

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université 8 Mai 1945 Guelma

جامعة 08 ماي 1945 قالمة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Département de Biologie

قسم البيولوجيا



جامعة 8 ماي 1945 قالمة
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Spécialité : Biologie Cellulaire et Moléculaire

Effet protecteur de l'acide alpha lipoïque contre l'hépatotoxicité induite par l'éthanol

Présenté par :

Nour el islam BENLOUCIF

Ahlem TABA

Devant le jury composé de :

Président : Dr. Hayatte AYAD

Maître de Conférence B

Université de Guelma

Encadrant : Dr. Asma BRAIK SERIDI

Maître de Conférence B

Université de Guelma

Examinatrice : Dr. Sourour ZIDI

Maître de Conférence B

Université de Guelma

23 SEPTEMBRE 2020

Remerciements

Avant tout, nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent **A Allah** tout puissant qui nous a guidé tout au long de notre vie, qui nous a donné la volonté, la santé, la patience et le courage afin d'accomplir ce modeste travail et pour passer tous les moments difficiles.

Nous tenons à remercier **M^{me} Hayatte AYAD**, Maître de conférence B à l'université de Guelma d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail.

Nous tenons à remercier **M^{me} Sourour ZIDI**, Maître de conférence B à l'université de Guelma d'avoir aussi accepté de faire partie du jury pour examiner notre travail.

Nous tenons à remercier **M^{me} Asma BRAIK SERIDI**, Maître de conférence B à l'université de Guelma qui nous a fait l'honneur en acceptant la direction de ce mémoire. Nous la remercions pour sa confiance, sa patience, sa disponibilité, son soutien moral, ses judicieux conseils durant toute la période de recherche et son aide précieuse pour l'élaboration de ce travail.

Nous souhaitons remercier très chaleureusement **M^r Slimane KACHI**, Doyen de la faculté SNVSTU à l'université de Guelma, pour son aide et ses encouragements pour présenter ce mémoire.

Nous remercions **M^{me} Ratiba HIMER**, Technicienne de laboratoire de biochimie au niveau du département de biologie à l'université de Guelma pour sa disponibilité et surtout sa patience pendant la réalisation de ce travail.

Nous n'oublierons jamais de remercier **M^r Mehdi GUERDI**, Responsable de l'animalerie, pour son aide et accueil au sein de l'animalerie de l'université de Guelma.

Nos respects et reconnaissance sont adressés à **M^{me} Samah BOUCHBOUT**, Médecin spécialiste en anatomie pathologique, médecin chef de service de l'anatomo-pathologie à l'EPH

Ibn Zohr Guelma, Nous tenons à remercier toute l'équipe pour leurs aides au cours de réalisation du stage.

Nos sincères remerciements vont à **M^r Kamel MAAFA** pour les conseils judicieux et constants qu'il nous a prodigués tout au long de ce travail, pour ces conseils, qu'il trouve ici l'expression de nos plus profonds respects et toutes notre gratitude.

Nous souhaitons également remercier **M^r Hichem AZZOUZ** pour son aide pour présenter ce travail.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères au corps professoral et administratif de l'université de Guelma, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Un grand merci pour tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail de fin d'étude.

Mercie à tous ...

Dédicace

Avec l'aide de dieu tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

*Au bonheur de ma vie **mon cher père** : Mohamed Bachir*

*A la lumière de mes yeux **ma très chère mère** : Djahida*

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour, mon respect et mon appréciation pour leurs sacrifices, leur soutien, leur patience, leur tendresse et leurs prières tout au long de mes études.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes chères sœurs : Maroi et Hadil

A mon petit frère : Mahdie Zakaria

Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A toute ma famille maternelle et paternelle.

À mon chère Binôme et mon fiancé : Nour El Islam pour cet adorable travail, pour les bons moments passés ensemble, que dieu vous protège.

A tous mes amies et collègues sans exception.

A tous ceux que j'aime.

Merci d'être toujours là pour moi.

AJLEM



Dédicace

Avec l'aide de dieu tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la mémoire de mon cher père "رحمته الله" : Walid qu'il reste à jamais gravé dans mon Cœur et mon esprit ! Qu'ALLAH l'accueille dans son éternel paradis.

*A la lumière de mes yeux **ma très chère mère** : Nora*

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour, mon respect et mon appréciation pour son sacrifice, son soutien, son patience, son tendresse et sa prière tout au long de mes études.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me porte depuis mon enfance. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon cher frère Mohamed et mes sœurs adorables Ahlem et Amel

A mes nièces, neveux : Sérine, Abdel Rahman, Housseem ET Abdel Razaké

Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A toute ma famille maternelle et paternelle.

À mon chère Binôme et ma fiancée Ahlem pour ce bon travail, pour les bons moments passés ensemble, que dieu vous protège.

A tous mes amies et collègues sans exception.

A tous ceux que j'aime.

Merci d'être toujours là pour moi.

Nour El Islam



Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier les effets protecteurs de l'acide alpha lipoïque (AAL) sur l'hépatotoxicité induite par l'éthanol en évaluant les paramètres biochimiques, ainsi que quelques paramètres du stress oxydatif suivi par une étude histologique du foie chez 30 souris. Elles sont réparties en cinq groupes : le groupe témoin, le groupe traité par 100 mg/kg d'AAL par voie i.p. pendant 15 jours, le groupe malade traité *per os* par 5 mg/kg d'éthanol pendant 15 jours, le groupe traité préalablement à titre préventif par 100 mg/kg d'AAL par voie i.p. pendant 15 jours suivi d'une administration *per os* de 5 mg/kg d'éthanol pendant 15 jours et le groupe malade traité par une dose de 5 mg/kg d'éthanol pendant 15 jours suivi de 100 mg/kg d'AAL pendant 15 jours. Cette étude *in vivo* est soutenue par des expériences *in silico* et *in vitro*. L'étude de l'effet de l'AAL *in silico* a prédit qu'il y a une bonne interaction avec le cytochrome P450 et ADAM17. Cette étude a montré également que l'AAL possède des propriétés pharmacocinétiques intéressantes lui permettant d'être bien absorbée par voie orale avec un score de biodisponibilité favorable pour une bonne distribution. L'AAL n'a pas présenté de toxicités entravant son effet biologique, ce qui peut encourager son utilisation pharmacologique. L'effet hépatoprotecteur de l'AAL peut être en partie lié à la diminution du stress oxydant induit par l'ingestion chronique de l'éthanol en empêchant la peroxydation lipidique par réduction du taux du malondialdéhyde (MDA) et en empêchant la lyse de la membrane cellulaire des hépatocytes ce qui prévient la libération des enzymes de la fonction hépatique (transaminase ASAT et ALAT, phosphatase alcaline (PAL), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT)). De plus, l'AAL peut diminuer les altérations au niveau des tissus hépatiques et empêchent la formation de stéatose et fibrose hépatique. En plus de son effet antioxydant, la composante anti-inflammatoire de l'AAL peut également faire partie de son effet hépatoprotecteur chez les animaux atteints d'hépatotoxicité alcoolique.

Mots clés : Acide Alpha lipoïque, Hépatotoxicité, Ethanol, Stress oxydant.

Abstract

The objective of this study is to investigate the protective effects of alpha lipoic acid (ALA) on hepatotoxicity induced by ethanol by evaluating biochemical parameters, as well as some parameters of oxidative stress followed by a histological study of the liver in 30 mice. They are divided into five groups : the control group, the group treated with 100 mg / kg of ALA i.p. for 15 days, the sick group treated orally with 5 mg / kg of ethanol for 15 days, the group previously treated as a preventive measure with 100 mg / kg of ALA i.p. for 15 days followed by oral administration of 5 mg / kg of ethanol for 15 days and the curative group treated with 5 mg / kg of ethanol for 15 days followed by 100 mg / kg of ALA for 15 days. This *in vivo* study is supported by *in silico* and *in vitro* experiments. The *in silico* study predicted that there is a good interaction of ALA with cytochrome P450 and ADAM17. This study also showed that ALA has interesting pharmacokinetic properties allowing it to be well absorbed orally with a favorable bioavailability score for good distribution. ALA has not exhibited toxicities interfering with its biological effect, which may encourage its pharmacological use. The hepatoprotective effect of ALA may be partly linked to the reduction in oxidative stress induced by chronic ingestion of ethanol by preventing lipid peroxidation by reducing the level of malondialdehyde (MDA) and preventing lysis of the hepatocyte cell membrane, which prevents the release of liver function enzymes (ASAT and ALAT transaminase, alkaline phosphatase (PAL), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT)). In addition, ALA decreases alterations in liver tissue and prevent the formation of steatosis and hepatic fibrosis. In addition to its antioxidant effect, the anti-inflammatory component of ALA may also be part of its hepatoprotective effect in animals with alcoholic hepatotoxicity.

Key words : Alpha Lipoic Acid, Hepatotoxicity, Ethanol, Oxidative stress.

الهدف من هذا العمل هو دراسة التأثيرات الوقائية لحمض ألفا ليبويك على التسمم الكبدي التي يسببها الإيثانول من خلال تقييم المعلومات البيوكيميائية، وكذلك بعض مؤشرات الإجهاد التأكسدي متبوعة بدراسة نسيجية للكبد عند 30 فأر. تم تقسيم الفئران على خمس مجموعات: المجموعة الشاهدة، مجموعة عولجت بحمض ألفا ليبويك بجرعة 100 مع/كغ/يوميا لمدة 15 يوم بواسطة الحقن داخل الصفاق، المجموعة المريضة اخذت عن طريق الفم 5 غ/كغ/يوميا من الإيثانول لمدة 15 يوم، المجموعة الأخرى عولجت كإجراء وقائي بحمض ألفا ليبويك بجرعة 100 مع/كغ/يوميا لمدة 15 يوم بواسطة الحقن داخل الصفاق تليها 5 غ/كغ/يوميا من الإيثانول لمدة 15 يوم عن طريق الفم. المجموعة العلاجية اخذت 5 غ/كغ/يوميا من الإيثانول عن طريق الفم يليها حقن داخل الصفاق بحمض ألفا ليبويك بجرعة 100 مع/كغ/يوميا لمدة 15 يوم. كذلك قمنا بدعم هذه الدراسة من خلال تجارب بواسطة المحاكاة عبر الكمبيوتر وفي المختبر. توقعت الدراسة عبر المحاكاة ارتباط جيد بين حمض ألفا ليبويك من جهة وبين Cytochrome P450 و ADAM17 من جهة أخرى أظهرت الدراسة ان خصائص الحركية الدوائية لحمض ألفا ليبويك مهمة مما تجعله يمتص جيدا بعد تعاطيه عبر الفم مع اكتسابه قيمة توافر حيوي ملائمة لضمان توزيعه في الجسم. ولم يظهر حمض ألفا ليبويك أي سمية مما قد يشجع استخدامه الدوائي. قد يرتبط التأثير الوقائي للكبد لحمض ألفا ليبويك جزئيا بتقليل الاجهاد التاكسدي الناجم عن الاستهلاك المزمن للكحول عن طريق منع تأكسد الليبيدات بواسطة خفض مستوى ألدheid المالونيك (MDA)، كذلك عن طريق منع تحلل غشاء الخلية الكبدية الذي يمنع افراز انزيمات الخاصة بوظائف الكبد (ناقلات الأمين (ASAT/ALAT)، الفسفاطاز القلوي (PAL)، إنزيم جاما جلوتاميل ترانسفيراز (yGT))، بالإضافة إلى ذلك، حمض ألفا ليبويك يقلل التغيرات على مستوى النسيج الكبدي و يمنع تكون التنكس الدهني و التليف الكبدي. بالإضافة لتأثيره المضاد للأكسدة، قد يكون المكون المضاد للالتهابات لحمض الفا ليبويك أيضا جزء من التأثير الوقائي لهذا الأخير عند الحيوانات المصابة بالتسمم الكبدي الكحولي.

