également les voies de signalisation intracellulaire, qui aboutissent à la production de molécules anti-apoptotique, comme la Bcl-2 (Zafarullah et Coll., 2003)

La NAC restaure l'activité catalase et le taux de MDA à des valeurs témoins. Ces effets protecteurs de la N-Acétyl cystéine sont dus à son activité antioxydante. Ce qui est en accord avec nos résultats.

La famille des flavonoïdes, porte des substances pouvant diminuer cette toxicité parce qu'ils ont une structure qui leur permet de piéger les radicaux libres en les neutralisant. Cependant, très peu de données ont été publiées sur l'effet des flavonoïdes sur la peroxydation lipidique.

De plus, les taux de glutathion obtenus chez les rats prétraités par les flavonoïdes (60 mg/kg) sont supérieurs à ceux du témoin pendant les trois jours suivant l'administration du

paracétamol 200 mg/kg, de la vinblastine 2 mg/kg et du cyclophosphamide 80 mg/kg. Alors que chez les rats recevant les médicaments seuls, sont inférieurs de ceux du témoin.

Cette diminution est due à l'action toxique des médicaments et la production des métabolites toxiques.

Nos résultats confirment le rôle antioxydant des flavonoïdes. Ces derniers ont la capacité de capturer et de désactiver les radicaux libres. Ils agissent en empêchant de la fixation des radicaux libres sur l'ADN, par l'activation du système de détoxification et par la protection des parois capillaires. L'activité anti-radicalaire nécessite :

- Une structure orthodiphénolique du cycle B des flavonoïdes.
- Une double liaison 2 conjuguée avec la fonction 4-oxo, responsable de la délocalisation d'électrons stabilisant le radical aroxy.
- Des hydroxyles en position 3 et 5 qui permettent une activité anti-radicalaire maximale. Les études longitudinales montrent en effet qu'un haut niveau endogène d'antioxydants, grâce notamment à une alimentation riche en fruits et légumes, est associé avec un risque relatif de mortalité comme les maladies dégénératives : cancers, maladie cardiovasculaire, infection.

En effet, contrairement à la forme active de la cystéine, L- cystéine, la NAC présente une absorption lente et pénètre facilement dans les cellules, où elle est déacétylé favorisant la production intracellulaire de cystéine. Où, la cystéine est un acide aminé majeur voiture qui se combine successivement avec l'acide glutamique, puis la glycine, elle aboutit à la synthèse de GSH, directeur antioxydant présent dans la cellule.

La NAC agit sur la synthèse du glutathion. Cet effet a été démontré avec des cellules endothéliales humaines délaitées en glutathion et sur des lignées de cellules.

Pour son puissant antioxydant détoxification, pour le traitement par le paracétamol ou l'empoisonnement, la NAC prévient les dommages cellulaires ([Neige et Coll](#))

Ces résultats suggèrent que l'addition des molécules NAC contribue directement sur les ROS et indirectement sur GSH ([Yamada, Norinaga et Coll., 2008](#))

En plus du GSH la catalase, en présence de la NAC manifeste contre l'apoptose cellulaire ([Reyes-Reyes, Mihalil et Coll., 2008](#))

7-La quercétine restaure efficacement les activités enzymatiques et rétablie la balance redox

La quercétine est un flavonoïde class de polyphénols. Elle se trouve dans les fruits, légumes, huile d'olive, thé, elle manifeste avec un grand potentiel antioxydant de tous les autres flavonoïdes.

Les anions superoxyde sont responsable de la fragmentation de DNA, mais elle est prévenue par les composés phénoliques tels que les flavonoïdes, flavonol, Quercétine (Yucraet et Coll)

Pour se protéger contre cet oxygène toxique, notre organisme dispose d'un réseau antioxydant très complexe composé d'enzymes, de protéines transporteuses du fer et du cuivre, de vitamines, de caroténoïdes, de flavonoïdes ; l'absorption d'oignons provoque après quatre heures une augmentation maximale et significative de la concentration plasmatique en flavonoïdes (quercétine) qui est associée avec une diminution maximale de la concentration urinaire. En revanche, sur un traitement de longue durée, aucun effet n'est observé sur l'oxydation des lipides (Pincemaila et Coll).

Nombreuses études ont montré les propriétés bénéfiques de la quercétine, principalement leurs effets antioxydants et anticarcinogénique effectués à travers le régime (José Ruiz et Coll).

La quercétine inhibe le peroxyde d'hydrogène qui dénature le DNA ce qui conduit par la suite à des dégâts chez les lymphocytes humaines (Ochir, Shibamoto et Coll., 2004)

quercétine (10 M) inhibe les EET/ DHET métabolite génération par 79 % (Sandberg et Coll., 2004)

Plusieurs études ont montré que la quercétine est un puissant inhibiteur des radicaux libres (Kavutcu, Melzig, 1999).

Parallèlement, plusieurs travaux ont montré le rôle des flavonoïdes dans la désactivation des radicaux libres. Les extraits de propolis semblent apporter une protection contre les radicaux libres formés par des métabolismes hépatiques des trois médicaments (paracétamol, vinblastine et cyclophosphamide).

Ils empêchent la liaison de ces métabolites réactifs avec les lipides membranaires de la cellule hépatique, ce qui se traduit par la diminution des taux de MDA tissulaires. Principale conséquence : la peroxydation lipidique et une oxydation des groupes thiols des protéines (Lahouel, Boulkour et Coll., 2004)

De 1 à 10 mM de quercétine dans les cultures embryologiques augmente 25% des cellules vivantes.

Une petite diminution des nitrites pendant 3 jours et aucun changement n'a été remarquée en présence de la Quercétine.

La quercétine est un inhibiteur d'adénosine triphosphate mitochondriale et phasphodiesterase. La quercétine feu manifesté sur toutes les cellules. La Quercétine à 10 μ M agit sur la croissance cellulaire (Ternaux et Coll., 2004)

Des recherches montre que la quercétine procède un effet protecteur contre les ROS. Des études récentes ont montré que la quercétine procède un potentiel inhibiteur et il est aussi antioxydant ([Rahden-Staron et Coll., 2001](#)).

L'ouverture des pores des perméabilités de transition et l'apoptose

La mitochondrie joue un rôle clé dans la régulation de l'apoptose ([Zamzami et Coll., 1996](#); [Kroeme, 1997](#); [Brenner Coll., 1998](#)).

En effet, la phase effectrice de l'apoptose comporte l'ouverture des pores de transition de perméabilité (MPT) des mitochondries et la libération de molécules photogène comme le cytochrome c, les capasses 2, 3, et 9 et le facteur AIF (Apoptosis Inducing factor). Cette phase de libération est sous le contrôle des protéés Bcl-2, qui empêchent la libération du cytochrome c ([Kluck et coll., 1997](#); [Vander Heiden et Coll., 1997](#); [Yang et Coll., 1997](#)).

L'ouverture des pores MPT est induite par plusieurs facteurs cellulaires, incluant les ROS, est inhibée par la cyclosporine A (CsA) ([Bernadi, 1999](#))

L'ouverture MPT est un canal oligo-protéique constitué au niveau de la membrane interne, ce qui provoque le gonflement de la mitochondrie par entrée d'eau et une dissipation du potentiel membranaire nécessaire au fonctionnement de L'ATP synthétase et la diffusion du cytochrome c et de l'AIF vers le cytoplasme ([Degterev et Coll., 2001](#))

La peroxydation est un mécanisme important de réaction physiologique sur le stress environnemental. L'addition des antioxydants modifie ce motif, touchant le paramètre d'oxydation.

Le traitement par l'antioxydant réduit efficacement le stress oxydatif, en présence des fortes doses d'indométacine se qui explique l'avantage de ce type de traitement en cas de surdosage ou de suicide, cela est expliqué par l'ouverture des pores de transition de perméabilité.

Conclusion

Les cellules VERO et SP2 ont été utilisées pour le contrôle de vaccins. Ce travail est original car nous avons pu caractériser la toxicité de l'indométacine sur ces deux lignées de cellules :

Les cellules VERO dérivées de rein de singe et les cellules SP2 dérivées du myélome de la moelle osseuse.

L'implication du stress oxydatif a été recherchée à l'aide d'un antioxydant naturel, la quercétine (Qr) et d'un scavenger des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et précurseur du glutathion, la N-Acétyl-Cystéine (NAC).

L'incubation des cellules VERO et SP2 24h avec des concentrations croissantes d'indométacine (50-4500 μM), a induit une augmentation dose dépendante de la production de nitrites, des anions superoxyde et de malondialdéhyde (MDA), marqueurs du stress oxydatif et la réduction parallèle du taux de GSH et de l'activité catalase. La toxicité est confirmée par le relargage dose dépendant du lactate déshydrogénase (LDH).

La Qr 15 μM et la NAC 50 μM ont totalement neutralisé les taux des nitrites, des anions superoxyde, de MDA et des activités de la LDH et restauré les systèmes de défense antioxydants (GSH, catalase). Cet effet protecteur est inversement proportionnel aux concentrations excessives d'indométacine.

Par ailleurs, les deux antioxydants testés exercent par eux même un effet pro oxydant dose dépendant, qui vient se surajouter à la toxicité de l'indométacine. Cette observation suggère une utilisation modérée et contrôlée des molécules anti oxydantes naturelles, en cas de suicide surdosage et en particulier dans les chimiothérapies caractérisées par une production excessives de ROS.

Bibliographie.

A

- [1] Amor B., Mery C., Gery A. 1980. La tiopronine, nouvel antirhumatismal à action lente dans la polyarthrite rhumatoïde. *Rev. Rhu* ; 47(3):157-162
- [2] Angelos M., Kutala V., Torres C., Stoner J. 2005. Mohammad M., Periannan K. Hypoxic Reperfusion of the Ischemic Heart and Oxygen Radical Generation. *Am. J. Physiol Heart Circ Physiol.*, 26:341-347.
- [3] Aguilar S., Guillermo, Armando, Herrera A., Daniel A., Alejandro, Zamilpa E., Nestor L., Jaime T. 2007. Toxicological and cytotoxic evaluation of standardized extracts of *Galphimia glauca*. *Ethnopharmacol*, 109(1):35-40.

B

- [4] Blocka K., Dromgoole S., Furst D., Paulas H. 1980. Single dose pharmacokinetics of 195 AU. Auranof in using a total radiation counting chamber, *Arthritis Rheum*, 23(6):654.
- [5] Barzilai D., Dickstein G., Enat R., Banan H., Lighting C., Gellei B. 1978. Cholestatic jaundice caused by D-penicillamine. *Ann. Rheum. Dis.*, 37:98-100.
- [6] Bunch T., Gduffy J. 1980. Disease modifying drugs for progressive rheumatoid arthritis. *Mayo. Clin. Proc.*, 55(3):161-179.
- [7] Brassine A. 1984. Le traitement de l'ulcère gastro-duodéal par les prostaglandines. Revue de la littérature. *Méd. Hygiène.*, 1588, 3921-3925.
- [8] Guyon B., Ory J., Delacour J., Wagschal G, Daoudal P., Bender W., Whelton A., Beschorner W., Darwish M., Hall-Craggs M., Soley Babany G., Pessayre D. 1984. Hépatites dues aux nouveaux anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Gastroentérites. Biol.*, 8 : 523-529.
- [9] Buchanan W., Rooney P., Rennie J. 1983. Aspirin and the salicylates. *In: Huskisson E.C., Anti-inflammatory drugs. Clinical pharmacology and therapeutic series*, 3:55-96.
- [10] Bogoyevitch M., Court N., Draper K., Dhillon A., Abas L. 2000. Intact mitochondrial electron transport function is essential for signalling by hydrogen peroxide in cardiac myocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 32:1469-1480.
- [11] Banci L., Benedetto M., Bertini I., Piccioli M., viezzoli M. 1998. Solution structure of reduced monomeric Q133M2 copper, zinc superoxide dismutase (SOD). Why is SOD a dimeric enzyme? *Biochemistry*, 37(34):11780-11791.

- [12] Barondeau D., Kassmann C., Bruns C., Tainer J., Getzoff E. 2004. Nickel superoxide dismutase structure and mechanism. *Biochemistry*, 43(25):8038-8047.
- [13] Benav P., Crofford L., Wilder R., Hla T. 1995. Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblasts by prostaglandin E and interleukin-1: a potential mechanism for inflammatory angiogenesis. *FEBS Lett*, 372 (1):83-87.
- [14] Brown G and Borutaite V. 2002. Nitric oxide inhibition of mitochondrial respiration and its role in cell death. *Free Radic. Biol. Med.*, 23:56-60.
- [15] Banaclocha. 2001. Therapeutic potential of N Acetyl Cysteine in age-related mitochondrial neurodegenerative diseases. *Med. Hypotheses*. 56:472-477.
- [16] Bernadi P. 1999. Mitochondrial transport of cations. Channels, exchangers and permeability transition. *Physiol. Rev.*, 79:1127-1155.
- [17] Basivireddy J., Jacob M., Ramamoorthy P., Pulimood A., Balasubramanian K. 2003. Indomethacin-induced free radical-mediated changes in the intestinal brush border membranes. *Biochemical pharmacology*, 65:683-695.
- [18] Bâle E., Shultz D., Volanakis J., Aznold P., Gottlieb N., Sakai K., Stroud R. 1974. Inactivation of Cl in rheumatoid synovial fluid purified Cl and esterase by gold compounds. *Clin. Exp. Immunol.*, 17:395-406.

C

- [19] Cahen Y. Pharmacologie. Paris. 3^e éd: 333-338.
- [20] Camus J., Crozet J., Prier A., Leca A. 1976. Complications du traitement de la polyarthrite rhumatoïde par la D. pénicillamine. *Thérapie*, 31:385-397.
- [21] Camus J., Prier A. 1982. Les traitements de fond sulfhydrylés dans la polyarthrite rhumatoïde. *Méd. Hyg.*, 40: 2437-2440.
- [22] Camus J., Jaffe J., Crouzet J., Frier A., Mercier A., Dubois A. 1978. La pyrithioxine, nouveau traitement de fond de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev. Rheum.*, 45(2):95-100.
- [23] Camus J., Massias J., Le Chevalier P., Chaolat V., Crouzet J., Prier A. 1983. Un nouveau traitement de fond de la polyarthrite rhumatoïde : la pyrithioxine. In: *9^e Congrès Européen de Rhumatologie*, Wiesbaden (RFA), Williams H.J. Low-dose D-penicillamine therapy in rheumatoid arthritis: a controlled, double blind clinical trial. *Arthritis Rheum*, 26: 581.

- [24] Cohen D., Orzel J., Taylor A. 1981. Instants of mothers receiving gold therapy. *Arthritics Rheum*, 24:104-105. Cooke A.R. 1973. The role of acid in pathogenesis of aspirin-induced gastrointestinal erosions and hemorrhage. *Am. J. Dig. Dis.*, 18:225-237.
- [25] Collum L., Bowen D. 1971. Ocular side-effects of ibuprofen. *Br. J. Ophthalmol.*, 55: 472-477.
- [26] Cooke A. 1973. The role of acid in pathogenesis of aspirin-induced gastrointestinal erosions and hemorrhage. *Am. J. Dig. Dis.*, 18:225-237.
- [27] Cooke M., Evans M., Dizdaroglu M., Lunec J. 2003. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.*, 17(10):1195-1214.
- [28] CHen K., Suh J., Carr A., Morrow J., Zeind J., Frei B. 2000. Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 279 (6):406-1412.
- [29] Camp H., Lio O., Wise S., Hong Y., Frankowski C., Shen X., Vanbogelen R., Leff T. 2000. Differential activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma by troglitazone and rosiglitazone. *Diabetes*, 49 (4):539-547.
- [30] Carra C., Zhu B., Frei B. 2000. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ Res.*, 7(5):349-354.
- [31] Cotgreave I. 1997. N acandylcysteine. Pharmacological consideration and experimental and clinical application of specific cyclooxygenase-2inhibitors. *Arthritis Rheu*, 43:4-13.
- [32] Cadenas E., Boveris A., Rangan C., Stoppani A. 1977. Production of superoxyde radicals and hydrogen peroxyde by NADH- ubquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c Reduction from beef heart mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.*, 180:248-257.
- [33] Christelle K, 2006. Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. 20(4):165-177.
- [34] Chauvlat-Moachon L., Bronilhet A., Groud J. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens
- [35] Cooke A. 1973. The role of acid in pathogenesis of aspirin-induced gastrointestinal erosions and hemorrhage. *Am. J. Dig. Dis.*, 18: 225-237.

D

- [36] Davis J., Turner R., Collins R., Ruchte R., Kaufman J. 1977. Fenoprofen, aspirin and gold induction in rheumatoid arthritis. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 21(1):52-61.
- [37] Dearden J., Nicholson R. 1984. Correlation between gastric irritancy and anti-inflammatory activity of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J. Pharm. Pharmacol.*, 36: 713-715.
- [38] Danan G., Babany G. 1984. Les hépatites dues aux anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Rev. Prat.*, 34: 245-218.
- [39] Davis J., Struth A., Turner R., Pisko E., Ruchte I. 1974. Pirprofen and aspirin in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 25:618-623.
- [40] Davie S. 2003. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun*, 305(3):761-770.
- [41] Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.*, 82: 47-95.
- [42] Degterev A., Boyce M., Yuan J. 2001. The channel of death. *The journal of Cell Biology*, 155:695-697.
- [43] Dervaux N., Rabuel C., Mebazaa C. 2006. Approche thérapeutiques du stress oxydatif au cours du sepsis.130-137.
- [44] Didem D., Nilfer O., Ender E., Fatma E. 2007. Hepatoprotective effect of *Vitis vinifera* L. leaves on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 112(1):145-151.

E

- [45] Erel O. 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37: 277-285.
- [46] Esteban R, 2006. Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques: vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. *Actualité chimique*.

F

- [47] Frisk-Holmberg M., Bergvist V., Domeji-Nyberg B., Hellstörn L., Jansson F. 1979. Chloroquine serum concentration and side effects: evidence for dose-dependent kinetics. *Clin. Pharmacol, Ther.* 25(3):346-350.

- [48] Farber J., Kyle M., Coleman J. 1990. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest.* 62(6):670-679.
- [49] Fridovich I. 1998. The trail to superoxide dismutase. *Protein Sci.*, 7(12):2688-2690.
- [50] Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada Y., Nakajima Y., Nakayama O., Makishima M., Matsuda M., Shimomura I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest.*, 114(12):1752-1761.
- [51] Fellin R. 1998. Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Biol Med.*, 25(6):676-681.
- [52] Fosslien E. 1998. Adverse effects of non steroidal anti-inflammatory Drugs on the gastrointestinal system. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 28:67-81.
- [53] Fosslien E. 2001. Review. Mitochondrial Medicine-Molecular pathology of Defective oxidative phosphorylation. *Annals of clinical Laboratory Science*, 31:25-67.
- [54] Favier A, 1997. Le stress oxydant: Intérêt, de sa mise en évidence en biologie médicale et problème posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Bio. Clin.* 55:9-16.
- [55] Fosslien E. 2001. Mitochondrial Medicine-Molecular pathology of Defective oxidative phosphorylation. *Review annals of clinical Laboratory Science*, 31:25-67.
- [56] Francisco J., Perez O, Daniel V., Nilo M. 2002. Ascorbic acid and flavonoid-peroxidase reaction as a detoxifying system of H₂O₂ in grapevine leaves. *Phytochemistry*, 60(6):573-580.
- [57] Favie A. 2003. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel. *Thérapeutique*, 108-115.

G

- [58] Gottlieb N., Gray R. 1980. Pharmacokinetics of gold in rheumatoid arthritis. *Agents Actions, suppl.*, 8:529-538.
- [59] Gofton J., Brien W.. 1982. Effects of auranofin on the radiological progression of joint erosions in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 9(8):169-172.
- [60] Giannini E., Brewer E., Person A. 1984. Blood gold concentration in children with juvenile rheumatoid arthritis undergoing long-term oral gold therapy. *Ann. Rheum. Dis.*, 43:228-231.

- [61] Gottlieb N. 1979. Metabolism and distribution of gold compounds. *J. Rheumatol.*, 6(5):2-6.
- [62] Guyon B., Ory J., Delacour J., Wagschal G., Daoudal P. 1983. Accidents néphrologiques des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Rev. Méd., Interne (Paris)*. 4: 189-198.
- [63] Gerber R., Paulus H., Jenrich R., Lederer M., Bluestone R., Bland W., Pearson C. 1974. Gold kinetics following aurothiomalate therapy: use of a whole-body radiation counter. *J. Lab. Clin. Med.*, 83: 778-789.
- [64] Gerber D. 1971. Inhibition of heat aggregation of human gammaglobulins by histidine, gold, thiomalate and penicillamine. *Arthritis Rheum.* 14:383.
- [65] Guichardant M., Taibi-tronche P., Lagarde M. 1998. Covalent modifications of aminophospholipids by 4-hydroxynonenal. *Free Radic. Biol. Med.*, 25:1049-1056.
- [66] Guichardant M., Bernoud-Hubac N., CHantegrel B., Deshayes C. 2002. Lagarde M. Aldehydes from n-6 fatty acid peroxydation. Effects of aminophospholipids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 67(2-3):147-9.
- [67] Golub., Yakovenko O., Prykhod'ko A., Lukashov S., Bdzholia V., Yarmoluk S. 2007. Evaluation of 4, 5, 6, 7-tetrahalogeno-1H-isoindole-1, 3(2H)-diones as inhibitors of human protein kinase CK2 RS. 97:105-900.
- [68] Golub A., Yakovenko O., Prykhod'ko A., Lukashov S., Bdzholia G., Yarmoluk S.M. 2007. Evaluation of 4, 5, 6, 7-tetrahalogeno-1H-isoindole-1, 3(2H)-diones as inhibitors of human protein kinase CK2. *Biochimica Biophysica acta*, 1784(1):143-149.
- [69] Göknür G, Zerrin T., Elcin O., Nesrin S. 2009. Antioxidants alleviate electric field-induced effects on lung tissue based on assays of heme oxygenase-1, protein carbonyl content, malondialdehyde, nitric oxide, and hydroxyproline. 407(4):1326-1332.

H

- [70] Hinicle P., Butow R., Racker E., Chance B. 1967. Partial resolution of the enzymes catalyzing oxidative phosphorylation. XV Reverse electron transfer in the flavin-cytochrome beta region of the respiration chain of beef heart submitochondrial particles. *J. Biol. Chem.*, 242: 5169-5173.
- [71] Holzenberger M., Dupont J., Ducos B., Leneuve P., Geloën A., Even P., Cervera P., Leboucq Y. 2003. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature*, 421(6919):182-187.

- [72] HLA T. Ristimaki S., Appleby J., Barriocanal G. 1993. Cyclooxygenase gene expression in inflammation and angiogenesis. *A. N.Y. Acad. Sci.*, 696 (197): 197-204.
- [73] Hendrickson H., Sahafayen M., Bell M., Kqufman Q, Hadwiger M., Lunte CE. 1994. Relationship of flavonoid oxidation potential and effect on rat hepatic microsomal metabolism of benzene and phenol. *Pharm Biomed Anal.*, 12:3325-341.
- [74] Hickey E., Raje R., Reid V., Gross S and Ray S. 2001. Diclofenac induced in vivo nephrotoxicity may involve oxidative stress-mediated massive genomic DNA fragmentation and apoptotic cell death. *Free Radical Biology and Medicine*. 31:139-152.
- [75] Huet O., Nguyen-Khoa T., Dranteau T. 2006. Méthodes d'évaluation du stress oxydatif. 121-123.

I

- [76] Ilchyshyn A., Vickers C. 1983. Yellow nail syndrome associated with penicillamine therapy. *Acta Derm. Venetol.*, 63:6, 554
- [77] Iannuzi L., Dawson N., Zein N., Kushner I. 1983. Does drug therapy slow radiographic deterioration in rheumatoid arthritis *N. Engl. J. Med.*, 309(17):1023-1028.
- [78] Iles K., Dickinson D., watanabe N., Iwamoto T., Forman H. 2002. AP-1 activation through endogenous H₂O₂ generation by alveolar macrophages. *Free Radie. Biol. Med.*, 32: 1304-1313.
- [79] Iwonna R., Hanna C., Maria S. 2001. Induction of rat liver cytochrome P450 isoenzymes CYP 1A and CYP 2B by different fungicides, nitrofurans, and quercetin. *Mutation Reseach*. 498(1,2):57-66.

J

- [80] Joet F., Orehek J., Vervloet D., Arnaud A. 1983. Bronchiolites oblitérantes après prise de D-pénicillamine (Trolovol) dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde. *J. Méd., Marseille*. 2(8):245-246.
- [81] Jean-Pastor M., Jean P., Garbe L., Andrac L., Lauret Y., Jouglard J. 1984. Vascularite grave au cours d'un traitement par le fenbufène. *Thérapie*, (39):305-309
- [82] Jaffe I.A., Philadelphia. 1979. Penicillamine treatment in rhumatoid. *In: Mc Carthy D.J. Arthritis and allied conditions*, 9^e éd:368-374,
- [83] Jiang C., Ting A., Seed B. 1998. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*, 391:82-86.

- [84] Jensen P. 1966. Antimycin-insensitive oxidation of succinate and reduced nicotinamide-adenine dinucleotide in electron-transport particles. I. Ph dependency and hydrogen peroxide formation. *Biochem. Biophys. Acta.* 122:157-166.
- [85] Jeng J., Kuo M., Hahn L., and Kuo M. 1994. Genotoxic and nongenotoxic effects of Bandel ingredients on oral mucosal fibroblasts in vitro. *J Dent Res.* 73:1043-1049.
- [86] Julien B., Fania B., Attilio D., Serge R., Ahcène Boumendjel., Edwige N., Pierre-A. 2009. Linear solvation energy model to quantify the affinity of flavonoid derivatives toward P-glycoprotein. *Eropean journal of Pharmaceutical Sciences*, 36(2, 3):254-264.
- [87] Jean-Pascal. 2002. Redox regulation of gene expression and control by nutrients. *Nutrition Clinique et métabolisme*, 16(4):70.
- [88] Jaffe I., Philadelphia. 1979. Penicillamine treatment in rheumatoid. *In: Mc Carthy D.J. Arthritis and allied conditions*, 9^e éd: 368-374.
- [89] Jean-Pierre T., Paule P. 2002. Effect of quercetine on survival and morphological properties of cultured embryonic rat spinal motoneurons. *Neuroscience letters. Phytochemistry*, 332(1):33-36.

K

- [90] Kirjner M. Camus J.P. 1981. Myasthénie liée au traitement de la P.R. par la pyriothioxine. *Nouv, Presse méd*, 9:3098.
- [91] Koren G. 1984. *Pediatr. Pharmacol*, 4, 25, cite par *Inpharma*, Indomethacin alters digoxin kinetics in preterm infants. 438, 14K. Interstitial nephritis, proteinuria, and renal failure cauded by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Am. J. Med.*, 76:1006-1012.
- [92] Kurumbail R., Stevens A., Gierse J., Mcdonald J., Stegeman R., , Gildehaus D., Mayashiro J., Penning T ., Seibert K., Isakson P., Stallings W. 1996. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti- inflammatory agents. *Nature*,384 (6610):644-648.
- [93] Kaynar H., Meral M., Turhan H., Keles M., Celik G., Akcay F. 2005. Glutathione peroxidase. Glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Lett.*, 28:227(2):133-9.
- [94] Khalil A. 2002. Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis. *Can J Physiol Pharmacol.*, 80(7):662-669.
- [95] Keaney J., Larson M., Vasan R., Wilson P., Lipinska I., Corey D., Massaro J.,

Sutherland P., Vita J., Benjamin E. 2003. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 23(3):434-9.

- [96] Keith M, Geranmayegan A, Sole M. 1998. Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol.*, 31:1352-6.
- [97] Kluck R., Bossy E, Green D. 1997. The release of cytochrome c from mitochondria. A primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science*, 275:1132-1136.
- [98] Katsuhisa S., Yuji I., Shinji O., Yusuke H., Shosuke K. 2004. Copper-mediated oxidative DNA damage induced by eugenol: possible involvement of O-demethylation. *Mie*. 514-8507.
- [99] Katsuhisa S., Yuji I., Shinji O., Yusuke H., Shosuke K. 2004. Copper-mediated oxidative DNA damage induced by eugenol: possible involvement of O-demethylation. *Mie*. 565(1):35-44.

L

- [100] Littler T. 1981. Antirheumatic drugs. *Pharmacol. Ther.* 15, 1, 45-68 Lyle W.H. 1978. Penicillamine in pregnancy. *Lancet*, 1:549.
- [101] Luukkainen R. 1980. Chrysotherapy in rheumatoid arthritis. *Scand. J. Rheum. Suppl.*, 34: 1-56.
- [102] Lijnen P., Greseneken D., Fagard R., Staessen J., Amery A. 1984. Effect of Indomethacin on active and inactive rennin in sodium-replete men at rest and during exercise. *J. lab. Clin. Méd.*, 103:667-683.
- [103] Louis J. 1984. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens en pédiatrie (2^e partie). *Pédiatrie*, 39:295-313.
- [104] Lorber A., Kunishima D., Simon T. 1983. Selective inhibition of T suppressor lymphocytes (Ts) during chrysotherapy (CRx). *Clin. Pharmacol. Ther.*, 33:2- 233.
- [105] Lengfelder E., Fuchs C., Younes M., Weser U. 1979. Functional aspects of the superoxide dismutative action of Cu-penicillamine. *Bioch. Biophys. Acta.*, 567:492-502.
- [106] Lauterburg B., Corcoran G., Mitchell J. 1983. Mechanism of action of N-acandylcysteine in the protection against the hepatotoxicity of acandaminophen in rats in vivo. *J.Clin. Invest.*, 71:980-991.