الكلمات المفتاحية: التسمم الكبدي، الكحول، حمض ألفا ليبويك، الإجهاد التأكسدي.

A decorative rectangular border with calligraphic flourishes at the corners and midpoints of each side. The text is centered within this border.

*Liste des
Abréviations*

Liste des abréviations

Abréviation	Nom complet
A°	Angströms
AAL	Acide Alpha Lipoïque
ABTS	2'-Azino-Bis-3-EthylbenzoThiazoline-6-Sulfonic
ACPI	Acide Gras Poly Insaturées
ADH	Alcool Dés Hydrogénase
ADHL	Acide Di Hydro Lipoïque
AG	Acide Gras
ALAT	Alanine Amino Transférase
ALDH	Acétaldéhyde Dés Hydrogénase
ASAT	Aspartate Amino Transférase
CAT	Catalase
CYT	Cytochrome
DNPH	Di Nitro Phényl Hydrazine
DPPH	Di Phenyl Picryl Hydrazyl
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
GPCR	G Protein Coupled Receptor
GPx	Glutathion Peroxydase
GSH	Glutathion
HA	Hépatite Alcoolique
HAA	Hépatite Alcoolique Aiguë
HO-1	Hème Oxygène -1
IE	Inhibiteurs des Enzymes
IK	Inhibiteur des Kinases
IRRI	Irritation
IP	Inhibition de Protéase
kDa	Kilo Dalton

KGDG	α -Cétoglutarate déshydrogénase
LipDH	Lipo amide Dés Hydro génase
LIPOX	Lipoperoxydation
LRN	Ligands de Ré cepteur Nucléaire
MAA	Malon di Aldéhyde Acétaldéhyde
MCI	Mod ulateur de Canal Ionique
MDA	Malon di Aldéhyde
MDH	Malate Dés Hydro génase
MEOS	Microsomal Ethanol Oxidizing System
MUT	Mut agénique
PAL	Phos phatase Alcaline
PDG	Pyruvates Dés hydrogénase
pNPP	p-Nitro Phényl Phosphate
QSAR	Quantitative Structure Activity Relation
REP	Re protoxicité
RL	Radicaux Libre
RMSD	Root Mean Square Deviation
SOD	Superoxyde Dismutase
TBA	Acide Thiobarbiturique
TCA	Acide Trichloroacétique
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TGO	Transaminase Glutamique Oxaloacétique
TGP	Transaminase Glutamique Pyruvique
TRAP	Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter
TUMO	Tum orogénique
XO	Xanthine Oxydase
Y-GT	Gamma Glutamyl Transpeptidase



Liste

des figures

Liste des figures

Figure 1 : Biosynthèse de l'éthanol.....	3
Figure 2 : Voie de l'oxydation de l'éthanol dans la cellule hépatique	5
Figure 3 : Stades de la pathologie.....	7
Figure 4 : Rôle possible de la xanthine oxydase dans la biosynthèse de radicaux \bullet OH et l'oxydation radicalaire de l'éthanol	9
Figure 5 : Promotion de l'inflammation et de la mort cellulaire.....	10
Figure 6 : Réduction monoélectronique de l'oxygène	11
Figure 7 : Réaction de production des différents ERO.....	12
Figure 8 : Phases d'initiation, de propagation et de terminaison de la peroxydation lipidique	16
Figure 9 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	17
Figure 10 : Principaux dommages radicalaires au niveau de l'ADN	18
Figure 11 : Structure chimique de l'acide alpha lipoïque et de l'acide dihydrolipoïque	22
Figure 12 : Formes énantiomère de l'acide alpha lipoïque	23
Figure 13 : Réduction de l'acide alpha lipoïque.....	24
Figure 14 : Réduction de l'acide alpha lipoïque par β -oxydation	24

Figure 15 : Mécanismes de protection des antioxydants endogènes (vitamines C et E, glutathion) par l'acide alpha lipoïque	25
Figure 16 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	37
Figure 17 : Schéma illustrant le protocole expérimentale	38
Figure 18 : Paramètres calculées après le traitement	39
Figure 19 : Résultats de test RMSD par AutoDock.....	46
Figure 20 : Structure 2D de complexe AAL - CYT P450	48
Figure 21 : Structure 3D de complexe AAL - CYT P450	49
Figure 22 : Structure 2D de complexe AAL – ADAM17.....	50
Figure 23 : Structure 3D de complexe AAL – ADAM17.....	51

A decorative border in a calligraphic style, featuring elegant flourishes and scrolls that frame the central text. The border is composed of thick black lines with intricate, flowing patterns at the corners and midpoints of each side.

Liste des Tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : Agents initiateurs responsable de déclenchement des voie d'oxydation lipidique	15
Tableau 2 : Macromolécules (récepteurs) et le ligand utilisés dans l'amarrage moléculaire....	33
Tableau 3 : Molécules utilisées dans la méthode QSAR	35
Tableau 4 : Différentes conformations de l'interaction AAL-CYT P450 et leurs énergies.....	47
Tableau 5 : Distances des liaisons hydrogènes entre les atomes de CYT P450 et de l'AAL impliqués dans ces liaisons.....	48
Tableau 6 : Différentes conformations de l'interaction AAL-ADAM17 et leurs énergies.....	50
Tableau 7 : Distances des liaisons hydrogènes, et les atomes de ADAM17 et de l'AAL impliqués dans ces liaisons.....	51
Tableau 8 : Propriétés physicochimiques des molécules.....	52
Tableau 9 : Les résultats des scores de bioactivité prédites par Molinspiration.....	53
Tableau 10 : Résultats des propriétés pharmacocinétiques calculées par le logiciel SwissADME	54
Tableau 11 : Risques de toxicité calculés par Osiris	54

A decorative border made of black calligraphic lines. It consists of four large, ornate flourishes at the corners, each with multiple loops and elegant curves. These are connected by straight horizontal and vertical lines, with small, delicate scrolls at the corners where the lines meet.

Sommaire

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figuresi

Liste des tableaux..... iii

Introduction.....9

Revue Bibliographique

Chapitre 01 : Hépatotoxicité induite par l'éthanol

1. Ethanol3

1.1. Propriétés de l'éthanol.....3

1.2. Toxicocinétique de l'éthanol4

1.3. Métabolisme de l'éthanol4

2. Hépatite alcoolique6

2.1. Stades de la pathologie6

2.2. Symptômes, diagnostic et facteurs de risque.....7

2.3. Physiopathologie8

Chapitre 02 : Stress Oxydatif et Acide Alpha Lipoïque

1. Stress oxydant	11
1.1. Espèces réactives oxydantes.....	11
1.1.1. Origine des ERO	12
1.1.2. Rôle physiologique des ERO	13
1.1.3. Dommage oxydatifs des ERO	14
1.2. Systèmes de défense antioxydants	19
1.2.1. Systèmes enzymatiques.....	19
1.2.2. Systèmes non enzymatiques.....	20
2. Acide alpha lipoïque	22
2.1. Structure chimique	22
2.2. Biosynthèse et métabolisme de l'acide alpha lipoïque	23
2.2.1. Biosynthèse de l'acide alpha lipoïque	23
2.2.2. Métabolisme de l'acide alpha lipoïque.....	23
2.3. Effet antioxydant.....	25
2.4. Effet hépatoprotecteur.....	26

Chapitre 03 : Aperçu sur les modèles d'études d'effet de l'AAQ

1. Etude <i>in silico</i>	27
1.1. Amarrage moléculaire	27

2.2 QSAR (Quantitative Structure Activity Relations)	28
2. Etude <i>in vitro</i>	30
3. Etude <i>in vivo</i>	31

Partie Pratique

Chapitre 04 : Matériel & Méthode

1. Etude <i>in silico</i> de l'acide alpha lipoïque.....	32
1.1. Etude théorique de l'activité hépatoprotectrice par l'amarrage moléculaire.....	32
1.1.1. Matériels.....	32
1.1.2. Méthodes	34
1.2. Etude théorique par méthode QSAR	35
1.2.1. Matériels.....	35
1.2.2. Méthodes	36
2. Etude de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> de l'AAL	37
3. Etude de l'activité hépatoprotectrice <i>in vivo</i>	38
3.1. Matériel biologique	38
3.2. Protocole expérimental.....	38
3.3. Sacrifice des animaux et prélèvement	39
3.3.1. Prélèvement sanguin	39
3.3.2. Prélèvement du foie.....	40

3.4. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques	40
3.4.1. Dosage de l'activité d'alanine aminotransférase	40
3.4.2. Dosage de l'activité d'aspartate aminotransférase	41
3.4.3. Dosage de la phosphatase alcaline	41
3.4.5. Dosage de la gamma- glutamyl transférase.....	41
3.5. Dosage des paramètres du stress oxydant	42
3.5.1. Préparation de l'homogénat	42
3.5.2. Dosage du malondialdéhyde	42
3.5.3. Dosage de l'activité de la catalase.....	43
3.6. Etude histologique.....	44
3.6.1. Fixation.....	44
3.6.2. Déshydratation	44
3.6.3. Inclusion.....	44
3.6.4. Réalisation des coupes	45
3.6.5. Coloration et montage	45
3.7. Étude statistique	45

Chapitre 05 : Résultats & Interprétations

1. Etude de l'activité hépatoprotectrice par amarrage moléculaire	46
1.1. Test RMSD.....	46

1.2. Résultats d'amarrage moléculaire	47
1.2.1. Interaction de AAL avec CYT P450	47
1.2.2. Interaction de l'AAL avec ADAM 17.....	49
1.2. Etude théorique par méthode QSAR.....	52
1.2.1. Propriétés physicochimiques.....	52
1.2.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	53
1.2.3. Propriétés toxicologiques	54
Discussion	56
Conclusion et Perspective	61
Référence Bibliographique	I
Annexes	XVI
Annexe 01 : Réalisation de l'amarrage moléculaire	XVI
Annexe 02 : Test RMSD	XVII

A decorative border in a calligraphic style, featuring thick black lines and intricate flourishes. The border is rectangular and frames the central text. The corners are particularly ornate, with large, swirling loops. The lines are smooth and elegant, typical of a formal or historical decorative style.

Introduction

INTRODUCTION

Les pathologies hépatiques liées à la consommation de l'alcool constituent un véritable problème de santé, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 3,3 millions de décès par an sont attribuables à l'alcoolisme (*Teixeira-Clerc, 2015*).

La toxicité de l'éthanol sur le foie est en fonction de la durée de l'alcoolisme, de la quantité quotidienne d'alcool et de la nutrition du patient. Le seuil de toxicité de l'alcool sur le foie est d'environ 40 g d'éthanol par jour chez l'homme et de 20 à 30 g par jour chez la femme, ce qui cause différentes lésions hépatiques (fibrose, stéatose, hépatite alcoolique aiguë et cirrhose).

L'éthanol est oxydé dans le foie en acétaldéhyde (un composé considérablement plus toxique que l'éthanol lui-même). Le métabolisme de l'éthanol peut avoir un effet hépatotoxique important (*Waluga et Hartleb, 2003*). Aujourd'hui, plusieurs études bien argumentées ont montré que l'alcool provoque principalement un stress oxydant au niveau hépatique, résultant d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres oxydants et la capacité antioxydante (*Das et Vasudevan, 2007 ; Ghafouri-Fard et al., 2020*).

Au cours des dernières années, une grande importance a été attribuée à la thérapie antioxydante dans la prévention et le traitement des pathologies développées en relation avec le stress oxydatif (*Hagymási et al., 2015*).

Le terme antioxydant n'est pas toujours clairement défini dans la littérature populaire ou scientifique. Dans le sens le plus général, un antioxydant naturel ou synthétique fonctionne directement ou indirectement pour minimiser les dommages aux biomolécules (principalement les protéines, les lipides et l'ADN) causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Un nutriment antioxydant peut être un précurseur ou un cofacteur pour une molécule antioxydante ou peut être un antioxydant à part entière (*Stone et al., 2020*).

Parmi ces antioxydants, l'acide alpha lipoïque (AAL) encore dénommé acide thioctique est considéré comme un antioxydant naturel lipophile synthétisé par les plantes et les animaux, identifié comme un agent catalytique pour la décarboxylation oxydative du pyruvate et de l' α -cétooglutarate, qui agit comme cofacteur d'enzymes mitochondriales bioénergétiques.

INTRODUCTION

Parallèlement à son action mitochondriale, l'AAL et sa forme réduite, acide dihydrolipoïque, ont de nombreuses fonctions biologiques résultant en une grande variété d'actions telles que la protection anti inflammatoire et antioxydante, le piégeage des espèces réactives de l'oxygène, la régénération d'autres agents antioxydants notamment la vitamine C, la vitamine E et le glutathion, chélatent les ions métalliques de transition et modulent la transduction du signal du facteur nucléaire (*Di Tucci et al., 2018 ; Seifar et al., 2019 ; Özel et al., 2020*). Au cours des dernières années l'utilisation d'AAL pour les traitements des maladies hépatiques a attiré l'attention des scientifiques.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés, dans ce travail, à étudier l'effet protecteur de l'AAL contre l'hépatotoxicité induite par l'éthanol chez la souris. Notre travail a été subdivisé en trois parties :

- ✓ Dans la première partie nous avons réalisé une étude bibliographique subdivisée en trois chapitres, le premier traite l'hépatotoxicité induite par l'éthanol. Alors que le deuxième s'est intéressé au stress oxydant et à l'AAL. Enfin, le troisième chapitre s'est intéressé aux méthodes d'étude d'effet de l'AAL *in silico*, *in vitro*, et *in vivo* utilisées dans cette étude.
- ✓ La deuxième partie traite l'aspect pratique de notre travail c'est-à-dire le protocole expérimental suivi, les méthodes utilisées, la préparation des échantillons (*in silico*, *in vitro* et *in vivo*) ainsi que les résultats obtenus.
- ✓ La troisième partie est la discussion des résultats avec d'autres réalisées dans la même thématique.



Revue

Bibliographique



Chapitre 01

Hépatotoxicité induite

par l'éthanol

1. Ethanol

L'éthanol de formule moléculaire C_2H_5OH est connu sous le nom d'alcool éthylique, il est utilisé dans les boissons alcooliques, les médicaments, la synthèse chimique, etc. La fermentation du sucre en éthanol est l'une des premières réactions organiques employées par l'homme (Gupta et Demirbas, 2010).

Au cours de la glycolyse anaérobie (figure 01), le glucose se transforme en pyruvate qui sera réduit en acétaldéhyde en libérant du CO_2 . L'acétaldéhyde est ensuite réduit en éthanol grâce à l'oxydation de $NADH, H^+$ en NAD^+ (Guiraud, 2006).

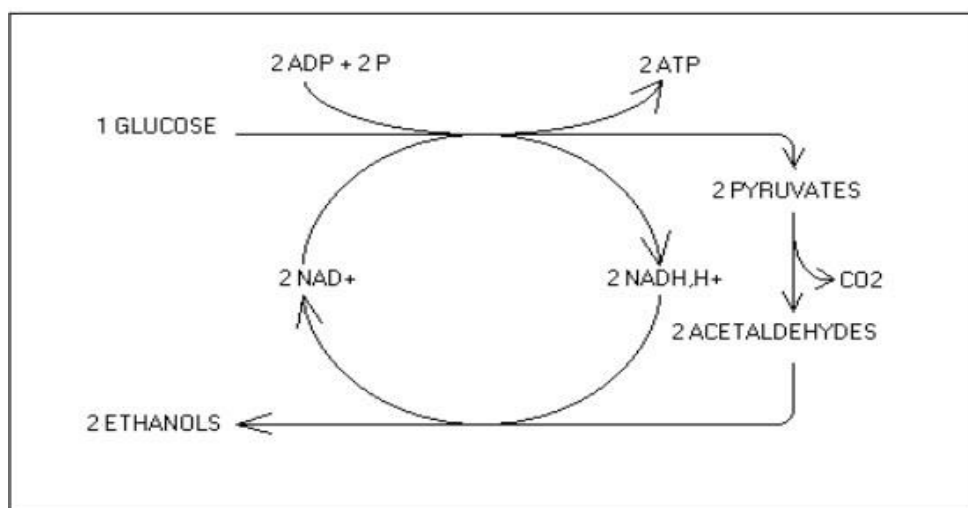


Figure 1 : Biosynthèse de l'éthanol (Guiraud, 2006)

1.1. Propriétés de l'éthanol

L'éthanol est de formule semi-développée CH_3-CH_2-OH et de masse molaire $46,07 \text{ g.mole}^{-1}$. Dans les conditions normales, l'éthanol est un produit stable, il possède les propriétés générales des alcools primaires, il peut réagir vivement avec les oxydants puissants (Falcy et al., 2019).

L'éthanol est un liquide mobile, incolore, volatil, d'odeur plutôt agréable et décelable dès 84 ppm. Il est miscible à l'eau, le mélange se fait avec dégagement de chaleur et contraction du liquide. L'éthanol est également miscible à la plupart des solvants usuels, il est un bon solvant des graisses. L'éthanol peut être commercialisé sous forme anhydre ou à différentes concentrations dans l'eau (Falcy et al., 2019).

1.2. Toxicocinétique de l'éthanol

L'absorption de l'éthanol se fait par trois voies. En effet, l'absorption par voie digestive s'effectue par simple diffusion, principalement au niveau du duodénum, du jéjunum proximal et à une plus faible proportion au niveau de l'estomac. En plus, la pénétration de l'éthanol par voie respiratoire est importante à cause de sa volatilité. Celle-ci est estimée en moyenne à 60%. Par contre la voie cutanée s'agit d'une pénétration négligeable chez l'adulte, de l'ordre de 1%.

L'éthanol est distribué très facilement dans tous les tissus grâce à ses propriétés liées à sa faible masse molaire et à sa grande hydrosolubilité. Dans les os et les graisses, la diffusion est négligeable.

Une faible quantité de l'éthanol est éliminée par les voies cataboliques comme le lait, la salive et les urines (*Goullé et Guerbet, 2015*).

1.3. Métabolisme de l'éthanol

Il est connu qu'il existe une production endogène d'alcool de l'ordre de 3g par jour au niveau du microbiote intestinal par fermentation (*Paquot, 2019*). D'autre part, la principale voie de détoxification de l'éthanol exogène est oxydative et essentiellement hépatique. Cette biotransformation fait appel à deux étapes d'oxydation saturables catalysées de manière prépondérante par deux famille d'enzymes suivies par une étape non enzymatique (*Goullé et Guerbet, 2015*) :

- ✓ **Première étape** : l'oxydation de la fonction alcool en fonction aldéhyde qui fait intervenir l'enzyme alcool déshydrogénase (ADH), aboutissant à la formation d'un métabolite toxique, l'acétaldéhyde (*réaction 1*).



- ✓ **Seconde étape** : l'oxydation de la fonction aldéhyde en fonction acide sous l'influence de l'enzyme acétaldéhyde déshydrogénase (ALDH) qui appartient à la famille des enzymes de détoxification NAD⁺ dépendants (*réaction 2*).



- ✓ **Troisième étape** : l'oxydation de l'acétate en dioxyde de carbone (CO_2) et en eau (H_2O).
L'acétate se combine au coenzymes A pour donner l'acétylcoenzymes A et des acides gras (AG) dans les tissus.

D'autres voies métaboliques ont été mises en évidence en raison de la persistance de la production d'acétaldéhyde (*figure 02*). Le système microsomial d'oxydation de l'alcool (MEOS) catalyse l'oxydation de l'alcool impliquant le NAD^+ et l'oxygène moléculaire O_2 , ainsi la voie de catalase transforme l'éthanol par oxydation en dépend de la disponibilité en peroxyde (*Goullé et Guerbet, 2015 ; Elamin et al., 2019*).

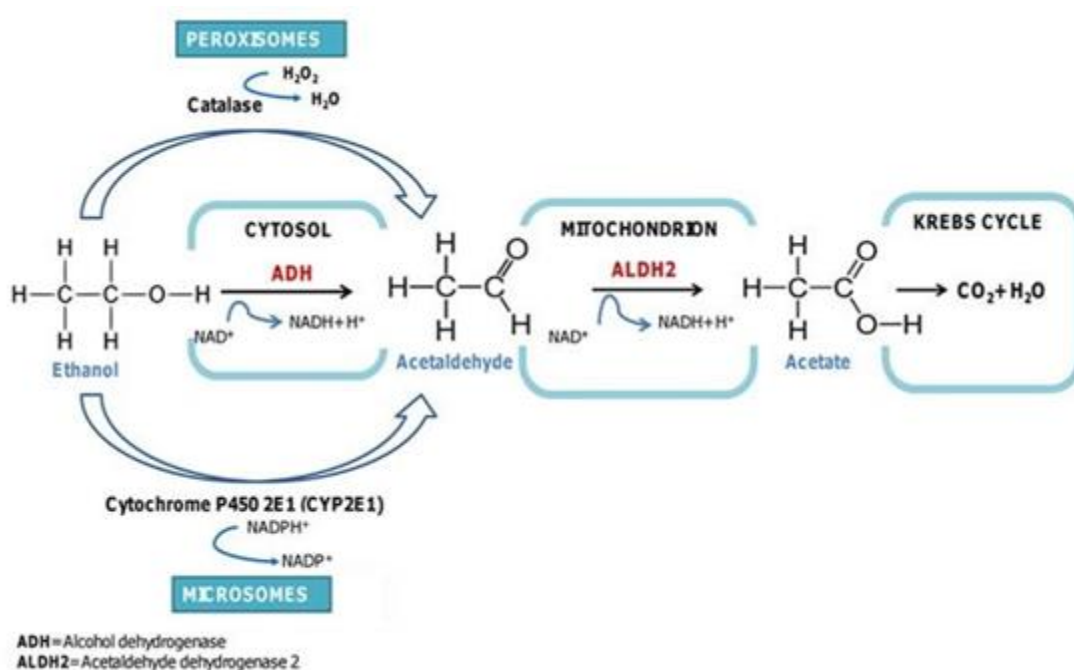


Figure 2 : Voie de l'oxydation de l'éthanol dans la cellule hépatique (*Elamin et al., 2019*)

Plusieurs autres voies non oxydatives de l'éthanol entraînent une élimination de l'alcool et conduisent à la formation des biomarqueurs dans le foie, le pancréas et divers tissus. Le système nerveux centrale et le cœur neutralisent l'éthanol par voie non oxydative comme le glutathion-S-transférerase pour former l'ester éthylique d'AG. En plus, l'éthanol se fixe également sur un phosphate libéré de la phosphatidylcholine qui est responsable de perturbation de la membrane ou sur un groupement sulfate provenant du phosphoadénosine – phosphosulfate sous l'effet d'une sulfotransférerase. En addition, l'éthanol est conjugué à un acide glucuronique sous l'action d'une glucuronyl transférerase (*Guiraud, 2006 ; Elamin et al., 2019*).