- [107] Lahouel M., Ouadi O., and Khiari N. 1998. Effants hepatic and hematologique du paracetamol. *Saidal info*, 7:60-6.
- [108] Lahouel M., Boulkour S., Segueni J., Fillastre P. 2004. vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipid-peroxydation increasing liver glutathione concentration. *Pathologie biologie*, 52(6):314-322.
- [109] Léophonte P., Guérin C., Lebas X., Liard F., Boulanger P. 2005. Oxidatif-stress and COPD. Role of infection Prevention. 36(5):245-252.

M

- [110] Moezzi B., Khozein R., Poymehr F. *Heart J*. 1980. Reversal of digoxin-induced changes in erythrocyte electrolyte concentrations by penicillamine in children. *Jap*. 21:335.
- [111] Moller S., Moller Graabaek P. 1977. A unified method for the determination of gold in biological fluids by flameless atomic absorption spectroscopy. *Scand. J. clin. Invest*. 37:91-94.
- [112] Matoso L., 1982. Rhumatologie. Nouvelles acquisitions thérapeutiques. *Med. Hyg.*, 40: 55-58
- [113] Moller Pedersen S., Moller Graabaek P. 1977. A unified method for the determination of gold in biological fluids by flameless atomic absorption spectroscopy. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 37:91-94.
- [114] Munthe E., Guldal G., Jellum E. 1979. Increased intracellular glutathion during penicillamine treatment for rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2:1126-1127
- [115] Moumen R., Nouvelot A., Duval D., Lechevalier B., Viade R. 1997. Plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.*, 151(1):35-39.
- [116] Matés J., Perez-Gomez C., Nunez D., Castro I. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.*, 32(8):595-603.
- [117] Mccord J., Fridovich I. Superoxide dismutase. 1969. An enzymatic function for erythrocytin (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244:6049-6055.
- [118] Marnett L. 2000. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 21(3):361-370.
- [119] Masubuchi Y., Saito H., Horie T. 1998. Structural Requirements for the hepatotoxicity of non-steroidal anti-inflammatory Drugs in Isolated rat hepatocytes. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 287:208-213.

- [120] Mirkovic N., Voehringer D., Wmstory M.D, Conkey D., McDonnell T., and Meyn R. 1997. Resistance to radiation-induced apoptosis in Bcl-2-expressing cells is reversed by depleting cellular thiols. *15*:1461.
- [121] Morel Y and Barouki R. 1999. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem, J.* 348:1-496.
- [122] José M., José E., Angel Asensi M., Jordi M., Yolanda. Short-term oral toxicity of quercetin and pterostibene in Swiss mice. 22-15.
- [123] Milena G., Turattia K., Afonso R., Medeirosa., Buffona A., Carla D., Bonanc F., Sarkisb, Grace S., Pereiraa. 2004. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* decreases nucleotide hydrolysis in rat blood serum. *Journal of orthnopharmacologie*, 97(1):73-77.
- [124] Mirkovic N., Voehringer D., story M., McConkey D., McDonnell T., Meyn R. 1997. Resistance to radiation-induced apoptosis in Bcl-2-expressing cells is reversed by depleting cellular thiols. *Oncogene*. 15(12):1461-1470.
- [125] Maria José., Estela J., Angel M., Jordi M., Yolanda Pico. 2006. Short-term oral toxicity of quercetin and pterostibene in Swiss mice. *Toxicology letters*, 164(1): S 275-S 276.
- [126] Mia Sandberg L., Starkb K., Eliassona E., Oliwb E., Ranea A. 2005. Biosynthesis of epoxyeicosatrienoic acids varies between polymorphic CYP2C enzymes. *Biochem Biophys Res Commun*. 327(4):1052-7.
- [127] Milena G., Turattia K., Afonso R., Medeirosa., Buffona A., Bonanc C., Sarkisb F, Grace S., Pereira G. 2005. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* decreases nucleotide hydrolysis in rat blood serum. *Entnopharmacol*, 97(1):73-77.
- [128] Maura L., Laura R., Francesco G., Samanta G., Piero D. 2002. Protection against ultraviolet B-induced oxidative DNA damage in rabbit corneal-derived cells (SIRC) by 4-coumaric acid. *Toxicology*, 184(2,3):141-147.
- [129] Maria Teresa G., Falcocchio S., Grippa E., Mazzanti G., Battinelli L., Nicolosi L., Lambustab D., Saso L. 2001. Antimicrobial and Anti-Lipase Activity of Quercetin and Its C2-C16 3-O-Acyl-Esters. *Bioorganic and medicinal chemistry*, 10(2):269-272.
- [130] Monique G., Bonnefont-Roussel D., Abedinzadeh Z., Jore D. 2003. Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? 1-96.

N

- [131] Nation R., Hackett L., Dusei L., Ilett K. 1984. Excretion of hydroxychloroquine in human milk. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 17:368-369

- [132] Needs C., Brooks P. 1985. Occasional review -1-. Antirheumatic medication in pregnancy. *Br. J. Rheumatol.*, 24:282-290.
- [133] Nimni M., Deshmukh K., Gerth N. 1972. Collagen defect induced by penicillamine. *Nature New Biol.*, 40: 220-221.
- [134] Negeshi M., Koizumi A., Ichikawa A. 1995. Biological actions of delta 12 prostaglandin J2. *J. Lipid Mediat Cell Signal.* 12(23):443-448.
- [135] Nick K., Mylona A., Chiou A., Maria S., Ioannou, Nikolaos K. 2007. Retention and distribution of natural antioxidants (a-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil. *Laboratory of Food Chemistry-Biochemistry-Physical Chemistry*, 40(6):1008-17.
- [136] Nese Tuncela N., Torea F., Sahinturk V., Tuncelc M. 1999. Vasoactive intestinal peptide inhibits degranulation and changes granular content of mast cells: a potential therapeutic strategy in ontrolling septic shock. 21(1):81-89.
- [137] Nafia I., Nieoullon A., Kerkerian L., Had-Aissouni L. 2005. Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations, Consequences of neuronal viability. 24(5):502-509.
- [138] Nafia I., Nieoullon A., Kerkerian L. 2005. *Annale francais d'anesthésie et de réanimation.* 24:502-509.

O

- [139] O'Brien W., Bagby G. 1985. Rate adverse reactions to non-steroidal anti-inflammatory drugs. First of four parts. *J. Rheumatol.*, 12:13-20.
- [140] O'Brien W., Bagby G. 1985. Rate adverse reactions to non-steroidal anti-inflammatory drugs. Second of four parts. *J. Rheumatol.* 12:347-353
- [141] Olusis O. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord.*, 2002. 26(9):1159-1164
- [142] Ochi H., Shibamoto T., Matsufuji H. 2006. Formation and inhibition of genotoxic malonaldehyde from DNA oxidation controlled with EDTA. *Food and Chemical Toxicologie.* 44(2):236-241.

P

- [143] Pincemaila J., Degruneb F., Voussurec S., Malherbec C., Paquotd N., Jean-Olivier., Defraigne B. 2007. Effect of a diet rich in fruits and vegetables on the plasmatic antioxidant rates and of the markers of the oxidative damage. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21(2):66-75.

- [144] Philadelphia L., Fibiger, Huskisson E. Specific therapy for rheumatoid arthritis. In: Turner P., *Clinical Pharmacology and therapeutics proceeding of the first world conference*, 5^e éd: 298-303.
- [145] Pasero G., Pellegrin P., Ciompi M., Colamussi V., Barbieri P., Mazzoni M. 1980. La tiopronine, nouveau traitement de fond de la polyarthrite rhumatoïde. Etude ouverte de 158 cas. *Rev. Rheum*, 47(3):163-168.
- [146] Poderoso J., Carreras M., Lisdero C., Riobo N., Schopfer F., Boveris A. 1996. Nitric oxide inhibits electron transfer superoxide production in rat heart mitochondria and submitochondrial particles. *Arch. Biochem. Biophys*, 3(2):85-92.
- [147] Picot D., Loll P., Garavito R. 1994. The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1. *Nature*, 367(6460):243-249.
- [148] Porter, N., Cadwell, S., Mills K. 1995. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 30:277-290.
- [149] Petronili V and Scorrano L. 1998. The mitochondrial permeability transition. *Bio Factors*. 8:273-281.
- [150] Polidopos A., Mylona P and Scandalios J. 1999. Transgenic tobacco plants expressing the maize Catogene have altered catalase levels that affect plant-pathogen interations and resistance to oxidative stress. *Transgenic Res.*, 10:555-569.
- [151] Porter N. 1986. Mechanises of the autoxidation of unsaturated lipids. *Acc Chem Res.*, 19:262-268.
- [152] Piotr K., Nataliya K., Leszek J., Mariusz K., Halyna T., Jacek J., Klawe ., Szady-Grad M ., Koim B., Wisniewska E., Ecophysiological determinations of antioxidant enzymes and lipoperoxidation in the blood of White Stork Ciconia from Poland PL. 65-51.
- [153] Piotr K., Kurhalyuk N., Jerzak L., Kasprzak M., Tkachenko H., Jacek J., Klawe., Szady-Grad M., Koim B., Wisniewska E. 2009. Ecophysiological determinations of antioxidant enzymes and lipoperoxidation in the blood of WhiteStork Ciconia ciconia from Poland. *Environmental Reseach*, 109(1):29-39.

R

- [154] Radi I. 1981. Polyarthrite rhumatoïde. Treatment par la pénicillamine. *Méd. Hyg.*, 39:1121- 1133
- [155] Rynes R., Krohel G. Falbo A., Reinecke R., Wolfe B. Bartholomew L. 1979. Ophtalmologic safety of long term hydroxychloroquine treatment. *Arthritis Rheum.*, 22:832-836

- [156] Richter J., Renge L., Pinale R., Oates R. 1980. Analysis of treatment terminations with gold and antimalarial compounds in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 7:153-159
- [157] Rothermich N. 1980. Chrysotherapy in rheumatoid arthritis. In : Huskisson R., oujeau J., Guillaume J., Revez J., Touraine R. 1984. Toxidermies dues aux anti-inflammatoires non cortisonés. *Ann. Méd. Intern., (Paris)*. 135:633-636.
- [158] Reynolds J., Prasad A., *Martindale*. 1982. Aspirin and similar analgesic and anti-inflammatory agents. In: *the extrapharmacopoeia*, London, *Pharmaceutical Press*. 32^e éd:234-282.
- [159] Ramachandran A., Moellerin G D., Shiv A S., Levonen A., Patel R, Parthasathy S. darley-usmar V. 2002. Activation of c-Jun N-terminal kinase and apoptosis in endothelial cells mediated by endogenous generation of hydrogen peroxide. *Biol. Chem.*, 383:693-701.
- [160] Refsgaard H., Tsai L., Stadtman E. 2000. Modifications of proteins by polyunsaturated fatty acid peroxidation products. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 97(2):611-616.
- [161] Reichheld J.P., Meyer E., Khafif M., bonnard G., Meyer Y. 2005. The major mitochondrial thioredoxin reductase in Arabidopsisthaliana. *FEBS Lett.* 579(2):337-342.
- [162] Ristimaki A., Narko K., Hla T. 1996. Down-regulation of cytokine induced cyclooxygenase-2 mRNA transcript isoforms by dexamethasone: evidence for post-translational regulation. *Biochem.* 318:325-331.
- [163] Reyes R., Mihalis I. Panayiotidis. 2008. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis PII. S1383-5718.
- [164] Reyes R., Mihalis I. Panayiotidis. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis. 664(1, 2):3-22.

S

- [165] Shultz D., Volanakis J., Aznold P., Gottlieb N., Sakai K., Stroud R. 1974. Inactivation of Cl in rheumatoid synovial fluid purified Cl and esterase by gold compounds. *Clin. Exp. Immunol.*, 17:395-406.
- [166] Stein H., Paterson A., Atrins C., Teufel A., Robinson H. 1980. Adverse effects of D-penicillamine in rheumatoid arthritis. *Ann, intern, Med.*, 92:24-29.
- [167] Shettar S., Chatto Padhyay R., Wolstenholme R., Swinson D. 1984. Diffuse alveolitis on a small dose of penicillamine. *Br. J. Rheumatol.*, 23(3): 220-224.
- [168] Smith M., Brooks P. 1984. Gold compounds in rheumatic diseases-2. *Med. J. Aust.*,

140: 77-81.

- [169] Sany J., Rosenberg G., Serre H. 1976. La Chrysothérapie : résultats et effets secondaires. *R.M.S.M. I*: 831-841.
- [170] Sany J., Clot J. 1979. Immunorhumatologie à l'usage du Praticien. Ed. méd. Spécia, Weisman M.J., Hannifin D.M. – Management of rheumatoid arthritis with oral gold. *Arthritis Rheum*, 22(8):922-925.
- [171] Salvetti A., Pedrinelli R., Alberici P., Magagna A., Abdel-Hag B. 1984. The influence of indomethacin and sulindac on some pharmacological actions of atenolol in hypertensive patients. *Br. J. clin. Pharmacol.*, 17: 108S-111S.
- [172] Svendsen U., Gerstoft J., Troels M., Christensen P., Lorenzen I. 1984. The renal excretion of prostaglandins and changes in plasma renin during treatment with either sulindac or naproxen in patients with rheumatoid arthritis and thiazide treated heart failure. *Rheumatol*, 11: 779-782.
- [173] Sharpe G., Thalme B., Sune Larsson K. 1974. Studies on closure of the ductus arteriosus. XI. Ductal closure in utero by a prostaglandin synthetase inhibitor. *Prostaglandins*, 8:363-36.
- [174] Schattenkirchner M. La chrysothérapie de la polyarthrite rhumatoïde. Etudes pharmacocinétiques et cliniques. *Compendia Rheumatologica*. 1^{ère} éd: 3.
- [175] Stadtman E., Oliver C. 1991. Metal-catalyzed oxidation of proteins Physiological consequences. *J Biol Chem.*, 266(4):2005-2008.
- [176] Santoro M., Benedetto A., Carruba G., Garaci E., Jaffé B. 1980. Prostaglandin A compounds as antiviral agents. *Scienc*, 209:1032-1034.
- [177] Suzuki K., Ito Y., Ochiai J., Kusuhara Y., Hashimoto S., Tokudome S., Kojima M., Wakai K., Toyoshima H., Tamakoshi K., Watanabe Y., Hayakawa N., Maruta M., Watanabe M., Kato K., Ohta Y., Tamakoshi A. 2003. Relationship between obesity and serum markers of oxidative stress and inflammation in Japanese. *Asian Pac J Cancer Prev.*, 4(3):259-266.
- [178] Stentz F., Umpierrez G., Cuervo R., Kitabchi A. 2004. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes*, 53(8):2079-286.
- [179] Smith W., Garavito R., Dewitt D. 1996. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *JBiol Chem.*, 271(52):33157-60.
- [180] Schuste R. 1998. Molecular mechanisms of prostaglandin transport. *Annu Rev. Physiol.*, vol 60(221), p.221-242.