2. Hépatite alcoolique

Le foie est considéré comme le plus grand organe du corps, constitué de deux lobes et situé sous le diaphragme quadrant en haut et à droite la cavité abdominale. Le foie est positionné stratégiquement dans le corps humain permettant à tous les nutriments absorbés après la digestion dans le tractus gastro intestinale de traverser le foie via la veine porte hépatique avant d'être distribués à d'autres tissus via la circulation sanguine. Le foie est le siège du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines (*Gyamfi et Danquah, 2016*).

L'hépatotoxicité est définie comme le pouvoir qu'a une substance de provoquer des dommages au foie. Elle se réfère à un dysfonctionnement hépatique ou à une lésion du foie associé à une altération de la fonction hépatique causée par l'exposition à des xénobiotiques (*Sahu et Chandel, 2017*).

La toxicité hépatique induite par l'éthanol ou généralement dite l'hépatite alcoolique (HA) dépend de la voie, de la quantité et de la durée d'exposition (*Mosbah, 2016*). Ainsi l'éthanol, au niveau du foie est susceptible d'entraîner diverses lésions qui s'étendent de la stéatose hépatique isolée à la cirrhose et au carcinome hépatocellulaire (*Goossens et al., 2012*).

2.1. Stades de la pathologie

L'hépatopathie regroupe la stéatose hépatique, la fibrose, l'hépatite alcoolique aiguë (HAA) et la cirrhose (*figure 03*). L'accumulation de graisse sous forme des macro/microvésicules dans l'hépatocytes désigne la forme stéatose de foie qui reste réversible en quelque semaines après l'arrêt de la consommation alcoolique. La stéatose a été longtemps considérée comme une entité bénigne. Il est maintenant établi que la présence d'une fibrose consécutive à une accumulation excessive de collagène et d'autres protéines de la matrice extracellulaire transformées lors du processus de régénération des cellules de foie forment un tissu cicatriciel fibreux. L'association de nécrose hépatocytaire, d'inflammation et de fibrose péri-sinusoïdale forme les principales lésions au cours de stade de l'HAA (*Mathurin, 2009 ; Mosbah, 2016 ; Warling et al., 2019*).

De la stéatose à la cirrhose, les lésions hépatiques sont multiples évolutives et associées à une mortalité élevée. L'hémorragie digestive, le développement d'un carcinome hépatocellulaire et les infections présentent la forme chronique où ils génèrent des nodules qui

causent l'arrêt de la circulation sanguine conduisant à une nécrose (Mathurin, 2009 ; Nasrallah, 2014 ; Badlis et Haderbache, 2018).

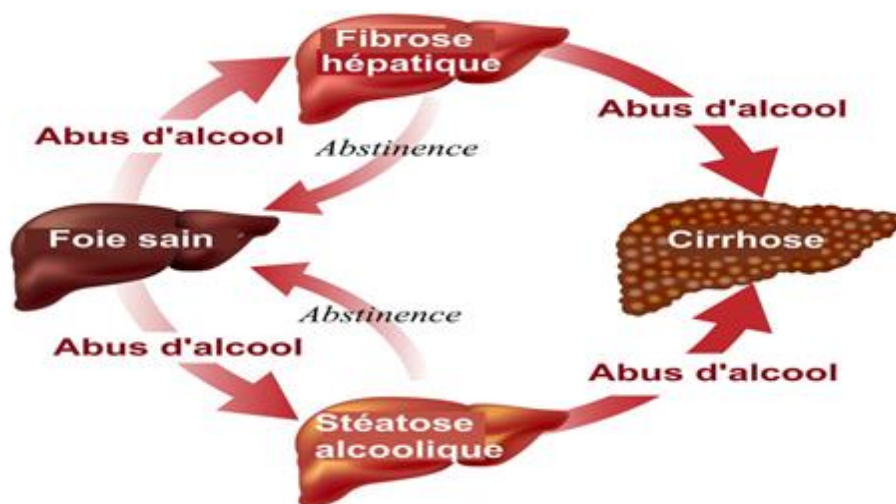


Figure 3 : Stades de la pathologie

2.2. Symptômes, diagnostic et facteurs de risque

Les symptômes de l'HA ne sont pas spécifiques, il s'agit de fatigue, des douleurs abdominales, d'anorexie, de fièvre et d'une perte de poids. Le développement d'un ictère peut survenir rapidement. Les patients atteints d'HA peuvent développer une hépatomégalie tendre, une ascite, une encéphalopathie hépatique et un saignement gastro-intestinal supérieur. Des signes d'abus chronique d'alcool tels que des angiomes araignées, une splénomégalie, un érythème palmaire, une gynécomastie, une hypertrophie de la glande parotide, une atrophie testiculaire et des multiples troubles électrolytiques (hypokaliémie, hypophosphatémie) peuvent être présents. Un sevrage sévère de l'alcool peut être mortel lorsque les patients développent un délire, des convulsions, un coma et un arrêt cardiaque (Fung et Pysopoulos, 2017).

L'HA apparaît souvent asymptomatique jusqu'à ce qu'elle développe une maladie grave et avancée. De plus, les patients atteints d'HA avancée peuvent présenter des signes de cirrhose avec décompensation hépatique (Nasrallah, 2014). La sensibilité et la spécificité des marqueurs biologiques de l'alcoolisation sont faibles et ne permettent pas de les utiliser comme outils de dépistage et de diagnostic.

L'inflammation est un mécanisme important dans le processus de toxicité par l'alcool, un diagnostic précis de l'inflammation du foie est important lorsque l'on suspecte une HA (*Seitz et al., 2018*). Ainsi la biopsie hépatique retrouve des caractéristiques évocatrices, comme la nécrose parenchymateuse, la stéatose, les dépôts de collagène intra-sinusoïdaux et péricentriques et la ballonnisation des hépatocytes. Le foie peut être infiltré par des neutrophiles, typiquement regroupés autour des corps de Mallory. La biopsie hépatique est souvent nécessaire au diagnostic de l'HA et aide à exclure d'autres étiologies. Elle est recommandée en cas d'étude clinique ou en cas de suspicion pour aider au diagnostic (*Fung et Pyrsopoulos, 2017 ; Warling et al., 2019*).

L'effet de l'alcool sur le foie pourrait dépendre sur le mode de consommation, Il a été rapporté que boire en dehors des heures de repas augmente le risque par rapport à ceux qui ne consommaient de l'alcool qu'aux heures des repas. Ainsi, la consommation excessive en une seule séance, le type et la quantité d'alcool ingérée est les facteurs de risque les plus importants pour le développement de l'HA (*O'Shea et al., 2010*). Il existe d'autres facteurs de risque ethniques, génétiques, le statut socioéconomique et politiques, qui peuvent être les facteurs déterminants du développement d'une maladie d'HA.

2.3. Physiopathologie

L'oxydation de l'éthanol modifie le potentiel d'oxydoréduction hépatocytaire en consommant le NAD oxydé qui provoque une saturation en électrons de la chaîne mitochondriale. Ainsi une fuite des électrons avec une réduction monoélectronique de l'O₂ provoque une production d'espèces réactives de l'oxygène (*Silvain et Chagneau-Derrode, 2006*).

Le métabolisme de l'éthanol crée une crise énergétique liée à l'inhibition de la voie de β -oxydation (*Sergent et al., 2001*). L'acétaldéhyde induit en outre le cytochrome P450 2E1 qui entraîne la production des ERO, ainsi qu'une déplétion intracellulaire de glutathion, ce qui participe à majorer le stress oxydant (*Trabut et al., 2012*).

Suite à son métabolisme, l'éthanol produit des ERO qui participent à sa toxicité en déclenchant un stress oxydatif (*figure 4*) (*Megarbane et al., 2007*). La particularité du stress oxydatif induit par l'éthanol réside également dans la capacité de celui-ci à générer des

conditions favorables au développement du stress oxydatif comme l'hypoxie, l'endotoxémie et la libération de cytokines (Sergent et al., 2001).

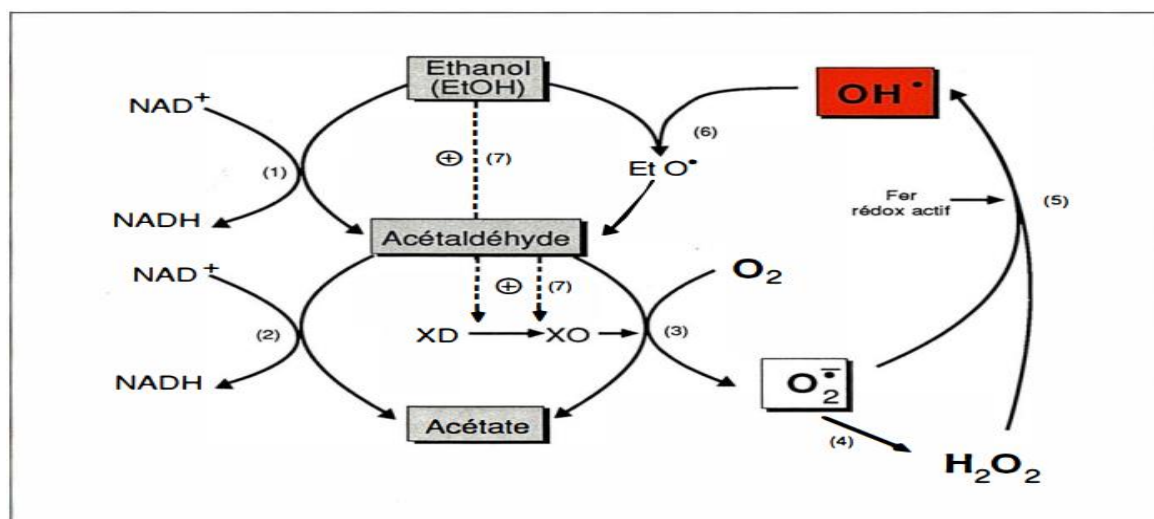


Figure 4 : Rôle possible de la xanthine oxydase dans la biosynthèse de radicaux $\bullet\text{OH}$ et l'oxydation radicalaire de l'éthanol (Nordmann et al., 1988)

1. Alcool déshydrogénase. 2. Aldéhyde déshydrogénase. 3. Biosynthèse du radical superoxyde catalysée par la xanthine oxydase (XO). 4. Superoxyde dismutase. 5. Biosynthèse du radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$) par la réaction de HaberWeiss. 6. Formation d'un radical libre ($\text{EtO}\bullet$) à partir de l'éthanol (EtOH) et de $\bullet\text{OH}$. 7. Stimulation de la transformation de la xanthine déshydrogénase (XD) en xanthine oxydase (XO).

La peroxydation lipidique et l'acétaldéhyde sont en outre à l'origine d'une cascade immuno-inflammatoire. Lors du métabolisme de l'alcool, la réaction du malondialdéhyde (MDA) avec le groupement amine des résidus d'acide aminée lysine génère également des produits de condensation appelées adduits malondialdéhyde-acétaldéhyde (MAA) et leur formation est responsable de l'augmentation des anticorps IgG, ainsi la présence d'anticorps Anti-MDA indiquant la capacité du stress oxydatif de déclenché une réponse immunitaire (Grönwall et al., 2017).

Par ailleurs, l'augmentation de la perméabilité digestive induite par l'éthanol facilite le passage d'endotoxine dans le système porte et contribue ainsi à l'activation de l'immunité innée dans le foie (Trabut et al., 2012). L'endotoxine et le système de complément activent les voies de signalisation chez les cellules kupffer conduisant à la production du stress oxydatif et des cytokine pro-inflammatoire (TNF- α) provoquant des lésions hépatocellulaires. L'activation des composants de l'immunité innée déclenche non seulement des lésions hépatiques alcoolique, mais influence des réponses hépatoprotectrice, régénératrice et anti inflammatoire qui réduisent les dommages hépatocellulaires induits par l'alcool (figure 05) (Gao et Bataller, 2011). Ces

mécanismes physiopathologiques liés à l'intoxication de l'éthanol résultent quand il n'est pas métabolisé.

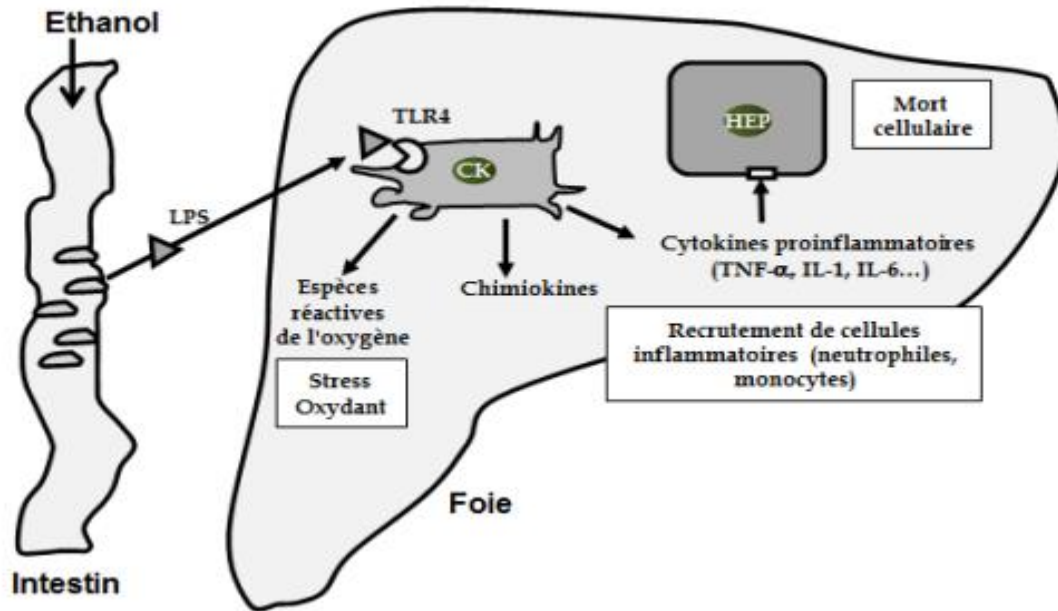


Figure 5 : Promotion de l'inflammation et de la mort cellulaire (Sergent et al., 2014)



Chapitre 02

Stress oxydant

Et

Acide alpha lipoïque

1. Stress oxydant

Depuis 1985, où le stress oxydant a été définie pour la première fois par le professeur Sies Helmut, un nouveau concept a été émergé décrivant un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du système biologique à se détoxifier (Sies, 1985 ; Rodrigo et Joaquin, 2009). Ces intermédiaires réactifs qui considérés comme des radicaux libre (RL) cause des dommages au constituants cellulaires (Semchyshyn et Lushchak, 2012).

Un RL est une molécule ou un atome qui possède un ou plusieurs électrons non appariés ou célibataires au niveau de ses orbitales externe (Naskar et al., 2009), ces électrons rendent les RL très instables et très réactifs. Les RL ont une durée de vie courte de milliseconde à nanoseconde et peuvent être formés par une addition d'un électron libre à un non radical, par perte d'un électron par un non radical, par rupture hémolytique d'une liaison covalente ou par abstraction d'un atome hydrogène (Barry, 2001 ; Finaud et al., 2006).

1.1. Espèces réactives oxydantes

Ce sont des espèces plus réactives que l'O₂ présent dans l'air, ces dérivés incluent l'anion superoxyde O₂^{•-}, radical hydroxyle OH[•], peroxyde d'hydrogènes H₂O₂, Oxygène singlets ¹O₂ et l'ozone) (Djeffal, 2014).

En effet, l'O₂ subit plusieurs réduction monoélectronique nécessitant l'apport de 4 électrons qui additionnés un par un successivement, conduisant à la production de trois réactifs oxydants ayant une réactivité beaucoup plus importante que l'O₂^{•-} (figure 06) (Gardès-Albert et al., 2003).

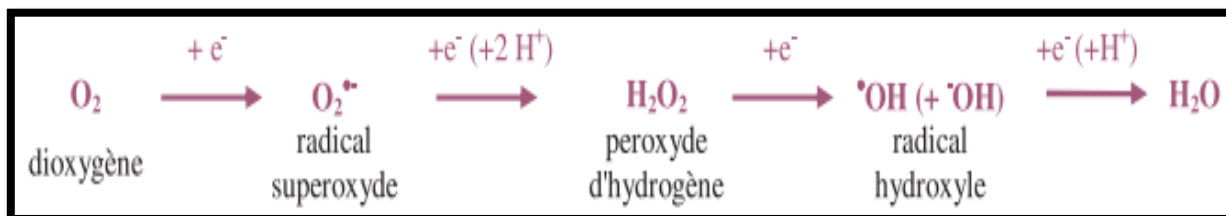


Figure 6 : Réduction monoélectronique de l'oxygène (Gardès-Albert et al., 2003)

Le monoxyde d'azote (NO^-) est un RL qui réagit avec des substances oxygénés (Archer, 1993), il peut interagir avec l' O_2 pour former l'ion peroxydinitrite (ONOO^-) très réactif (Massion et al., 2002).

1.1.1. Origine des ERO

Les ERO de type radicalaire et non radicalaire sont produits à la fois à partir des sources exogènes et endogènes (figure 07) (Juurlink, 1997 ; Valko et al., 2006).

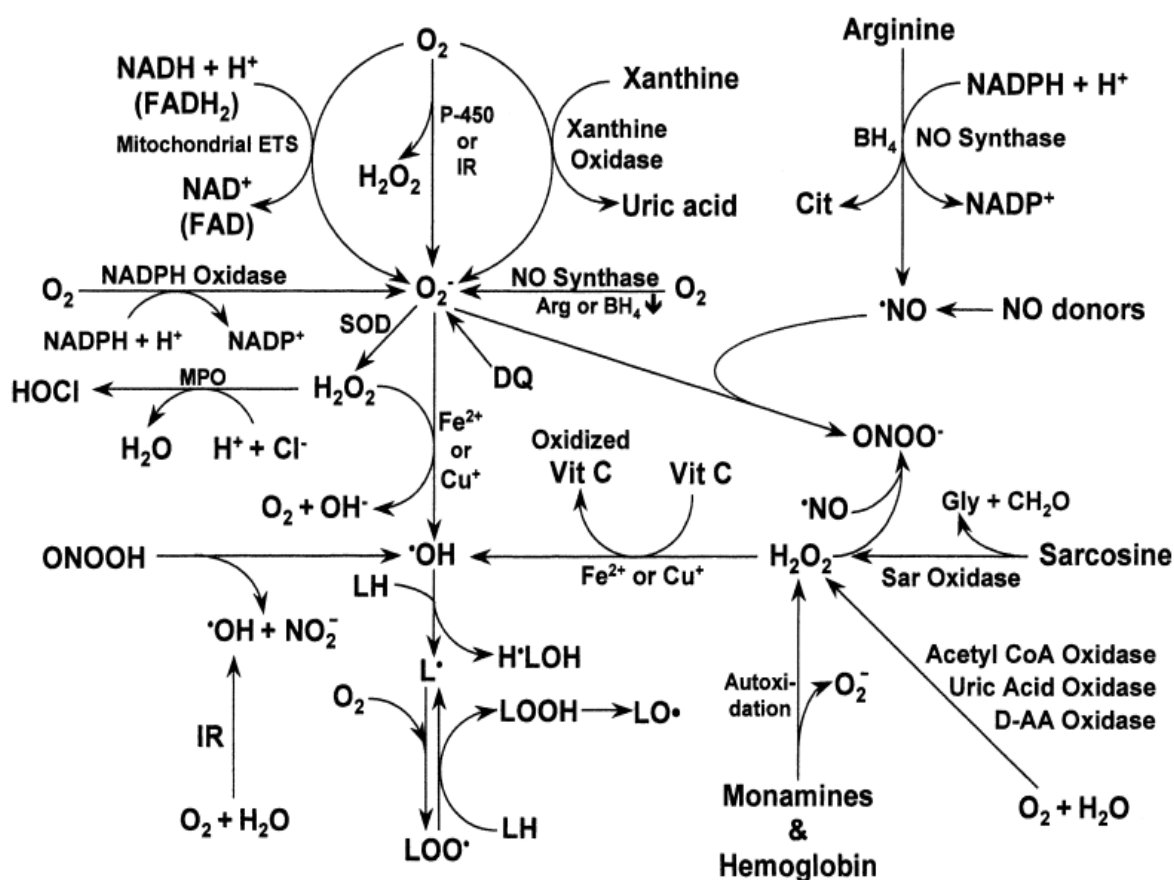


Figure 7 : Réaction de production des différents ERO (Fang et al., 2002)

L' O_2^- est considéré comme une espèce radicalaire primaire générée principalement par la chaîne respiratoire mitochondriale, le cytochrome P450, système enzymatique (NADPH oxydase et Xanthine oxydase) et l'auto oxydation des petites molécules (Chiarugi et al., 2015). De plus O_2^- peut interagir avec d'autres molécules pour générer des ERO radicalaires secondaires par la réaction de Fenton qui génère un radical hydroxyle (OH^-) (Kaur, 2018), par

oxydation de l'acide aminé arginine ou citruline assuré par l'enzymes NOS synthétase en présence de NADPH formant ainsi l'oxyde nitrique (NO^{\bullet}) (Robinson *et al.*, 2011). L'interaction de $\text{O}_2^{\bullet-}$ et le NO^{\bullet} lorsque sont formés en grandes quantités en parallèle donne le peroxy-nitrite (ONOO^{\bullet}). Ce dernier donne à son tour OH^{\bullet} ou génère le radical peroxyyle (ROO^{\bullet}) suite à l'attaque oxydative des lipides (Villamena, 2013).