- [181] Stadman E. 1990. Protein oxydation. *Free radical Biol. Med.*, 9: 315-325.
- [182] Souza M., Silveira, 1997. Inhibition of lipid peroxidation by ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa* L. *Phytomedicine* 4:25–29.
- [183] Stratil, B. Klejdus V. 2006. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*, 71(4):1741-1751.
- [184] Sandra Yucra., Gasco M., Rubio J., Nieto J., Gustavo F., Gonzales M. 2008. Effect of different fractions from hydroalcoholic extract of Black Maca (*Lepidium meyenii*) on testicular function in adult male rats. *National Library of Medicine*. 89(5):1461-7.
- [185] Stratil B., Klejdus V. 2007. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*. 71(4):1741-51.
- [186] Stoilova I., Krastanov A., Stoyanova A., Denev P. 2007. Gargova a Antioxidant activity of a ginger extract *Food chemistry*, 102(3):764-770.
- [187] Snow N., DE Vries N., Van Z. 1987. Second Primary Cancers in the Lung in Head and Neck Cancer Patients a Challenge. 23(6):883-886.
- [188] Soares A., 2005. effet du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes. thèse de doctorat

T

- [189] Thomas D., Gallus A., Brooks P., Tampi R., Geddes R., Hill W. 1984. Trombokinetics in patients with rheumatoid arthritis treated with D-penicillamine. *Ann. Rheum. Dis.*, 43 402-406
- [190] Trotta F., Scaramelli M., Cervi G., Virgili A. 1984. Thiopronine-induced pemphigus vulgaris in rheumatoid arthritis. *Scand J. Rheum.*, 13(1): 93-95.
- [191] Thyss A., Milano G., Kubar J., Namer M. 1986. Clinical and pharmacokinetic evidence of a life-threatening interaction between methotrexate and ketoprofen. *Lancet.*, 1, 256-258
- [192] Tontonoz P., Nagy L., Alvarez J., Thomazy A. 1995. Evans M. PPARgamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell*. 93(2):241-252.
- [193] Tarragoa J., Sansberroa P., Filipb R., Lopezb P., Gonzaleza A. 2004. Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings. *Scientia Horticulturae*. 103(4):479-488.

U

- [194] Urakawa H., Katsuki A., Sumida Y., Gaballa E.C., Murashima S., Morioka K., Maruyama N., Kitagawa N., Tanaka T., Hori Y., Nakatani K., Yano Y., Adachi Y. 2003. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab.*, 88(10):4673-4676 and vascular signal transduction mechanisms. *Microcirculation*, 1996. 3(1):1-17.

V

- [195] Vernon Roberts B., Dore J., Jessop J., Henderson W. 1976. Selective concentrations and localizations of gold in macrophages of synovial and other tissues during and after Chrysotherapy in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 35:477-485.
- [196] Vrhovac B. 1984. Anti-inflammatory analgesics and drugs used in gout. In: Dukes M.N.G., *Meyler's side effects of drugs*, 10^e éd:151-182.
- [197] Vincanot A., Gaussem P. 1997. physiologie et régulation cellulaire du système de la protéine C. *Ann. bio. Clin.*, 55:17-24.
- [198] Van kuijk F., Siakotos A., Fong L., Stephens R., Thomas D. 1995. Quantitative measurement of 4-hydroxyalkenals in oxidized low-density lipoprotein by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Biochem.* 224(1):420-424.
- [199] Vincanot A., Gaussem P. 1997. physiologie et régulation cellulaire du système de la protéine C. *Ann. bio. Clin.*, 55:17-24.
- [200] Vergely C., Benkhadra S., Girard G, Rochette L. 2006. Altération de la balance redox, aspects généraux. 108-114.
- [201] Vincanot A., Gaussem P. 1997. physiologie et régulation cellulaire du système de la protéine C. *Ann. bio. Clin.*, 55:17-24.
- [202] Voirin B., Lebreton P. 1972. Influence de la température sur le métabolisme des flavonoides chez *Asplenium trichomanes*. *Phyto chemistry.*, 11(12):3541-3445.

W

- [203] Weinberger M. 1978. Analgesic sensitivity in children with asthma. *Pediatrics.* 62(1):910-915
- [204] Williams H., Zutski D., Mushin A. 1976. Ophthalmic screening of patients receiving ketoprofen or flurbiprofen medication for inflammatory and degenerative joint diseases. *Scand. J. Rheumatol.*, 14 (1):85-92

- [205] Wildfeuer A. 1983. Action of antirheumatic drugs on the function of human leucocytes. *Arzneimittelforsch.* 33(1, 5):780-783
- [206] Wolters M., Hermann S., Golf S., Katz N., Hahn A. 2005. Selenium and antioxidant vitamin status of elderly German women. *Eur J Clin Nutr.* 60(1):85-91.
- [207] 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.
- [208] Wolin M., Ahmad M., Gupte S. 2005. Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: basic concepts, current controversies, and potential importance of cytosolic NADPH. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 289(2):L159-L173.
- [209] Welton A. 1999. Nephrotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: physiologic foundations and clinical implications *Am J Med.*, 106:13- 24.
- [210] Weiss S. 1989. Tissue destruction by neutrophils. *N. Engl. J. Med.*, 320:365-376.
.2001. Anti-inflammatory Mediators in Gastrointestinal defense and Injury. *Exp Biol Med.*, 226 (11):1003-1015.
- [211] Wink D., Mitchell J. 1998. The chemical biology of nitric oxide. Insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic. Biol. Med.*, 25:434-456.
- [212] Wael A., Yamada M., Kojima M., Ogawa M. 2008. N-Acetyl cysteine prevents suppression of oral fibroblast function on poly (methylmethacrylate) resin. *Acta Biomaterialia.*, 5(1):391-398.

X

- [213] Xavier L., Reyes-Morales H., Marco A., Chavez-Soto, Maria del Carmen M., Soto-Gonzalez d., Svetlana V., Doubova B. 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. *Enthnopharmacol.* 83(1, 2):19-24.

Z

- [214] Zimmerman H. 1974. Aspirin-induced hepatic injury. *Ann. Intern. Med.*, 80: 103-105
- [215] Zamzami N., Susin S., Marchetti P. 1996. Mitochondrial control of nuclear apoptosis. *J. Exp. Med.*, 183:1533-1544.
- [216] Zafarullah M., Lia W., ylvestera J., Ahmadb M. 2003. Modular mechanisms of N-

acetyl cysteine actions. *Review. CMLS, Cell. Mol. Life Sci.*, 60:6-20.

Préparation des solutions:**Préparation du milieu de culture (DMEM):**

- SVF..... 10%
- Glutamine..... 10 ml
- Antibiotique..... 1.8 ml

Le milieu de culture doit être filtré pour éviter tout type de contamination.

Solution de trypsine-Versene: pH=7.2.**- solution de trypsine: PH =7.2 – 7.3.**

- NaCl..... 8g
- KCl..... 0.2g
- Rouge de phénol.....0.02g.
- Trypsine..... 2.5g
- Na₂HPO₄2H₂O..... 1.41g

(Quantité suffisante pour 1000ml).

-Solution de versene :

- NaCl..... 8g
- Na₂HPO₄2H₂O..... 1.41g
- Versene..... 0.2g
- Rouge phénol..... 0.019g
- KCl..... 0.29g

Quantité suffisante pour préparer 1000 ml de solution versene.

-L'eau physiologique :

- NaCl..... 9g
- Eau distillée (autoclavage a 105°C pendant 30min).... 1000ml

Quantité suffisante pour préparer 1000ml d'eau physiologique.

La solution sera filtrée par la suite.

Solution de griess:

-N-naphthylène-diamine dihydrochloride.....	0.03g
-Sulfanilamide.....	0.3g
-Eau distillé.....	30ml
-Acide orthophosphorique à 80%.....	882 µl

Solution NBT:

- NBT.....	0.02 g
- DMSO.....	250 µl
-PBS.....	750 µl
-PBS (compléter).....	10ml

Solution de DTNB:

-Pour une solution de 0.03 M.	
-Réactif DTNB.....	0.02 g
-Tampon phosphate (0.2 M, PH= 8).....	16.5 ml

Solution NAD

-NAD.	28.5 mg
-Eau distillée.....	4 ml

Solution lactate:

-Lactate.....	65.62 µL
-Tampon phosphate (10 mM,PH=9).....	20 ml

Solution TBA:0.8%

-TBA.....	0.032 g
-Acide acétique. 20%, PH=3.5.....	4 ml

Solution SDS:

-SDS.....	0.0324 g
-Acide acétique ph3.5 à 20 %.....	500µl

Tableau1 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les VERO.

Concentration (µM)	0	50	75	100	150	250	1500	4500
DO moy	0.049	0.092	0.106	0.112	0.323	0.447	0.471	1.087
E-type	±0,007	±0,017	±0,022	±0,004	±0,012	±0,024	±0,007	±0,017
N1 moy	26.49	49.73	57.3	60.54	174.59	241.62	254.59	587.57
E-type	±4.2	±9.56	±12.23	±2.29	±6.88	±13.38	±4.2	±9.56
Pourcentage d'augmentation Au témoin %	0	87.75	116.33	128.57	559.18	813.33	861.22	2118.37

Tableau2 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (µM)	0	50	75	100	150	250	1500	4500
DO moy	0.049	0.085	0.073	0.101	0.211	0.113	0.322	0.922
E-type	±0,001	±0,004	±0,009	±0,021	±0,009	±0,010	±0,014	±0,051
N1 moy	26.49	45.95	39.46	54.59	114.05	61.08	174.05	498.38
E-type	±0.746	±2.68	±4.97	±11.47	±4.97	±5.73	±8.03	±27.9
Pourcentage de réduction %	0	4.35	31.13	9.82	34.67	74.72	31.63	15.18

Tableau 3 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (µM)	0	50	75	100	150	250	1500	4500
DO moy	0.049	0.034	0.044	0.085	0.071	0.079	0.140	0.303
E-type	±0,001	±0,001	±0,002	±0,003	±0,002	±0,002	0,010	±0,009
N1 moy	26.49	18.38	23.78	45.95	38.38	42.7	75.68	163.78
E-type	±0.764	±0.7643	±1.53	±1.91	±1.53	±1.53	±5.73	±5.35
Pourcentage de réduction %	0	64.13	60.38	25.89	78.64	82.32	71.76	71.89

Tableau 4 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les VERO.

Concentrations (μM)	0	25	50	75	100	300	500
DO moy	0.049	0.071	0.134	0.244	0.307	0.405	0.588
E-type	$\pm 0,001$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,003$	$\pm 0,067$	$\pm 0,004$	$\pm 0,007$	$\pm 0,271$
N moy	26.49	38.38	72.43	131.89	165.95	218.92	317.84
E-type	± 0.764	± 0.3822	± 1.91	± 36.31	± 2.68	± 4.2	± 146.77
Pourcentage d'augmentation Au témoin %	0	44.90	173.47	397.96	526.53	726.53	1100

Tableau 5 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les VERO.

Concentrations (μM)	0	5	10	25	50	75	100
DO moy	0.049	0.073	0.149	0.188	0.604	0.803	0.841
E-type	$\pm 0,001$	$\pm 0,016$	$\pm 0,005$	$\pm 0,016$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,101$	$\pm 0,017$
N moy	26.49	39.46	80.54	101.62	326.49	434.05	454.59
E-type	± 0.764	± 8.79	± 3.06	± 9.17	± 0.3822	± 54.66	± 9.56
Pourcentage d'augmentation Au témoin %	0	48.98	204.08	283.67	1132.65	1538.7	1555.1

Tableau 6 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA.

Temps (min)		5	10	15	20	25	Pourcentage au témoin%
Concentration (μM)							
0	DO moy	0.394	0.494	0.634	0.823	1.590	100
	E-type	$\pm 0,0035$	$\pm 0,0084$	$\pm 0,0106$	$\pm 0,0141$	$\pm 0,0919$	-
50	DO moy	0.160	0.394	0.592	0.661	1.039	65
	E-type	$\pm 0,0035$	$\pm 0,1845$	$\pm 0,0113$	$\pm 0,0141$	$\pm 0,0190$	-
75	DO moy	0.149	0.385	0.434	0.598	0.897	56.41
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0113$	$\pm 0,0113$	$\pm 0,0346$	$\pm 0,0289$	-
100	DO moy	0.145	0.270	0.303	0.434	0.598	37.61
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0113$	$\pm 0,0113$	$\pm 0,0120$	$\pm 0,0113$	
150	DO moy	0.107	0.249	0.272	0.310	0.500	31.44
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0530$	$\pm 0,0141$	$\pm 0,0749$	$\pm 0,0282$	
250	DO moy	0.071	0.187	0.261	0.293	0.448	28.17
	E-type	$\pm 0,0113$	$\pm 0,0226$	$\pm 0,011$	$\pm 0,0367$	$\pm 0,0162$	
1500	DO moy	0.071	0.085	0.159	0.238	0.296	19.61
	E-type	$\pm 0,0077$	$\pm 0,0021$	$\pm 0,0084$	$\pm 0,0091$	$\pm 0,0155$	
4500	DO moy	0.069	0.088	0.105	0.139	0.176	11.06
	E-type	$\pm 0,0205$	$\pm 0,0226$	$\pm 0,0021$	$\pm 0,0120$	$\pm 0,0014$	

Tableau 7 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les VERO stimulée par le PMA.

Temps (min)		5	10	15	20	25	Pourcentage de réduction%
Concentration (μM)							
0	DO moy	0.394	0.494	0.634	0.823	1.590	100
	E-type	$\pm 0,0035$	$\pm 0,0084$	$\pm 0,0106$	$\pm 0,0141$	$\pm 0,0919$	
50	DO moy	0.112	0.224	0.292	0.360	0.472	- 54.57
	E-type	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0035$	$\pm 0,0042$	$\pm 0,0063$	$\pm 0,0070$	
75	DO moy	0.163	0.278	0.337	0.356	0.416	- 53.62
	E-type	$\pm 0,0077$	$\pm 0,0120$	$\pm 0,0141$	$\pm 0,0148$	$\pm 0,0169$	
100	DO moy	0.104	0.104	0.160	0.179	0.179	- 70.06
	E-type	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0042$	$\pm 0,0049$	$\pm 0,0049$	
150	DO moy	0.087	0.087	0.101	0.130	0.173	-65.4
	E-type	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0021$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0035$	
250	DO moy	0.018	0.055	0.083	0.011	0.125	-39.5
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0007$	
1500	DO moy	0.102	0.308	0.382	0.473	0.530	+79
	E-type	$\pm 0,0021$	$\pm 0,0049$	$\pm 0,0063$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0091$	
4500	DO moy	0.175	0.404	0.503	0.612	0.738	+310
	E-type	$\pm 0,0268$	$\pm 0,0615$	$\pm 0,0770$	$\pm 0,0940$	$\pm 0,1131$	

Tableau 8 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les VERO stimulée par le PMA.