D'autres types d'ERO sont non radicalaires présentés principalement par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) généré soit par dismutation de $\text{O}_2^{\bullet-}$ catalysé par la superoxyde dismutase (SOD) ou à partir de O_2 par action d'enzymes de métabolisme des xénobiotiques (Valko *et al.*, 2006). En addition, H_2O_2 peut donner l'hypochlorite (HOCl) par l'intervention de l'enzyme myéloperoxydase (Bansal *et Kaushal*, 2014). $\text{O}_2^{\bullet-}$ peut être produit par des processus endogènes comme la lumière à partir de O_2 (Ozcan *et Ogun*, 2015).

Les sources exogènes peuvent être représentées par des agents environnementaux y compris les cancérigènes non génotoxiques, par l'expositions à des xénobiotiques, des métaux lourds, des radiations (rayons X et lumière UV) qui peuvent générer directement ou indirectement des ERO dans les cellules (Machlin *et Bendich*, 1987).

À l'heure actuelle, il est bien établi que l'induction d'un stress oxydatif fait partie des mécanismes de toxicité de l'alcool, le métabolisme de l'éthanol en produisant des ERO à faible niveau entraîne des modifications oxydatives des radeaux lipidiques provoquant l'agrégation de ceux-ci. Le seul effet de l'alcool clairement démontré est une déplétion en glutathion lors de l'intoxication aiguë et en glutathion mitochondrial lors de l'intoxication chronique (Garcia-Ruiz *et al.*, 1994 ; Sergent *et al.* 2001 ; Sergent *et al.* 2014).

1.1.2. Rôle physiologique des ERO

Lorsque les ERO présentes à des faibles quantités dans la cellule, elles réagissent de façon bénéfique assurant plusieurs mécanismes biologiques.

Dans le système de défense antimicrobiens, juste après la phagocytose des pathogènes, les phagocytes, granulocytes neutrophiles et les monocytes augmentent la consommation d' O_2 et passent d'un état quiescent à un état activé (Migdal *et Serres*, 2011), et libère des ERO qui aide à neutraliser les bactéries, ce mécanisme traduit l'explosion oxydative (Forman *et al.*,

2004). Par ailleurs, la libération rapide des ERO participe à l'induction de lésion tissulaire dans certaines maladies inflammatoires (*Gougerot-Pocidalò et al., 2002*).

Les ERO interviennent dans les mécanismes de la signalisation redox et la transmission cellulaire. Le H₂O₂ est le seul RL ayant une spécificité de son interaction avec les effecteurs dans les voies de signalisation, cette spécificité lui attribue plusieurs rôles de second messager (*Forman et al., 2004 ; Sies, 2014*) :

✓ Le H₂O₂ est qualifié d'insulino-mimétique et intervient dans plusieurs cascades de signalisation induites par les facteurs de croissance ;

✓ Le H₂O₂ intervient également dans des processus de prolifération, de différenciation, de réparation des tissus et d'inflammation.

Les ERO peuvent également participer dans le système de transmission en activant ou en inhibant des récepteurs ou des enzymes (*Migdal et Serres, 2011*). En plus, plusieurs facteurs de transcription impliqués dans les processus biologiques tels que NF-κB, AP-1, AP-2, MTF, HSF, Sp-1 et NFI, sont régulés par les ERO (*Guiraud, 2006*).

1.1.3. Dommage oxydatifs des ERO

Les biomolécules cellulaires protéiques, lipidiques et acides nucléiques (ADN et ARN) sont les principales cibles des ERO contribuant à une augmentation de stress oxydant (*Serdar et al., 2006*).

A. Oxydation lipidique

La lipoperoxydation (LIPOX) est un phénomène d'oxydation lipidique qui peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction de milieu et agents initiateurs (*tableau1*) (*Ayala et al., 2014*).

Tableau 1 : Agents initiateurs responsable de déclenchement des voie d'oxydation lipidique (Paquette et al., 1985 ; Tejero et al., 2004 ; Gargouri et al., 2008)

Voies réactionnelles	Agents initiateurs
Auto-oxydation	Température (T°), les ion métallique et les RL
Photo-oxydation	Photosynthèse en présence de la lumière
Oxydation enzymatique	Lipoxygénase

La LIPOX est un mécanisme d'auto-oxydation décrivant les réactions entre les RL et les acides gras polyinsaturés (AGPI) (Tessier et Marconnet, 1995). Elle correspond à une fixation d' O_2 suivi des réactions en chaîne radicalaire qui se déroule en trois étapes (Tsimikas et Witztum, 2000 ; Guichardant et al., 2006) :

✓ **Phase d'initiation** : dans cette phase, une abstraction d'un atome d'hydrogène de l'AGPI situé sur un carbone placé entre deux doubles liaisons conduit à la formation d'un radical alkyle (figure 08).

✓ **Phase de propagation** : le radical alkyle réagit avec l' O_2 pour donner le radical peroxyde instable qui peut réagir à son tour avec une nouvelle molécule d'AGPI pour former des peroxydes. Le peroxyde formé se décompose par scission homolytique de la liaison O-O pour former le radical alcoyle et hydroxyle. Le radical alcoyle réagit avec d'autres substrats conduisant à la propagation de la réaction en chaîne. Il peut également subir une scission C-C de part et d'autre du radical pour former un radical alkyle et un radical vinyle. Le radical alkyle peut réagir avec un hydrogène, un radical hydroxyle ou une molécule d'oxygène générant ainsi des hydrocarbures, des alcools et d'autres peroxydes. Le radical vinyle peut réagir avec un radical hydroxyle, un radical hydrogène ou oxygène moléculaire pour générer des hydrocarbures et des aldéhydes qui permettent une évaluation du degré de peroxydation (figure 08).

✓ **Phase de terminaison** : les RL formées au cours de la phase de propagation réagissent entre eux pour former une substance non radicalaire (figure 08).

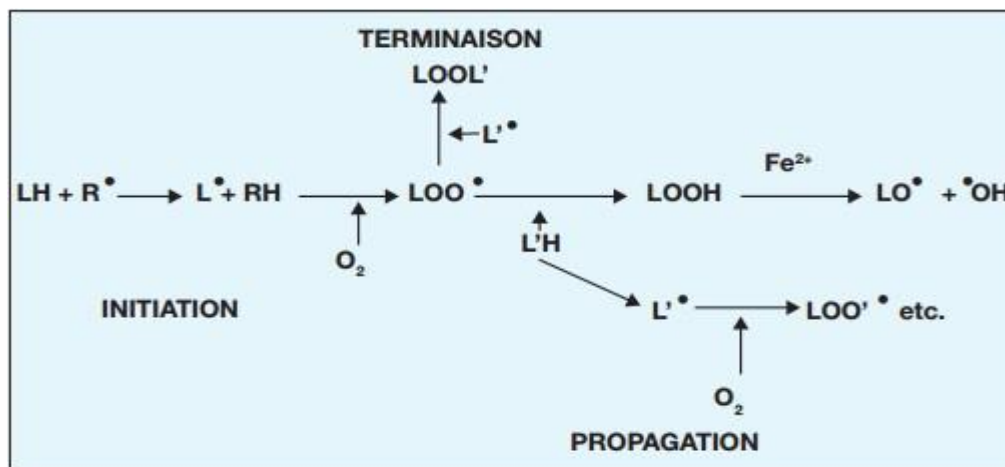


Figure 8 : Phases d'initiation, de propagation et de terminaison de la peroxydation lipidique (Michel et al., 2008)

A la fin du processus de LIPOX, plusieurs produits secondaires d'oxydation appariés sont considérés comme des biomarqueurs visés pour caractériser l'état global d'oxydation lipidique. Le MDA est un produit terminal secondaire formé au cours de la LIPOX à partir de dégradation des hydroperoxydes. La réactivité du MDA avec l'acide thiobarbiturique (TBA) est le test le plus connu et le plus utilisé (Guichardant et al., 2006). Aussi les isoprostanes plasmatique et urinaire sont des biomarqueurs les plus valide et les plus sensible ainsi stables permettant de suivre la réduction du stress oxydant *in vivo* après traitement pharmacologique (Michel et al., 2008).

Le mécanisme de la LIPOX a pour conséquences d'une diminution de la fluidité membranaire, une augmentation de la perméabilité aux substances, des altérations structurales des membranes et des lipoprotéines, une inactivation des enzymes structurales ainsi qu'une cytotoxicité qui peut être attribuée aux espèces radicalaires qu'elle génère et aux aldéhydes qui sont issus par des réactions de coupures (Tebani, 2014).

B. Oxydation protéique

Les protéines sont les premières cibles susceptibles d'être attaquées ou modifiées par les ERO à trois niveaux (Berlett et Stadtman, 1997 ; Migdal et Serres, 2011) :

- ✓ Oxydation au niveau des chaînes latérales des AA (figure 09) ;
- ✓ Oxydation au niveau de la chaîne protéique elle-même suivie d'une fragmentation et / ou de la formation de liaison intra ou inter chaîne ;

✓ Formation d'une chaîne carbonylée issue de la fragmentation de protéine, de l'oxydation de certains AA ou l'interaction des AA avec des produits de LIPOX.

L'oxydation des protéines entraîne la formation des carbonyles réactifs (cétones et aldéhydes). Ces groupements formés ont été proposés en tant que signe de dysfonctionnement associé à une maladie (neuropathie (*Hlusicka et al., 2019*)). Ainsi les protéines carbonylées sont des biomarqueurs de diagnostic précoce de ces maladies. Les groupes des protéines carbonyles ont été les plus largement étudiée de l'oxydation des protéines et parce qu'ils sont très stables et peuvent être facilement détectés par leurs réaction avec 2-4 dinitrophénylhydrazine (DNPH) (*Bansal et Kaushal, 2014*).

La plupart des dommages oxydatifs sont irréversibles et non réparables conduisant à des modifications des structures, d'antigénicité et de fonction des protéines (*Jaisson et al., 2017*).