Temps (min)		5	10	15	20	25	Pourcentage de réduction%
Concentration (μM)							
0	DO moy	0.394	0.494	0.634	0.823	1.590	100
	E-type	$\pm 0,0035$	$\pm 0,0084$	$\pm 0,0106$	$\pm 0,0141$	$\pm 0,0919$	
50	DO moy	0.200	0.249	0.325	0.500	0.750	-27.81
	E-type	$\pm 0,0318$	$\pm 0,0388$	$\pm 0,0516$	$\pm 0,0784$	$\pm 0,1180$	
75	DO moy	0.015	0.029	0.108	0.243	0.333	- 62.87
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0021$	$\pm 0,024$	$\pm 0,0544$	$\pm 0,0586$	
100	DO moy	0.096	0.161	0.159	0.216	0.307	-48.66
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0056$	$\pm 0,0070$	$\pm 0,0098$	
150	DO moy	0	0.182	0.102	0.154	0.310	-38
	E-type	± 0	$\pm 0,0077$	$\pm 0,0035$	$\pm 0,0056$	$\pm 0,0244$	
250	DO moy	0.281	0.301	0.329	0.344	0.434	-3.12
	E-type	$\pm 0,0318$	$\pm 0,0042$	$\pm 0,0049$	$\pm 0,0056$	$\pm 0,0007$	
1500	DO moy	0.018	0.048	0.123	0.151	0.160	-45.94
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0007$	
4500	DO moy	0.058	0.06	0.085	0.09	0.161	-8.5
	E-type	$\pm 0,0021$	$\pm 0,0021$	$\pm 0,0098$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0014$	

Tableau 9 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA.

temps (min) \ concentration (µM)		5	10	15	20	25	Pourcentage au témoin%
		0	DO moy	0.028	0.059	0.300	
	E-type	±0,0021	±0,0007	±0,0042	±0,0056	±0,0169	
25	DO moy	0.575	0.640	0.721	0.400	0.613	71.44
	E-type	±0,031	±0,036	±0,041	±0,022	±0,011	
50	DO moy	0.211	0.241	0.320	0.337	0.482	55.36
	E-type	±0,003	±0,004	±0,018	±0,005	±0,008	
75	DO moy	0.341	0.183	0.204	0.227	0.293	34.15
	E-type	±0,011	±0,009	±0,006	±0,007	±0,009	
100	DO moy	0.03	0.047	0.054	0.060	0.125	33.97
	E-type	±0,001	±0,001	±0,001	±0,0021	±0,004	
300	DO moy	0.016	0.030	0.039	0.054	0.093	14.57
	E-type	±0,0007	±0,0007	±0,0007	±0,0007	±0,001	
500	DO moy	0.032	0.047	0.043	0.054	0.058	10.84
	E-type	±0,0007	±0,0014	±0,0014	±0,0014	±0,0007	

Tableau 10 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde par les VERO stimulée par le PMA.

temps (min) \ concentration (µM)		5	10	15	20	25	Pourcentage au témoin%
		0	DO moy	0.028	0.059	0.300	
	E-type	±0,0021	±0,0007	±0,0021	±0,0070	±0,0169	
	DO moy	0.233	0.337	0.415	0.441	0.597	69
	E-type	±0,0035	±0,0063	±0,0077	±0,0077	±0,0106	
10	DO moy	0.272	0.272	0.424	0.499	0.545	63.52
	E-type	±0,2319	±0,2319	±0,0063	±0,2566	±0,1711	
25	DO moy	0.111	0.182	0.144	0.251	0.396	45.57
	E-type	±0,0035	±0,0056	±0,0487	±0,0077	±0,0120	
50	DO moy	0.110	0.152	0.179	0.193	0.220	25.64
	E-type	±0,0014	±0,0014	±0,0014	±0,0014	±0,0021	
75	DO moy	0.063	0.102	0.127	0.153	0.172	20.20
	E-type	±0,0077	±0,0127	±0,0162	±0,0197	±0,0134	
100	DO moy	0.062	0.063	0.069	0.087	0.100	11.65
	E-type	±0,0108	±0,0007	±0,0014	±0,0021	±0,0014	

Tableau 11 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la peroxydation lipidique des VERO

Concentration (μM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
0	0.035	$\pm 0,0007$	1,645	$\pm 0,0329$	0
50	0.072	$\pm 0,0254$	3,384	$\pm 1,19642$	105.7
75	0.109	$\pm 0,0162$	5,123	$\pm 0,76438$	211.43
100	0.128	$\pm 0,0296$	6,016	$\pm 1,39583$	265.71
150	0.154	$\pm 0,0381$	7,238	$\pm 1,79464$	340
250	0.161	$\pm 0,0084$	7,567	$\pm 0,39881$	360
1500	0.169	$\pm 0,0318$	7,943	$\pm 1,49553$	382.86
4500	0.194	$\pm 0,0134$	9,118	$\pm 0,63145$	454.28

Tableau 12 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage de réduction %
0	0.035	$\pm 0,0007$	1,645	$\pm 0,03323$	0
50	0.053	$\pm 0,0268$	2,491	$\pm 1,26289$	26.38
75	0.078	$\pm 0,0028$	3,666	$\pm 0,13294$	28.44
100	0.079	$\pm 0,0007$	3,713	$\pm 0,03323$	38.28
150	0.095	$\pm 0,0042$	4,465	$\pm 0,1994$	38.31
250	0.137	$\pm 0,0127$	6,439	$\pm 0,59821$	14.9
1500	0.0156	$\pm 0,0002$	0,7332	$\pm 0,00997$	90.88
4500	0.033	$\pm 0,0007$	1,551	$\pm 0,03323$	82.99

Tableau 13 : Effet de la NAC sur la peroxydation lipidique des VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage de réduction %
0	0.035	$\pm 0,0007$	1,645	$\pm 0,03323$	0
50	0.039	$\pm 0,0007$	1,833	$\pm 0,03323$	47.22
75	0.021	$\pm 0,0035$	0,987	$\pm 0,16617$	80.73
100	0.058	$\pm 0,0021$	2,726	$\pm 0,0997$	54.69
150	0.101	$\pm 0,0007$	4,747	$\pm 0,03323$	34.41
250	0.122	$\pm 0,0021$	5,734	$\pm 0,0997$	24.22
1500	0.017	$\pm 0,0021$	0,799	$\pm 0,0997$	89.94
4500	0.022	$\pm 0,0091$	1,034	$\pm 0,43204$	88.92

Tableau 14 : Effet de la NAC sur peroxydation lipidique des VERO.

Concentration (μM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
0	0.035	$\pm 0,0007$	1.645	$\pm 0,03323$	0
25	0.193	$\pm 0,0028$	9.07	$\pm 0,13294$	454.28
50	0.203	$\pm 0,0190$	9.54	$\pm 0,89732$	480
75	0.520	$\pm 0,0035$	24.44	$\pm 0,16617$	1385.71
100	0.552	$\pm 0,0084$	25.94	$\pm 0,39731$	1477.4
300	0.762	$\pm 0,1986$	35.81	$\pm 9,33876$	2077.14
500	1.099	$\pm 0,2503$	51.65	± 11.76	3040

Tableau 15 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique des VERO.

Concentration (μM)	DO moy	E-type	N moy	E- type	Pourcentage au témoin % %
0	0.035	$\pm 0,0007$	1,645	$\pm 0,03323$	0
5	0.188	$\pm 0,0028$	8,836	$\pm 0,13294$	437.14
10	0.236	$\pm 0,0007$	11,092	$\pm 0,03323$	547.28
25	0.328	$\pm 0,0282$	15,416	$\pm 1,32936$	837.14
50	1.113	$\pm 0,2807$	52,311	$\pm 13,19391$	3645.71
75	1.132	$\pm 0,0841$	53,204	$\pm 3,95485$	3134.28
100	2.02	$\pm 0,0353$	94,94	$\pm 1,6617$	5671.04
500	2.42	$\pm 0,3040$	113,74	± 14.29	6814.28

Tableau 16 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production du glutathion par les VERO.

Concentration (μM)	DO moy	E-type	N moy	E-type
0	1.7			
50	1.734	$\pm 0,1074$	45.084	± 2.794486
75	0.835	$\pm 0,0494$	21.71	± 1.286934
100	0.681	$\pm 0,0975$	17.706	± 2.537099
150	0.366	$\pm 0,0473$	9.516	± 2.587
250	0.244	$\pm 0,0622$	6.344	± 1.61786
1500	0.179	$\pm 0,0014$	4.654	$\pm 0,036769$
4500	0.106	$\pm 0,0304$	2.756	± 0.790545

Tableau 17 : Effet de la quercétine sur la production du glutathion par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μM)	DO1	DO2	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
50	3.471	$\pm 0,0728$	90.246	± 1.893632	100
75	2.721	$\pm 0,0827$	70.746	± 2.151019	225.86
100	1.503	$\pm 0,0799$	39.078	± 2.07748	120.7
150	0.347	$\pm 0,0028$	9.022	$\pm 0,073539$	225.63
250	0.348	$\pm 0,0014$	9.048	$\pm 0,036769$	42.62
1500	0.308	$\pm 0,0028$	8.008	$\pm 0,073539$	72.07
4500	0.507	$\pm 0,0098$	13.182	± 0.257387	378.3

Tableau 18 : Effet de la NAC sur la production du glutathion système par les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
50	2.197	$\pm 0,034$	57.122	± 0.900854	26.7
75	1.773	$\pm 0,0084$	46.098	± 22.06172	112.33
100	1.096	$\pm 0,0657$	28.496	± 1.709784	60.35
150	0.980	$\pm 0,0544$	25.48	± 1.415628	160.55
250	0.430	$\pm 0,0113$	11.18	± 0.294156	76.22
1500	0.288	$\pm 0,0028$	7.488	$\pm 0,073539$	6.89
4500	0.354	$\pm 0,0035$	9.204	$\pm 0,0913$	233.94

Tableau 19 : Effet de la NAC sur la production du glutathion par les VERO.

Concentration (μM)	DO moy	E-type	N moy	E-type
25	0.334	$\pm 0,00707$	8.684	$\pm 0,0018$
50	0.244	$\pm 0,01909$	6.344	± 0.4963
75	0.151	$\pm 0,07990$	3.926	± 2.077
100	0.058	$\pm 0,00212$	1.508	$\pm 0,0551$
300	0.045	$\pm 0,0212$	1.17	± 0.5515
500	0.020	$\pm 0,00070$	0.52	$\pm 0,0183$

Tableau 20 : Effet de la quercétine sur la production du glutathion par les VERO.

Concentration (μM)	DO moy	E-type	N moy	E-type
5	0.341	$\pm 0,00353$	8.866	$\pm 0,09191$
10	0.241	$\pm 0,00141$	6.266	$\pm 0,036769$
25	0.146	$\pm 0,07141$	3.796	± 1.856862
50	0.124	$\pm 0,05868$	3.224	± 1.525936
75	0.084	$\pm 0,01272$	2.184	± 0.330926
100	0.049	$\pm 0,00070$	1.274	$\pm 0,018385$

Tableau 21 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH chez les VERO.

Concentration (μM) Temps (S)		0	50	75	100	150	250	1500	4500
	30	N m	38,4	192	252	452,8	560,8	545,6	725,6
	E.typ	$\pm 12,4$	$\pm 8,8$	± 12	$\pm 94,5$	± 209	$\pm 1,69$	$\pm 12,4$	$\pm 91,4$
60	N m	41,6	212	336,8	483,2	584,8	562,4	727,2	880,8
	E.typ	± 4	$\pm 20,93$	$\pm 34,48$	$\pm 5,656$	± 216	$\pm 45,25$	$\pm 34,50$	$\pm 20,93$
90	N m	70,4	212	354,4	520	596,8	587,2	738,4	881,6
	E.typ	$\pm 10,1$	$\pm 10,7$	$\pm 4,8$	$\pm 5,65$	$\pm 111,2$	$\pm 1,69$	$\pm 10,1$	$\pm 10,7$
12	N m	76,8	212	354,4	528	596,8	595,2	740,8	882,4
	E.typ	$\pm 10,1$	$\pm 10,7$	$\pm 9,6$	$\pm 6,22$	$\pm 222,4$	$\pm 1,6$	$\pm 10,1$	$\pm 10,7$
150	N m	76,8	212	354,4	535,2	596,8	600	740,8	882,4
	E.typ	$\pm 10,1$	$\pm 10,7$	$\pm 9,6$	$\pm 6,22$	$\pm 253,$	$\pm 1,69$	$\pm 10,1$	$\pm 10,7$
180	N m	76,8	212	354,4	543,2	596,8	600	740,8	882,4
	E.typ	$\pm 10,1$	$\pm 10,7$	$\pm 9,6$	$\pm 6,22$	$\pm 142,4$	$\pm 1,69$	$\pm 10,1$	$\pm 10,7$
Pourcentage au témoin %	–	8.92	27.39	45.95	69.39	77.38	77.80	96.05	114

Tableau 22 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μ M) Temps (S)		0	50	75	100	150	250	1500	4500
	30	N m	38,4	59,2	91,2	100	100	427,2	406,4
E.typ		$\pm 12,4$	$\pm 0,56$	$\pm 56,0$	$\pm 11,3$	$\pm 11,3$	$\pm 7,35$	$\pm 53,1$	$\pm 5,091$
60	N m	41,6	60	100,8	104,8	104,8	436	408,8	282,4
	E.typ	$\pm 4,52$	$\pm 1,69$	$\pm 61,0$	$\pm 3,95$	$\pm 3,95$	± 0	$\pm 53,1$	$\pm 5,091$
90	N m	70,4	62,4	131,2	117,6	117,6	449,6	446,4	312,8
	E.typ	$\pm 9,05$	$\pm 0,56$	$\pm 77,4$	$\pm 7,35$	$\pm 7,35$	$\pm 7,91$	$\pm 53,1$	$\pm 16,40$
120	N m	76,8	64	157,6	125,6	125,6	449,6	446,4	339,2
	E.typ	$\pm 6,78$	$\pm 0,56$	$\pm 89,9$	$\pm 3,39$	$\pm 3,39$	$\pm 7,91$	$\pm 53,1$	$\pm 64,48$
150	N m	76,8	64,8	175,2	125,6	125,6	449,6	446,4	339,2
	E.typ	± 0	± 0	± 100	$\pm 3,39$	$\pm 3,39$	$\pm 7,91$	$\pm 53,1$	$\pm 64,48$
180	N m	76,8	64,8	185,6	125,6	125,6	449,6	446,4	430,4
	E.typ	$\pm 6,78$	$\pm 0,56$	$\pm 101,$	$\pm 3,39$	$\pm 3,39$	$\pm 7,91$	$\pm 53,1$	$\pm 64,48$
Pourcentage de réduction%		8.92	69.43	48.03	76.13	57.1	25.06	39.54	61.03