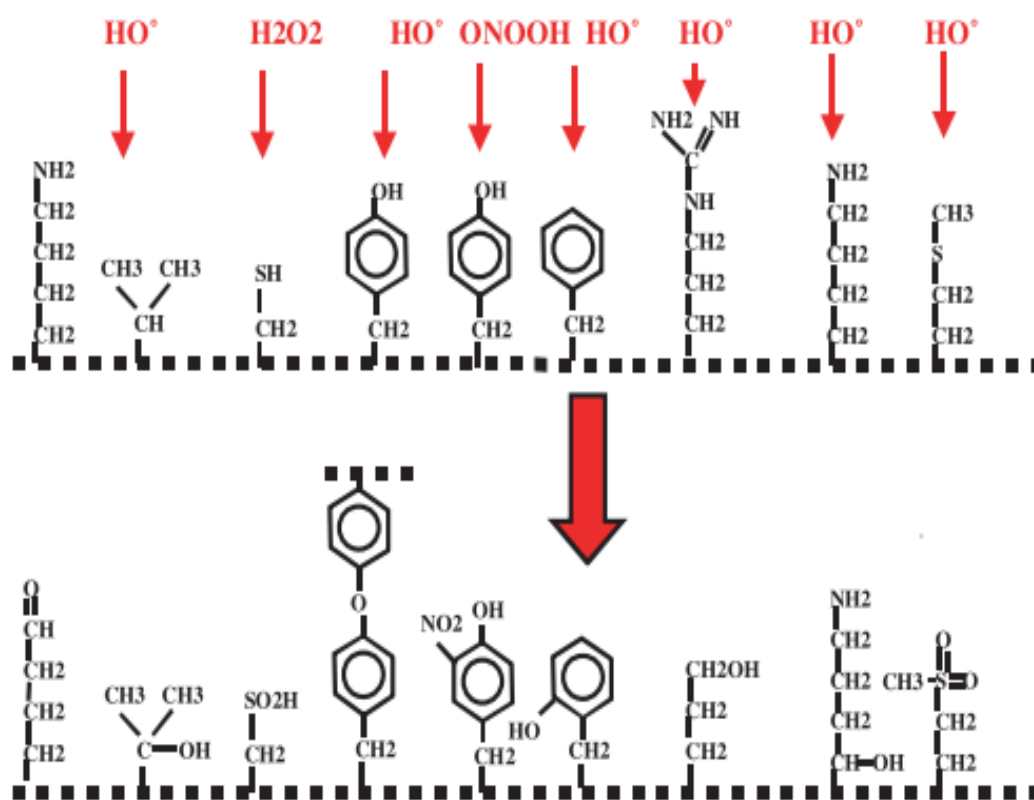


Figure 9 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (*Favier, 2003*)

C. Oxydation des acides nucléiques

Les diverses lésions résultant de l'oxydations d'acides nucléiques sont majoritairement produites par l'action d' $\text{OH}\cdot^-$. Sa réaction avec l'ADN est susceptible de conduire à une oxydation des bases et des résidus des sucres ou la formation des cassures de chaîne par arrachement d'un atome d'hydrogène du 2-désoxyribose. De plus, le radical $\text{OH}\cdot^-$ est responsable de la formation des pontages ADN-protéines dans les nucléoprotéines. Ainsi, les réactions des LIPOX s'y produisant provoquant la formation d'MDA entrainant une oxydation indirecte des acides nucléiques (figure 10) (Badouard, 2006). L'oxydation de l'ADN aboutit à la formation de fragments 8-OH-2'-deoxyguanosine (8-OH2DG) qui sont éliminés par les enzymes de réparation. Mais si ces systèmes sont défaillants ou dépassés, la 8-OH2DG s'accumulera au sein de l'ADN pouvant causer des mutations. Ce métabolite considéré comme un biomarqueur lorsque des taux urinaires augmentent reflétant un stress oxydatif au niveau de l'ADN.

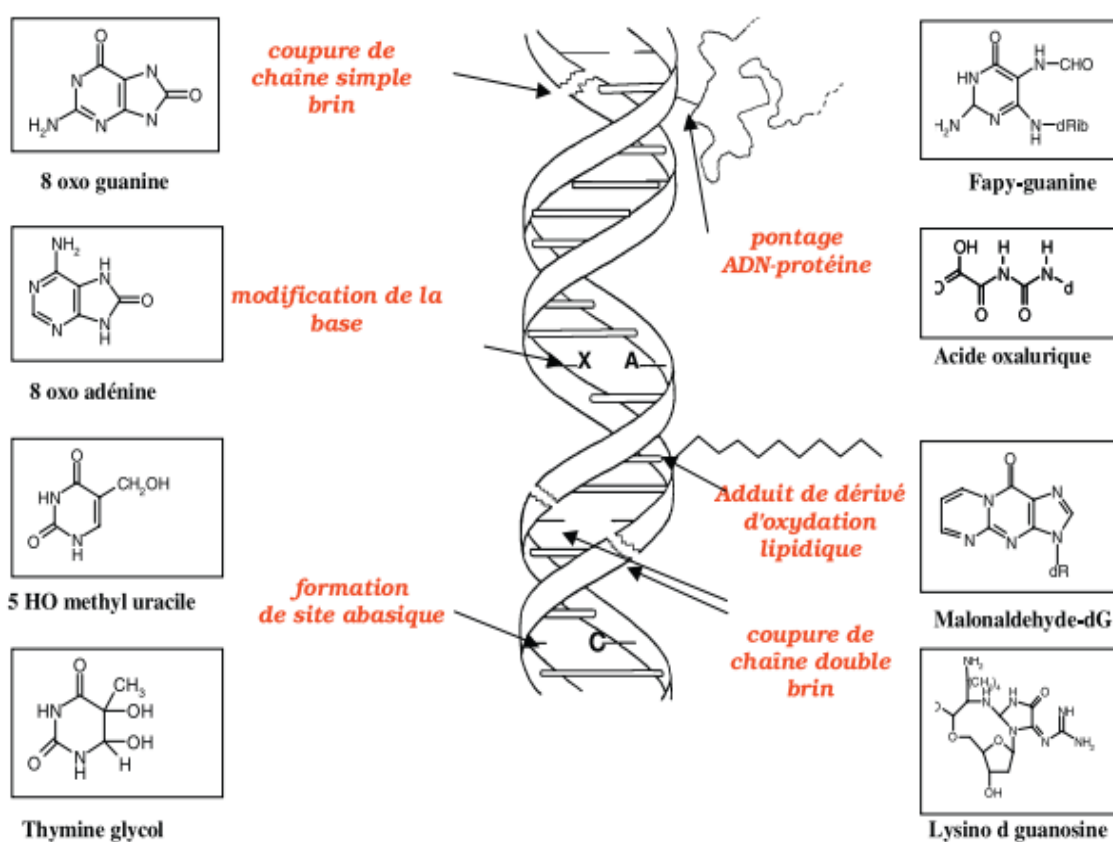


Figure 10 : Principaux dommages radicalaires au niveau de l'ADN (Favier, 2003)

1.2. Systèmes de défense antioxydants

Le corps humain est équipé d'une variété des antioxydants qui servent à mettre en balance l'effet des oxydants. Les antioxydants sont classifiés en systèmes enzymatiques et non enzymatiques, préventifs ou réparateurs, endogènes et exogènes, primaires et secondaires, hydrosolubles et liposolubles, naturels ou synthétiques (*Birben et al., 2012 ; Pisoschi et Pop, 2015*).

1.2.1. Systèmes enzymatiques

A. Superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase (SOD) est une métallo-enzyme et la première ligne du système de défense contre les ERO. Elle catalyse la dismutation de $O_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 et O_2 . Il existe trois isoformes : SOD cuivre/zinc, SOD manganèse et SOD extracellulaire (*Ighodaro et Akinloye, 2018*).

B. Catalase

La catalase (CAT) est une enzyme commune dans presque tous les organismes vivants. Elle utilise le fer ou manganèse comme des cofacteurs et catalyse la réduction du H_2O_2 en H_2O et O_2 . La catalase est très efficace car elle peut décomposer des millions des molécules de H_2O_2 en une seconde (*Kaushal et al., 2018*).

C. Glutathion peroxydases

La glutathion peroxydase (GPx) appelée séléno-cystéine peroxydase car son activité dépend d'un cofacteur dit sélénium, est une enzyme intracellulaire, réduit le H_2O_2 et les peroxydes lipidiques respectivement en H_2O et alcools, dans les mitochondries et parfois dans le cytosol. Cette enzyme joue un rôle très important en inhibant le processus de LIPOX et protège donc les cellules du stress oxydatif (*Ighodaro et Akinloye, 2018*).

1.2.2. Systèmes non enzymatiques

A. Antioxydants non enzymatiques liposolubles

✓ **Vitamine E** : ou α -tocophérol est un antioxydant lipophile qui est considéré comme le principal antioxydant membranaire utilisé par les cellules contre l'attaque des RL empêchant la LIPOX des AGPI (Rohnavaz et al., 2016).

✓ **Caroténoïdes** : β -carotène est le précurseur le plus abondant et le plus efficace de la vitamine A, c'est un antioxydant liposoluble dont l'activité se produit dans les fibres de collagène et d'élastine. Les caroténoïdes montrent leurs effets antioxydant dans une faible pression partielle d'O₂ et peuvent avoir des effets pro-oxydants à des concentrations d'O₂ plus élevées. Il inhibe la LIPOX induits par les RL (Watson, 2017 ; Young et Lowe, 2018).

✓ **Ubiquinol** : ou coenzyme Q10 appelé ubiquinone, est un antioxydant naturel qui fait partie de la chaîne des molécules de transport d'électrons dans la mitochondrie, il est nécessaire pour la production d'énergie. Son rôle dans l'acceptation et le transfert des électrons dans les mitochondries, le rend également parfaitement adapté pour agir comme un antioxydant, en particulier dans l'environnement mitochondrial, où de nombreuses réactions biochimiques de haute énergie se produisent (Frei et al., 1990 ; Mendelson, 2008).

B. Antioxydants non enzymatiques hydrosolubles

✓ **Vitamine C** : ou acide ascorbique est un antioxydant très important, qui fonctionne dans les environnements aqueux du corps, en neutralisant les ERO qui sont produits par les cellules du derme et de l'épiderme et en protégeant les structures intracellulaires dues au stress oxydatif (Padayatty et al., 2003 ; Chambial et al., 2013).

✓ **Glutathion (GSH)** : un tripeptide formé de glutamate, de cystéine et de glycine, souvent considéré comme le principal antioxydant de la cellule. Ses fonctions et ses propriétés antioxydant sont essentiels aux processus cellulaires, notamment la détoxification des xénobiotiques, la modulation de la prolifération cellulaire, le transport et le stockage de la cystéine et le maintien de l'état redox (Navari-Izzo et al., 2002 ; Ferguson et Bridge, 2019).

✓ **Oligoéléments** : ils agissent comme des cofacteurs des enzymes antioxydants pour protéger l'organisme contre les ERO, tels que le cuivre, le manganèse, le sélénium, et le zinc.

Ils sont nécessaires pour maintenir un équilibre entre les composants pro-oxydants nocifs et les composés antioxydants qui contrent ces effets (*Leung, 1998*).

✓ **Polyphénols** : les composés phénoliques comprennent plus de 8000 composés et divisés en dix groupes différents selon leur structure chimique, notamment les acides phénoliques, les flavonoïdes et les proanthocyanidines. Ce sont les principaux antioxydants naturels assurant leur fonction antioxydant par le transfert d'un seul électron et le transfert d'atomes d'hydrogène. Les sources les plus riches en polyphénols alimentaires sont les fruits, les légumes, les céréales, les épices et les herbes. La consommation élevée de ces aliments a été associée à une diminution du risque des maladies dégénératives et chroniques les plus courantes qui sont connues pour être causées par le stress oxydatif (; *Navari-Izzo et al., 2002 ; Zhang et Tsao, 2016*).