Tableau 23 : Effet de la NAC sur la l'activité de la LDH chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μ M) Temps (S)		0	50	75	100	150	250	1500	4500
	30	N m	38,4	114,4	232,8	232,8	130,4	119,2	141,6
E.typ		$\pm 12,4$	$\pm 1,69$	$\pm 3,39$	$\pm 3,39$	$\pm 12,6$	$\pm 1,86$	$\pm 3,39$	$\pm 3,95$
60	N m	41,6	116	261,6	261,6	164,8	125,6	184	332,8
	E.typ	$\pm 4,5$	$\pm 0,56$	$\pm 6,22$	$\pm 6,22$	$\pm 12,4$	$\pm 3,95$	$\pm 7,91$	$\pm 2,82$
90	N m	70,4	116	282,4	282,4	199,2	136	190,4	332,8
	E.typ	$\pm 9,0$	$\pm 0,56$	$\pm 3,39$	$\pm 3,39$	$\pm 11,8$	$\pm 5,65$	$\pm 1,69$	$\pm 2,82$
120	N m	76,8	116	293,6	293,6	243,2	136,8	192,8	332,8
	E.typ	$\pm 6,7$	$\pm 0,56$	$\pm 31,6$	$\pm 31,6$	$\pm 26,0$	$\pm 0,56$	$\pm 1,69$	$\pm 2,82$
150	N m	76,8	116	293,6	293,6	243,2	136,8	192,8	332,8
	E.typ	$\pm 6,7$	$\pm 0,56$	$\pm 31,6$	$\pm 31,6$	$\pm 26,0$	$\pm 0,56$	$\pm 1,69$	$\pm 2,82$
180	N m	76,8	116	293,6	293,6	243,2	136,8	192,8	332,8
	E.typ	$\pm 6,7$	$\pm 0,56$	$\pm 31,6$	$\pm 31,6$	$\pm 25,4$	$\pm 0,56$	$\pm 1,69$	± 184
Pourcentage de réduction%		8.92	45.28	45.37	45.14	59.25	77.20	73.89	62.21

Tableau 24 : Effet de la NAC sur l'activité de la LDH chez les VERO.

Concentration (μ M)	Temps (S)		0	25	50	75	100	300	500
30	N m		38,4	179,2	129,6	80,8	203,2	416,8	904
	E.typ		\pm 12,4	\pm 5,09	\pm 9,61	\pm 1,69	\pm 9,616	\pm 8,485	\pm 18,667
60	N m		41,6	215,2	151,2	216,8	290,4	463,2	1028
	E.typ		\pm 4,52	\pm 5,65	\pm 11,8	\pm 5,65	\pm 5,091	\pm 9,616	\pm 1,697
90	N m		70,4	236	281,6	271,2	352,8	579,2	1028
	E.typ		\pm 9,05	\pm 6,78	\pm 21,4	\pm 6,78	\pm 6,222	\pm 11,87	\pm 0,565
120	N m		76,8	271,2	281,6	386,4	539,2	648,8	1028
	E.typ		\pm 6,78	\pm 7,35	\pm 21,4	\pm 18,6	\pm 2,828	\pm 13,01	\pm 0,565
150	N m		76,8	276,8	281,6	386,4	539,2	648,8	1028
	E.typ		\pm 6,78	\pm 7,2	\pm 21,4	\pm 18,6	\pm 2,828	\pm 13,01	\pm 0,565
180	N m		76,8	276,8	281,6	386,4	539,2	648,8	1028
	E.typ		\pm 6,78	\pm 7,35	\pm 21,4	\pm 18,6	\pm 2,828	\pm 13,01	\pm 0,565
Pourcentage au témoin %			8.92	35.89	36.51	50.10	69.92	84.13	133.29

Tableau 25 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les VERO.

Concentration (μ M)	Temps (S)		0	5	10	25	50	75	100	500
30	N m		38,4	143,2	199,2	160	344	139,2	180	773,6
	E.typ		\pm 12,4	\pm 13,5	\pm 15,27	\pm 5,6	\pm 15,8	\pm 13,0	\pm 10,7	\pm 71,2
60	N m		41,6	159,2	220,8	185,6	458,4	176	270,4	744
	E.typ		\pm 4,525	\pm 15,2	\pm 15,27	\pm 0,565	\pm 58,2	\pm 13,0	\pm 40,1	\pm 14,7
90	N m		70,4	186,4	229,6	267,2	458,4	278,4	360,8	824
	E.typ		\pm 9,050	\pm 50,3	\pm 1,697	\pm 55,43	\pm 26,6	\pm 26,5	\pm 21,4	\pm 16,9
120	N m		76,8	176	276	330,4	458,4	484	541,6	824
	E.typ		\pm 6,788	\pm 16,9	\pm 18,66	\pm 12,44	\pm 83,7	\pm 26,5	\pm 32,2	\pm 16,9
150	N m		76,8	181,6	332	437,6	458,4	484	541,6	824
	E.typ		\pm 6,788	\pm 18,1	\pm 22,62	\pm 16,40	\pm 58,2	\pm 26,5	\pm 32,2	\pm 11,8
180	N m		76,8	221,6	332	437,6	458,4	484	541,6	824
	E.typ		\pm 6,788	\pm 13,5	\pm 22,62	\pm 16,40	\pm 58,2	\pm 26,5	\pm 32,2	\pm 16,9
Pourcentage au témoin %			8.92	23.55	43.05	56.74	59.44	62.76	70.29	106.8

Tableau 26 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase chez les

VERO.

Concentration (μ M) Temps (S)		0	50	75	100	150	250	1500	4500
	30	N m	147,3	127,95	96	62,7	67,05	47,55	44,25
E.typ		\pm 13,15	\pm 2,22	\pm 0,63	\pm 0,63	\pm 0,84	\pm 0,95	\pm 0,10	\pm 1,59
60	N m	147,6	124,3	93,6	72	67,5	46,35	43,5	35,55
	E.typ	\pm 11,98	\pm 2,01	\pm 0,53	\pm 0,63	\pm 0,74	\pm 0,95	\pm 0,10	\pm 1,69
90	N m	141,15	122,5	92,4	60,45	66,6	44,7	43,5	34,8
	E.typ	\pm 11,45	\pm 2,12	\pm 0,53	\pm 0,63	\pm 0,84	\pm 0,84	\pm 0,10	\pm 1,59
120	N m	139,35	119,7	91,2	49,47	64,05	42,45	43,50	33,6
	E.typ	\pm 11,24	\pm 2,01	\pm 0,53	\pm 0,63	\pm 0,53	\pm 0,95	\pm 0,10	\pm 1,59
Pourcentage au témoin %		100	85.9	64.58	42.84	48.11	34.12	31.25	25.51

Tableau 27 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μ M) Temps (S)		0	50	75	100	150	250	1500	4500
	30	N m	147,3	147,3	147,3	147,3	147,3	147,3	147,3
E.typ		\pm 13,6	\pm 52,8	\pm 1,06	\pm 114,6	\pm 1,27	\pm 66,6	\pm 66,6	\pm 2,015
60	N m	147,6	204,4	204,4	202,0	226,3	210,7	210,7	263,25
	E.typ	\pm 11,9	\pm 80,5	\pm 1,06	\pm 114,	\pm 1,27	\pm 18,7	\pm 18,7	\pm 2,333
90	N m	141,1	201,6	201,6	270,1	225,3	209,5	209,5	249
	E.typ	\pm 11,4	\pm 5,30	\pm 0,95	\pm 110	\pm 1,27	\pm 18,4	\pm 18,4	\pm 2,015
120	N m	139,3	201	201,6	195,1	218,4	209,5	209,5	237,75
	E.typ	\pm 11,2	\pm 0,95	\pm 0,42	\pm 110	\pm 5,09	\pm 18,4	\pm 18,4	\pm 1,909
Pourcentage d'augmentation au témoin %	-	0	56.6	123.3	226.9	239.57	115.7	449	719.45

Tableau 28 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase chez les VERO en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μ M) Temps (S)		0	50	75	100	150	250	1500	4500
	30	N m	147,3	210,3	166,8	169,5	176,4	176,4	69,9
E.typ		\pm 13,1	\pm 10,2	\pm 6,57	\pm 31,7	\pm 1,16	\pm 1,16	\pm 1,16	\pm 0,20
60	N m	147,6	206,25	169,95	168,3	175,05	175,05	90	308,295
	E.typ	\pm 11,9	\pm 52,2	\pm 3,71	\pm 0,63	\pm 0,63	\pm 0,63	\pm 1,27	\pm 0,19
90	N m	141,1	281,2	156	163,2	174,6	174,6	82,05	28,89
	E.typ	\pm 11,4	\pm 52,2	\pm 3,39	\pm 0,63	\pm 0,63	\pm 0,63	\pm 1,37	\pm 0,19
120	N m	139,3	281,2	156	157,5	172,5	172,5	82,5	28,89
	E.typ	\pm 11,2	\pm 52,2	\pm 3,39	\pm 4,24	\pm 33,6	\pm 33,6	\pm 0,53	\pm 0,19
Pourcentage d'augmentation au témoin%	–	0	68.8	70.66	163.8	157.2	115.7	89.65	746.1

Tableau 29 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase chez les VERO.

Concentration (μ M) Temps (S)		0	25	50	75	100	300
	30	N m	394,5	352,5	257,55	196,5	196,5
E.typ		\pm 131	\pm 2,12	\pm 6,25	\pm 7,74	\pm 2,121	\pm 2,121
60	N m	315	349,05	268,2	165	206,25	206,25
	E.typ	\pm 80,6	\pm 2,75	\pm 1,90	\pm 1,06	\pm 8,803	\pm 8,803
90	N m	312	342	258,6	157,6	203,1	203,1
	E.typ	\pm 81,6	\pm 10,6	\pm 4,87	\pm 1,06	\pm 4,454	\pm 4,454
120	N m	309	333,7	257,5	157,6	196,8	196,8
	E.typ	\pm 80,6	\pm 5,30	\pm 1,90	\pm 1,06	\pm 4,454	\pm 4,454
Pourcentage au témoin %	–	100	76.99	70.25	60.56	57.85	36.47

Tableau 30 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase chez les VERO.

Concentration (μM) Temps (S)		0	5	10	25	50	75	100	500
30	N m	394,5	201,75	199,95	171,15	164,4	97,5	81,15	88,65
	E.typ	\pm 1315	\pm 1,06	\pm 4,34	\pm 3,50	\pm 7,95	\pm 3,18	\pm 0,63	\pm 0,74
60	N m	315	156,4	199,2	177	162,3	97,05	78	88,8
	E.typ	\pm 80,6	\pm 0,31	\pm 4,77	\pm 1,06	\pm 5,62	\pm 2,43	\pm 0,31	\pm 2,22
90	N m	312	150,3	192,4	174,6	162,3	94,95	76,65	88,8
	E.typ	\pm 81,6	\pm 0,42	\pm 4,77	\pm 1,48	\pm 5,62	\pm 0,63	\pm 8,37	\pm 1,37
120	N m	309	150,3	192,4	174,6	162,3	93,15	76650	88,8
	E.typ	\pm 80,6	\pm 0,42	\pm 4,77	\pm 4,34	\pm 5,62	\pm 3,07	\pm 8,37	\pm 1,37
Pourcentage au témoin %	-	100	63.38	59.62	52.72	51.24	31.22	26.26	27.93

Tableau 31 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production de nitrites par les SP2.

Concentration (μM)	0	50	75	100	150	250	1500	4500
DO moy	0.049	0.092	0.106	0.112	0.323	0.447	0.471	1.087
E-type	\pm 0,007	\pm 0,017	\pm 0,022	\pm 0,004	\pm 0,012	\pm 0,024	\pm 0,007	\pm 0,017
N1 moy	26.49	49.73	57.3	60.54	174.59	241.62	254.59	587.57
E-type	\pm 4.2	\pm 9.56	\pm 12.23	\pm 2.29	\pm 6.88	\pm 13.38	\pm 4.2	\pm 9.56
Pourcentage d'augmentation Au témoin %	0	87.75	116.33	128.57	559.18	813.33	861.22	2118.37

Tableau 32 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (µM)	0	50	75	100	150	250	1500	4500
DO moy	0.049	0.085	0.073	0.101	0.211	0.113	0.322	0.922
E-type	±0,001	±0,004	±0,009	±0,021	±0,009	±0,010	±0,014	±0,051
N1 moy	26.49	45.95	39.46	54.59	114.05	61.08	174.05	498.38
E-type	±0.746	±2.68	±4.97	±11.47	±4.97	±5.73	±8.03	±27.9
Pourcentage de réduction %	0	4.35	31.13	9.82	34.67	74.72	31.63	15.18

Tableau 33 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (µM)	0	50	75	100	150	250	1500	4500
DO moy	0.049	0.034	0.044	0.085	0.071	0.079	0.140	0.303
E_type	±0,001	±0,001	±0,002	±0,003	±0,002	±0,002	0,010	±0,009
N1 moy	26.49	18.38	23.78	45.95	38.38	42.7	75.68	163.78
E-type	±0.764	±0.764	±1.53	±1.91	±1.53	±1.53	±5.73	±5.35
Pourcentage de réduction %	0	64.13	60.38	25.89	78.64	82.32	71.76	71.89

Tableau 34 : Effet de la NAC sur la production de nitrites par les SP2.

Concentrations (µM)	0	25	50	75	100	300	500
DO moy	0.049	0.071	0.134	0.244	0.307	0.405	0.588
E-type	±0,001	±0,0007	±0,003	±0,067	±0,004	±0,007	±0,271
N moy	26.49	38.38	72.43	131.89	165.95	218.92	317.84
E-type	±0.764	±0.382	±1.91	±36.31	±2.68	±4.2	±146.77
Pourcentage d'augmentation Au témoin %	0	44.90	173.47	397.96	526.53	726.53	1100

Tableau 35 : Effet de la quercétine sur la production de nitrites par les SP2.

Concentration (µM)	0	5	10	25	50	75	100
DO moy	0.029	0.205	0.355	0.383	0.454	0.738	1.414
E-type	±0,006	±0,015	±0,041	±0,065	±0,077	±0,020	±0,046
N moy	15.68	110.81	191.89	207.03	245.41	398.92	764.3
E-type	±3,43	±8,408	±22,55	±35,54	±41,66	±11,08	22.70
Pourcentage d'augmentation Au témoin %	0	439.47	834.21	907.89	1094.7	1842.1	3621.05

Tableau 36 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulée par le PMA.

temps (min)		5	10	15	20	25	Pourcentage au témoin%
Concentration (µM)							
0	DO moy	0,136	0,809	0,809	0,809	0,809	100
	E-type	±0,0502	±0,0551	±0,0551	±0,0551	±0,0551	
50	DO moy	0,1743	0,200	0,2615	0,3641	0,3641	65
	E-type	±0,0056	±0,0063	±0,0084	±0,0113	±0,0113	
75	DO moy	0,1240	0,2481	0,2919	0,3357	0,3357	56.41
	E-type	±0,0113	±0,023	±0,027	±0,031	±0,031	
	E-type	±0,0042	±0,0091	±0,0127	±0,0120	± 0	
100	DO moy	0.066	0.145	0.212	0.273	0.321	37.31
150	DO moy	0.010	0.110	0.264	0.317	0.317	39.18
	E-type	±0,0007	±0,0021	±0,0042	±0,0056	±0,0056	
250	DO moy	0.264	0.314	0.268	0.272	0.272	31.44
	E-type	±0,0710	±0,0710	±0,0606	±0,0611	±0,0611	
1500	DO moy	0.074	0.202	0.245	0.342	0.342	28.17
	E-type	±0,0141	±0,022	±0,091	±0,115	±0,115	
4500	DO moy	0,0571	0,0857	0,3381	0,4285	0,4285	52.999
	E-type	±0,0007	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	

Tableau 37 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les SP2 stimulée par le PMA.

temps (min) concentration (μ M)		5	10	15	20	25	Pourcentage au témoin%
0	DO moy	0,738	0,809	0,809	0,809	0,809	0
	E-type	$\pm 0,0502$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	
50	DO moy	0.149	0.170	0.193	0.209	0.260	24.72
	E-type	$\pm 0,0021$	$\pm 0,0113$	$\pm 0,0148$	$\pm 0,0155$	$\pm 0,0190$	
75	DO moy	0,2013	0,2214	0,2483	0,2651	0,2885	14.03
	E-type	$\pm 0,0997$	$\pm 0,109$	$\pm 52,150$	$\pm 0,1315$	$\pm 0,1428$	
100	DO moy	0,0745	0,0745	0,0848	0,0911	0,1076	68.05
	E-type	$\pm 0,0056$	$\pm 0,005$	$\pm 0,0063$	$\pm 0,0072$	$\pm 0,0084$	
150	DO moy	0,0734	0,0674	0,0853	0,0892	0,0952	70.22
	E-type	$\pm 0,0004$	$\pm 0,0002$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0002$	$\pm 0,0001$	
250	DO moy	0,0049	0,0081	0,0130	0,0130	0,130	61.05
	E-type	$\pm 0,0031$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0081$	
1500	DO moy	0,0685	0,0766	0,0846	0,1088	0,1088	72.51
	E-type	± 0.00007	$\pm 0,0001$	± 0.00007	$\pm 0,0002$	$\pm 0,0001$	
4500	DO moy	0,022	0,0354	0,0438	0,0438	0,0438	89.95
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0014$	

Tableau 38 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde en présence des doses croissantes d'indométacine par les SP2 stimulée par le PMA.

temps (min) concentration (μ M)		5	10	15	20	25	Pourcentage au témoin%
0	DO moy	0,738	0,809	0,809	0,809	0,809	100
	E-type	$\pm 0,0502$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	
50	DO moy	0.137	0.129	0.165	0.170	0.217	40.38
	E-type	$\pm 0,102$	$\pm 0,0346$	$\pm 0,045$	$\pm 0,089$	$\pm 0,028$	
75	DO moy	0,1020	0,1122	0,1428	0,0612	0,2755	17.9 1
	E-type	$\pm 0,0739$	$\pm 0,0319$	$\pm 0,0404$	$\pm 0,0465$	$\pm 0,0831$	
100	DO moy	0,32302	0,0378	0,0962	0,1168	0,24742	26.26
	E-type	$\pm 0,033$	$\pm 0,0036$	$\pm 0,0098$	$\pm 0,012$	$\pm 0,025$	
150	DO moy	0,1463	0,1115	0,1463	0,1777	0,2160	31.86
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0006$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0007$	
250	DO moy	0,119	0,084	0,115	0,311	0,323	47.48
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0001$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0021$	$\pm 0,0021$	
1500	DO moy	0,16842	0,09474	0,11579	0,1605	0,19474	15.28
	E-type	$\pm 0,0084$	$\pm 0,0378$	$\pm 0,0450$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	
4500	DO moy	0,64302	0,6585	0,6518	0,6607	0,5587	30.37
	E-type	$\pm 0,0106$	$\pm 0,0098$	$\pm 0,0381$	$\pm 0,0106$	$\pm 0,0091$	

Tableau 39 : Effet de la NAC sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulée par le PMA.

temps (min) concentration (μ M)		5	10	15	20	25	Pourcentage au témoin%
		0	DO moy	0,738	0,809	0,809	
	E-type	$\pm 0,0502$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	
25	DO moy	0,05956	0,17868	0,56426	0,608	0,655	80.98
	E-type	$\pm 0,0014$	$\pm 0,005$	$\pm 0,016$	$\pm 0,018$	$\pm 0,019$	
50	DO moy	0,2295	0,3961	0,5109	0,6072	0,6405	79.17
	E-type	$\pm 0,0035$	$\pm 0,0063$	$\pm 0,0091$	$\pm 0,0106$	$\pm 0,0106$	
75	DO moy	0,4098	0,37102	0,4346	0,508	0,551	68.13
	E-type	$\pm 0,007$	$\pm 0,006$	$\pm 0,007$	$\pm 0,0091$	$\pm 0,009$	
100	DO moy	0,1700	0,3299	0,3401	0,3231	0,3843	47.5
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0028$	
400	DO moy	0,06186	0,0893	0,1408	0,182	0,2268	28.03
	E-type	$\pm 0,0001$	$\pm 0,0002$	$\pm 0,0006$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0005$	

Tableau 40 : Effet de la quercétine sur la production des anions superoxyde par les SP2 stimulée par le PMA.

temps (min) concentration (μ M)		5	10	15	20	25	Pourcentage au témoin%
		0	DO moy	0,738	0,809	0,809	
	E-type	$\pm 0,0502$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	$\pm 0,0551$	
5	DO moy	0.136	0.448	0.734	0.833	0.833	65.33
	E-type	$\pm 0,2573$	$\pm 0,0410$	$\pm 0,1393$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0268$	
10	DO moy	0	0	0	0	0.686	53.8
	E-type	± 0	± 0	± 0	± 0	$\pm 0,0629$	
25	DO moy	0.047	0.140	0.145	0.252	0.299	23.05
	E-type	$\pm 0,0002$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0028$	$\pm 0,0049$	$\pm 0,0056$	
50	DO moy	0,0478	0,1435	0,1483	0,2583	0,3062	24
	E-type	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0685$	$\pm 0,0721$	$\pm 0,1499$	$\pm 0,1838$	
75	DO moy	0,0865	0,0806	0,1701	0,2537	0,2895	22.66
	E-type	$\pm 0,0003$	$\pm 0,0003$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,0014$	$\pm 0,0014$	
100	DO moy	1,3775	0,82	1	1,105	1,2725	14.7
	E-type	$\pm 0,0484$	$\pm 0,0282$	$\pm 0,0346$	$\pm 0,0388$	$\pm 0,0445$	

Tableau 41 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la peroxydation lipidique chez SP2.

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
0	0.269	±0,01202	1,2643	±0,0565	0
50	0.349	±0,01484	1,6403	±0,06979	29.74
75	0.377	±0,067175	1,7719	±0,31572	40.15
100	0.504	±0,031819	2,3688	±0,14955	87.36
150	0.597	±0,02969	2,8059	±0,13958	121.93
250	0.648	±0,00707	3,0456	±0,03323	140.89
1500	0.838	±0,07353	3,9386	±0,34563	211.52
4500	1.488	±0,01697	6,9936	±0,07976	453.16

Tableau 42 : Effet de la quercétine la peroxydation lipidique chez SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage de réduction %
0	0.269	±0,00565	1,2643	±0,02659	0
50	0.278	±0,00353	1,3066	±0,01662	20.34
75	0.188	±0,00989	0,8836	±0,04653	50.13
100	0.189	±0,00282	0,8883	±0,01329	69.64
150	0.313	±0,01555	1,4711	±0,07311	47.57
250	0.240	±0,00636	1,128	±0,02991	62.96
1500	0.242	±0,02050	1,1374	±0,09638	71.12
4500	0.193	±0,00282	0,9071	±0,01329	87.03

Tableau 43 : Effet de la NAC sur la peroxydation lipidique chez SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage de réduction %
0	0.269	±0,00565	1,2643	±0,02659	0
50	0.156	±0,06010	0,7332	±0,28249	54.87
75	0.197	±0,00353	0,9259	±0,01662	47.74
100	0.187	±0,00282	0,8789	±0,01329	62.89
150	0.203	±0,00848	0,9541	±0,03988	66
250	0.179	±0,03394	0,8413	±0,15952	72.38
1500	0.139	±0,00212	0,6533	±0,00997	83.41
4500	0.159	±0,00353	0,7473	±0,01662	89.31

Tableau 44 : Effet de la NAC sur peroxydation lipidique chez SP2.

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
0	0.108	±0,0014	0,5076	±0,00665	0
25	0.169	±0,0049	0,7943	±0,02326	55.04
50	0.210	±0,0028	0,987	±0,01329	89.19
75	0.314	±0,0063	1,4758	±0,02991	188.07
100	0.616	±0,0007	2,8952	±0,00332	465.14
400	0.647	±0,0063	3,0409	±0,02991	500

Tableau 45 : Effet de la quercétine sur la peroxydation lipidique chez SP2.

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
0	0.108	±0,00141	0,5076	±0,00665	0
5	0.135	±0,00353	0,6345	±0,01662	21.61
10	0.272	±0,00989	1278,4	±0,04653	149.54
25	0.291	±0,00070	1,3677	±0,00332	166.97
50	0.272	±0,00989	1,2784	±0,04653	149.5
100	0.385	±0,01414	1,8095	±0,06647	253.21
300	0.472	±0,14990	2.2184	±0,70456	333.07

Tableau 46 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur la production du glutathion chez les SP2

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
0	1,860	±0,20611	483,6	±53,58965	100
50	0.807	±0,00565	209,82	±1,47078	43.38
75	0.745	±0,03959	193,7	±10,29547	40.05
100	0.723	±0,11313	187,98	±29,41564	38.87
150	0.697	±0,01131	181,22	±2,94156	37.47
250	0,683	±0,04879	177,58	±12,6855	36.72
1500	0,660	±0,00212	171,6	±0,55154	53.48
4500	0,298	±0,00777	77,48	±2,02232	16.02

Tableau 47 : Effet de la quercétine sur production du glutathion chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage de réduction %
0	1,860	±0,25243	483,6	±483,6	0
50	1,53	±0,26657	397,8	±397,8	89.59
75	1,505	±0,0622	391,3	±391,3	102.03
100	1,458	±0,15202	379,08	±379,08	101.66
150	1.224	±0,17677	318,24	±318,24	75.61
250	1,659	±0,01272	431,34	±431,34	142.90
1500	1,458	±0,06576	379,08	±379,08	120.90
4500	1,760	0,220617	457,6	±457,6	477.18

Tableau 48 : Effet de la NAC sur production du glutathion chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage de réduction
0	1,860	±0,252437	483,6	±65,63365	0
50	1,870	±0,015556	486,2	±4,04465	131.71
75	1,670	±0,036769	434,2	±9,56008	124.16
100	1,706	±0,065053	443,56	±16,91399	135.96
150	2,348	±0,446891	610,48	±116,19179	236.87
250	2,253	±0,696500	585,78	±181,09005	229.86
1500	2,475	±0,057275	643,5	±14,89167	275
4500	2,738	±0,558614	711,88	±145,23973	818.79

Tableau 49 : Effet de la NAC sur production du glutathion chez les SP2

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
0	1,860	±0,25243	483,6	±65,6336	100
25	1,75	±0,08838	455	±22,9809	94.08
50	1,610	±0,08343	418,6	±21,6940	86.56
75	0,869	±0,11737	225,94	±30,5187	46.72
100	0,7009	±0,36557	182,234	±95,0492	37.63
300	0,588	±0,00989	152,88	±2,57387	31.61

Tableau 50 : Effet de la quercétine sur production du glutathion chez les SP2

Concentration (µM)	DO moy	E-type	N moy	E-type	Pourcentage au témoin %
0	1,860	±0,25243	483,6	±65,63365	100
5	1,495	±0,0212	388,7	±5,51543	80.37
10	1,273	±0,08697	330,98	±22,61327	68.44
25	1,006	±0,00424	261,56	±1,10309	54.08
50	0,758	±0,27435	197,08	±71,33293	40.75
75	0,604	±0,09460	157,04	±24,59658	32.47
100	0,6037	±0,00813	156,962	±2,11625	32.41

Tableau 51 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la LDH chez SP2.

Concentration (µM) Temps (S)		30	60	90	120	150	180
		0	N m	128	152	169,6	177,6
	E.typ	±5,656	±6,78	±0	±5,656	±5,656	±5,656
50	N m	80	356,8	356,8	356,8	356,8	356,8
	E.typ	±5,769	±11,3	±11,31	±11,31	±11,3	±11,3
75	N m	435,2	449,6	449,6	449,6	449,6	449,6
	E.typ	±10,18	±10,1	±10,18	±10,18	±10,1	±10,1
100	N m	470,4	502,4	502,4	502,4	502,4	502,4
	E.typ	±22,62	±22,6	±22,62	±22,62	±22,6	±22,6
150	N m	614,4	644,8	676,8	707,2	769,6	769,6
	E.typ	±21,49	±20,3	±22,62	±21,49	±22,6	±22,6
250	N m	1304.8	1389.	1389.6	1389.6	1389.	1389.
	E.typ	±59.2	±59.2	±59.2	±59.2	±59.2	±59.2
1500	N m	1600	1622,	1670,4	1670,4	1670,4	1670.4
	E.typ	±167,4	±169,	±174,2	±174,2	±174,2	±174,2
4500	N m	2050	2075	2100	2137,5	2150	2150
	E.typ	±164	±160,	±162,9	±173,1	±166,3	±166,3

Tableau 53 : Effet de la NAC sur la l'activité de la LDH chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μ M)	Temps (S)						
		30	60	90	120	150	180
0	N m	128	152	169,6	177,6	177,6	177,6
	E.typ	$\pm 5,656$	$\pm 6,78$	± 0	$\pm 5,656$	$\pm 5,656$	$\pm 5,656$
50	N m	473,6	520	532,8	544	544	544
	E.typ	$\pm 2,262$	$\pm 2,26$	$\pm 3,394$	$\pm 2,262$	$\pm 2,262$	$\pm 2,262$
75	N m	121,6	214,4	214,4	214,4	214,4	214,4
	E.typ	$\pm 24,89$	$\pm 27,1$	$\pm 27,15$	$\pm 29,41$	$\pm 29,41$	$\pm 29,41$
100	N m	80	89,6	96	100,8	100,8	100,8
	E.typ	$\pm 3,3941$	$\pm 3,39$	$\pm 3,39$	$\pm 4,52$	$\pm 4,52$	$\pm 4,52$
150	N m	168	185,6	208	211,2	211,2	211,2
	E.typ	$\pm 16,97$	$\pm 19,2$	$\pm 21,3$	$\pm 21,4$	$\pm 21,4$	$\pm 21,4$
250	N m	180,288	189,2	198,3	198,3	198,3	198,3
	E.typ	$\pm 233,0$	$\pm 262,$	$\pm 298,6$	$\pm 307,7$	$\pm 307,7$	$\pm 21,56$
1500	N m	161,696	178,72	187,23	191,48	200	200
	E.typ	$\pm 19,23$	$\pm 14,7$	$\pm 14,70$	$\pm 11,31$	$\pm 5,656$	$\pm 5,656$
4500	N m	390,704	394,41	405,58	409,29	409,29	409,29
	E.typ	$\pm 154,9$	$\pm 115,$	$\pm 148,2$	$\pm 147,3$	$\pm 142,5$	$\pm 5,67$

Tableau 54 : Effet de la NAC sur l'activité de la LDH chez les SP2.

Concentration (μ M)	Temps (S)						
		30	60	90	120	150	180
0	N m	128	152	169,6	177,6	177,6	177,6
	E.typ	$\pm 5,656$	$\pm 6,788$	± 0	$\pm 5,656$	$\pm 5,656$	$\pm 5,65$
25	N m	389,74	394,86	400	405,13	405,1	405,13
	E.typ	$\pm 13,57$	$\pm 14,70$	$\pm 13,57$	$\pm 14,70$	$\pm 14,7$	$\pm 14,7$
50	N m	486,22	503,18	582,33	604,94	604,9	604,9
	E.typ	$\pm 29,41$	$\pm 30,54$	$\pm 35,07$	$\pm 35,07$	$\pm 35,0$	$\pm 35,0$
75	N m	699,21	737,00	762,20	787,40	793,6	806,3
	E.typ	$\pm 62,22$	$\pm 65,61$	$\pm 67,88$	$\pm 70,14$	$\pm 70,1$	$\pm 72,4$
100	N m	803,31	816,59	823,23	829,87	836,5	836,5
	E.typ	$\pm 92,20$	$\pm 92,77$	$\pm 92,77$	$\pm 93,90$	$\pm 93,9$	$\pm 93,9$
300	N m	869,56	1008,6	1008,6	1008,6	1008,6	1008,6
	E.typ	$\pm 48,64$	$\pm 56,56$	$\pm 56,56$	$\pm 56,56$	$\pm 56,56$	$\pm 56,56$

Tableau 55 : Effet de la quercétine sur l'activité de la LDH chez les SP2.

Concentration (μM) Temps (S)		30	60	90	120	150	180
	0	N m	128	152	169,6	177,6	177,6
E.typ		$\pm 5,65$	$\pm 6,78$	± 0	$\pm 5,656$	$\pm 5,656$	$\pm 5,656$
5	N m	178,6	211,1	243,6	251,7	251,7	251,77
	E.typ	$\pm 12,4$	$\pm 14,7$	$\pm 15,8$	$\pm 16,9$	$\pm 16,9$	$\pm 16,97$
10	N m	91,42	411,4	411,4	548,5	731,4	731,42
	E.typ	$\pm 7,91$	$\pm 36,2$	$\pm 36,2$	$\pm 47,5$	$\pm 64,4$	$\pm 64,48$
25	N m	608	648	648	913,6	913,6	913,6
	E.typ	$\pm 23,7$	$\pm 26,0$	$\pm 27,1$	$\pm 107,4$	$\pm 107,4$	$\pm 107,4$
50	N m	514,2	857,1	971,4	1314,2	1314,2	1314,2
	E.typ	± 26	$\pm 42,9$	$\pm 48,6$	$\pm 65,61$	$\pm 65,61$	$\pm 65,61$
100	N m	611,2	940,8	940,8	1224	1224	1224
	E.typ	$\pm 32,8$	$\pm 39,5$	$\pm 32,8$	$\pm 10,18$	$\pm 10,18$	$\pm 10,18$

Tableau 56 : Effet des doses croissantes d'indométacine sur l'activité de la catalase chez les SP2.

Concentration (μM) Temps (S)		30	60	90	120	Pourcentage au témoin %
	0	N m	273	265,35	259,5	259,5
E.typ		$\pm 31,81$	$\pm 29,69$	$\pm 29,6$	$\pm 29,6$	
50	N m	136,95	133,95	130,9	130,9	50.46
	E.typ	$\pm 4,879$	$\pm 4,772$	$\pm 4,66$	$\pm 4,66$	
75	N m	98,4	109,8	106,3	106,3	40.98
	E.typ	$\pm 4,560$	$\pm 5,091$	$\pm 4,34$	$\pm 4,98$	
100	N m	134,55	132,45	125,8	105	40.46
	E.typ	$\pm 4,454$	$\pm 5,93$	$\pm 4,03$	$\pm 3,39$	
150	N m	112,5	124,35	117	104,2	4.17
	E.typ	$\pm 1,484$	$\pm 1,590$	$\pm 1,48$	$\pm 1,37$	
250	N m	85,65	93	91,5	86,4	33.29
	E.typ	$\pm 1,484$	$\pm 1,590$	$\pm 1,59$	$\pm 1,59$	
1500	N m	50,4	48,15	47,25	47,25	20.57
	E.typ	$\pm 3,426$	$\pm 0,636$	$\pm 1,48$	$\pm 1,48$	
4500	N m	23,25	19,5	18,9	15,75	22.71
	E.typ	$\pm 2,65$	$\pm 2,96$	$\pm 2,54$	$\pm 2,22$	

Tableau 57 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μ M)	Temps (S)					Pourcentage au témoin %
		30	60	90	120	
50	N m	12700	11451,2	10881,25	10881,25	871.02
	E.typ	$\pm 35,355$	$\pm 29,168$	$\pm 23,8648$	$\pm 23,8648$	
75	N m	11536,2	9093,75	8108,75	8108,75	791.96
	E.typ	$\pm 1282,5$	$\pm 1011,1$	$\pm 902,445$	$\pm 902,445$	
100	N m	4093,75	3260	3102,5	3102,5	230
	E.typ	$\pm 1362,0$	$\pm 1050,0$	$\pm 798,146$	$\pm 798,146$	
150	N m	7710	7422,5	7298,75	7298,75	884.89
	E.typ	$\pm 60,98$	$\pm 59,220$	$\pm 58,3363$	$\pm 58,3363$	
250	N m	6431,25	6361,25	6192,5	6192,5	581.29
	E.typ	$\pm 763,67$	$\pm 755,72$	$\pm 735,391$	$\pm 735,391$	
1500	N m	5918,75	5583,75	5206,25	5206,25	1022.19
	E.typ	$\pm 26,958$	$\pm 90,156$	$\pm 83,0850$	$\pm 83,0850$	
4500	N m	8496,25	8406,25	8492,5	8492,5	1519.36

Tableau 58 : Effet de la NAC sur la l'activité de la catalase chez les SP2 en présence des doses croissantes d'indométacine.

Concentration (μ M)	Temps (S)					Pourcentage au témoin %
		30	60	90	120	
50	N m	5336,	5182,5	5182,5	5182,5	374.91
	E.typ	$\pm 1658,$	± 2085	$\pm 1201,$	$\pm 1201,$	
75	N m	10227,5	9143,75	9143,75	9143,75	931.71
	E.typ	$\pm 966,9$	$\pm 866,2$	$\pm 866,2$	$\pm 866,2$	
100	N m	8826,2	8470	8220	7750	785.71
	E.typ	$\pm 386,2$	$\pm 370,3$	$\pm 358,8$	$\pm 339,4$	
150	N m	10285	10133	9828,7	9068,7	1159.55
	E.typ	$\pm 828,1$	$\pm 903,3$	$\pm 791,1$	$\pm 730,1$	
250	N m	9008,7	9008,7	8840	8631,2	893.51
	E.typ	$\pm 165,2$	$\pm 170,5$	$\pm 236,8$	$\pm 555,0$	
1500	N m	9678,7	9207,5	7390	7390	1586.79
	E.typ	$\pm 723,9$	$\pm 689,4$	$\pm 552,4$	$\pm 552,4$	
4500	N m	8466,2	8191,2	8145	7780	1483.7
	E.typ	$\pm 13,25$	$\pm 12,37$	$\pm 12,37$	$\pm 12,37$	

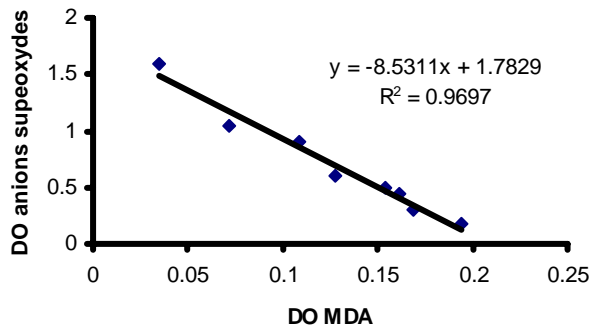
Tableau 59 : Effet de la NAC sur l'activité de la catalase chez les SP2.

Concentration (μ M)	Temps (S)		30	60	90	120	Pourcentage au témoin %
0	N m		2275	2211,25	2162,5	2162,5	291.27
	E.typ		$\pm 265,165$	$\pm 255,442$	$\pm 247,4$	$\pm 247,4$	
25	N m		9153,7	8452,5	8317,5	8461,2	328.67
	E.typ		$\pm 919,2$	$\pm 848,5$	$\pm 835,2$	$\pm 849,4$	
50	N m		10153	10078,	9712,5	9270	273.93
	E.typ		$\pm 605,4$	$\pm 598,3$	$\pm 574,5$	$\pm 558,6$	
75	N m		6665	6705	6612.2	6580	204.27
	E.typ		± 0.875	± 58.75	± 30	± 37.5	
100	N m		6311.2	6278.7	6182.5	6182.5	185.89
	E.typ		± 22.5	± 62.5	± 22.5	± 22.5	

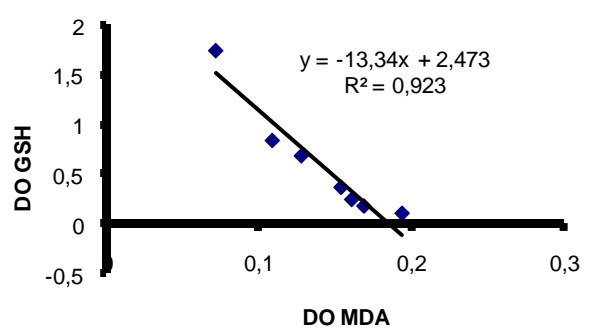
Tableau 60 : Effet de la quercétine sur l'activité de la catalase de la moelle osseuse des SP2.

Concentration (μ M)	Temps (S)		30	60	90	120	Pourcentage au témoin %
0	N m		2275	2211,25	2162,5	2162,5	0
	E.typ		$\pm 265,165$	$\pm 244,8357$	$\pm 247,4873$	$\pm 247,4873$	
5	N m		14805,05	15665,15	15475,95	14615,825	493.64
	E.typ		$\pm 167,937$	$\pm 159,0990$	$\pm 159,0990$	$\pm 150,2601$	
10	N m		14805,05	15665,13	15475,91	14615,82	575.72
	E.typ		$\pm 583,363$	$\pm 698,2679$	$\pm 689,4291$	$\pm 654,073$	
25	N m		11737,5	11200	10925	10450	401.73
	E.typ		$\pm 12,5$	$\pm 62,5$	$\pm 12,5$	$\pm 22,5$	
50	N m		8808,75	9285	9162,5	9100	320.8
	E.typ		$\pm 0,875$	$\pm 58,75$	± 30	$\pm 28,75$	
100	N m		8808,75	8692,5	8625	8176,25	297.68
	N m		$\pm 66,25$	$\pm 41,25$	$\pm 96,25$	$\pm 43,75$	

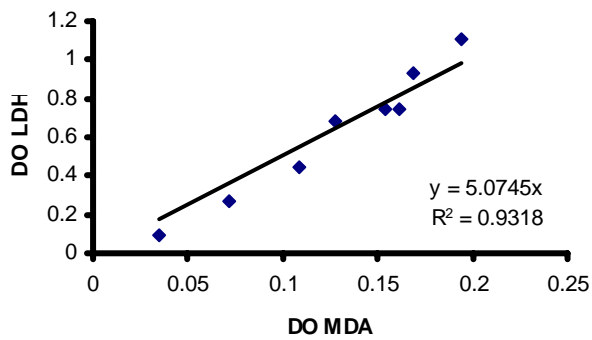
Corrélation linéaire entre le MDA et les anions superoxydes chez les vero



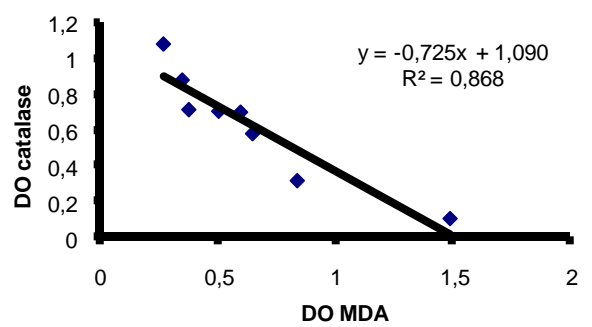
Corrélation linéaire entre le MDA et le GSH chez les vero



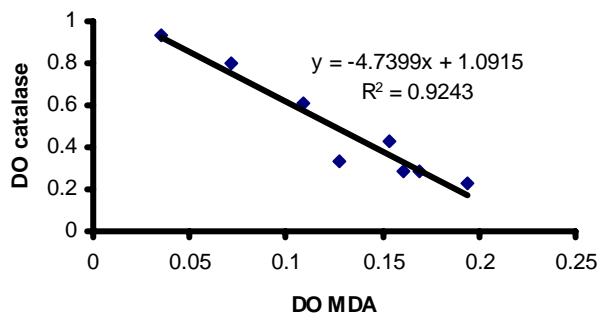
Corrélation linéaire entre le MDA et la LDH chez les vero



Corrélation linéaire entre la MDA et la catalase chez les SP2



Corrélation linéaire entre le MDA et la catalase chez les vero



Corrélation linéaire entre le GSH et les anions superoxydes chez les SP2