2. Acide alpha lipoïque

L'acide alpha lipoïque (AAL) est un composé antioxydant naturel présent dans toutes les cellules du corps, il protège efficacement contre le stress oxydatif grâce à ses deux formes, réduite, acide dihydrolipoïque (ADHL) et oxydée, acide alpha lipoïque (*figure 11*). Ces formes ont une capacité de chélation des métaux, bloquent les ERO dans le cytosol ou dans les domaines hydrophobes et permettent de régénérer d'autres antioxydants. L'AAL est fréquemment utilisé pour le traitement des pathologies associées au stress oxydant, telles que le diabète et l'athérosclérose (*Ying et al., 2010 ; Rochette et al., 2015*).

Dans l'organisme humain, l'AAL fonctionne comme un cofacteur essentiel de plusieurs complexes multienzymatiques mitochondriaux impliqués dans le métabolisme énergétique, tels que les complexes pyruvate déshydrogénase (PDG) et α -cétoglutarate déshydrogénase (KGDG) (*Packer et al., 1997 ; Navari-Izzo et al., 2002 ; Farhat et Lincet, 2020*).

2.1. Structure chimique

L'AAL dit aussi acide thioctique est chimiquement appelé (acide 1,2-dithiolane-3-pentanoïque ou acide 6,8-dithiooctanoïque, sa formule est $C_8H_{14}O_2S_2$) (*Ghibu et al., 2008*).

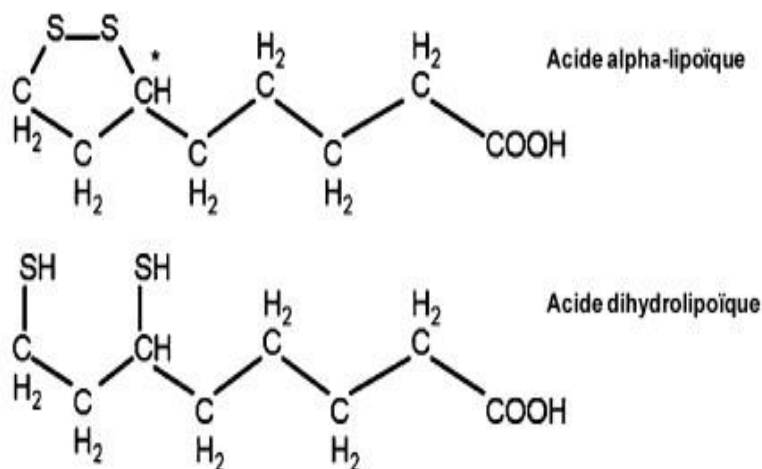


Figure 11 : Structure chimique de l'acide alpha lipoïque et de l'acide dihydrolipoïque (*Ghibu et al., 2008*)

L'AAL est un disulfure, qui contient huit atomes de carbone avec un seul centre chiral et un carbone asymétrique, deux atomes de soufre insérés dans les liaisons C-H au niveau des

carbones 6 et 8 d'acide n-octanoïque. Il en résulte ainsi de deux isomères optiques possibles (figure 12) : R-AAL et S-AAL. L'isomère R est synthétisé de manière endogène et se lie aux protéines (Patel et Packer, 2008 ; Gorqca et al., 2011).

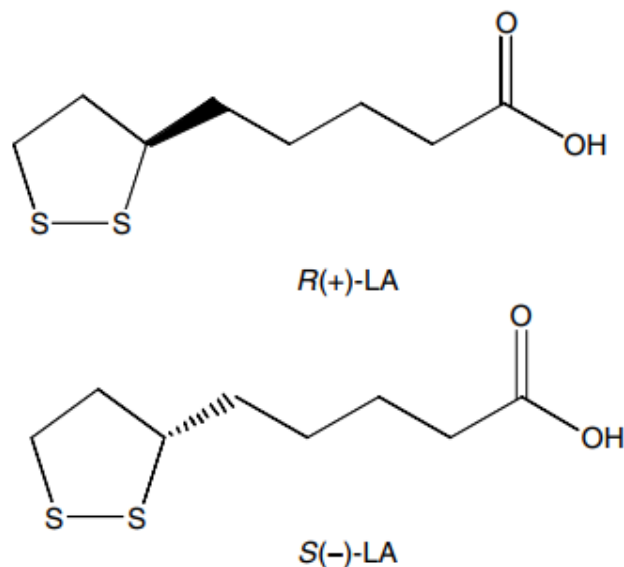


Figure 12 : Formes énantiomère de l'acide alpha lipoïque (Patel et Packer, 2008)

2.2. Biosynthèse et métabolisme de l'acide alpha lipoïque

2.2.1. Biosynthèse de l'acide alpha lipoïque

Chez l'homme, l'AAL provient de l'apport alimentaire ou synthétisé par voie enzymatique dans les mitochondries à partir de l'acide gras octanoïque comme précurseur et de la cystéine comme source de soufre sous l'action de l'acide lipoïque synthétase (Navari-Izzo et al., 2002 ; Ghibu et al., 2008 ; Amenta et al., 2018).

2.2.2. Métabolisme de l'acide alpha lipoïque

L'AAL est métabolisé soit par :

✓ **Réduction de l'acide alpha lipoïque** : l'AAL peut être réduit en ADHL, sous l'action des enzymes, lipoamide déshydrogénase (LipDH) mitochondriale avec oxydation du NADH (figure 13), glutathion réductase et la thiorédoxine réductase cytosolique avec oxydation du NADPH (Jones et al., 1997 ; Ghibu et al., 2008 ; Gorqca et al., 2011).

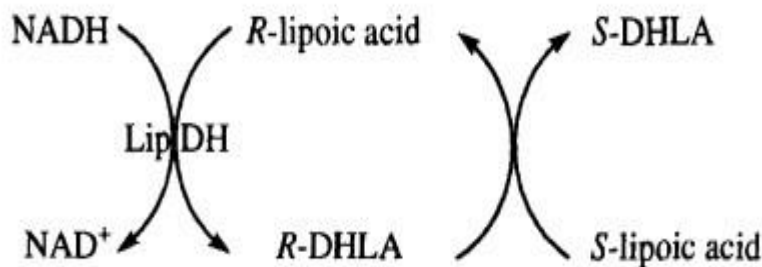


Figure 13 : Réduction de l'acide alpha lipoïque (Biewenga et al., 1997)

✓ **β-oxidation** : est un processus catabolique des AG qui se déroule dans le foie, induisant la libération au niveau de l'urine et du plasma des acides hydroxibisnorlipoïques, bisnorlipoïque et tétranorlipoïque qui peuvent contribuer à l'effet antioxydant l'AAL *in vivo* (figure 14) (Biewenga et al., 1997 ; Ghibu et al., 2008). Schupke et al., a confirmé que la β-oxidation est la principale voie métabolique de l'AAL *in vivo* (Schupke et al., 2001). Quelle que soit l'espèce animale étudiée, les métabolites les plus courants de l'AAL semblent être le bisnorlipoate, le tétranorlipoate, le β-hydroxy-bisnorlipoate ou les dérivés mercapto bis-méthylés de ces composés (Shay et al., 2009).

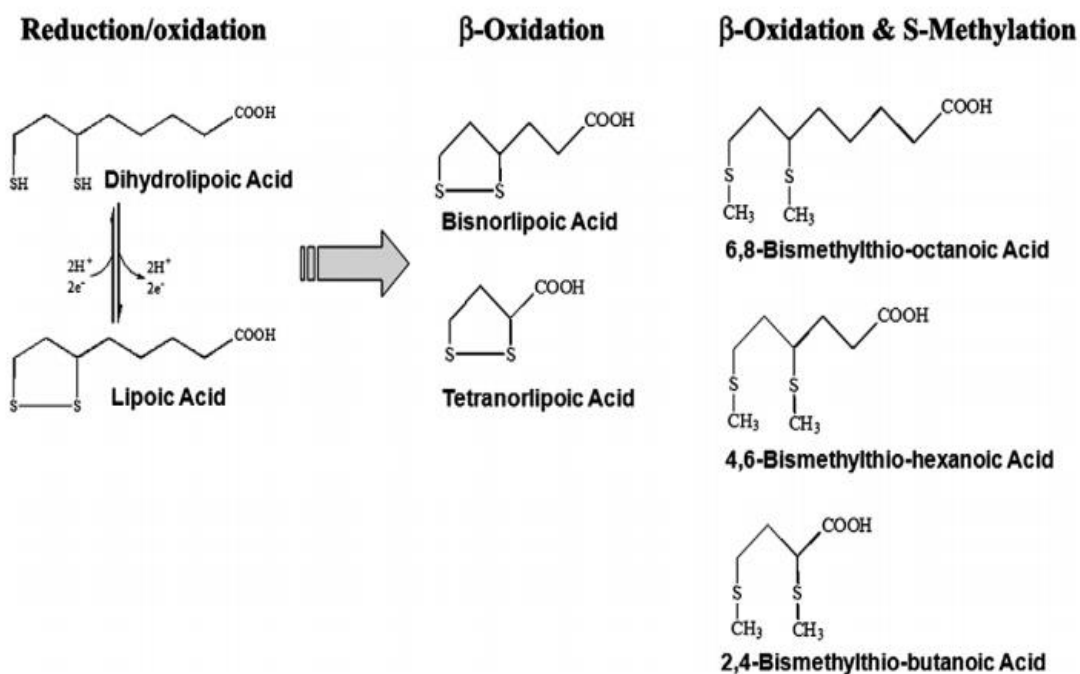


Figure 14 : Réduction de l'acide alpha lipoïque par β-oxidation (Shay et al., 2009)

2.3. Effet antioxydant

L'AAL représente un puissant antioxydant et cofacteur important pour les réactions redox au sein de la mitochondrie et de la cellule (*Patel et Packer, 2008*). L'efficacité antioxydant essentielle de l'AAL est basée sur la réactivité de ce dernier avec les ERO où il souvent piéger plusieurs types de RL essentiellement le $\text{OH}\cdot^-$ (*Navari-Izzo et al., 2002*). L'AAL est un antioxydant qui réagit directement sur les ERO par sa propriété amphiphile qui lui permet d'agir tout au niveau des membranes lipidiques qu'au niveau des parties intra et/ou extracellulaire.

Plusieurs mécanismes sont évoqués :

✓ Il peut chélate les métaux lourds et piéger les métaux de transition impliqués dans la synthèse des $\text{OH}\cdot^-$ (*Bustamante et al., 1998 ; Moïni et al., 2002 ; Caylak et al., 2008 ; Moraes et al., 2010*).

✓ Des études ont démontré que la chélation du fer et du cuivre par l'AAL dans le cerveau a eu un effet positif sur la maladie d'Alzheimer par diminution des RL (*Packer et al., 1995 ; Simunkova et al., 2019*).

✓ Régénération des formes réduites de certains antioxydants notamment la glutathion, vitamine C et vitamine E, augmente ainsi leur demi-vie et leur efficacité (*figure 15*) (*Winiarska et al., 2008 ; Ghibu et al., 2008*).

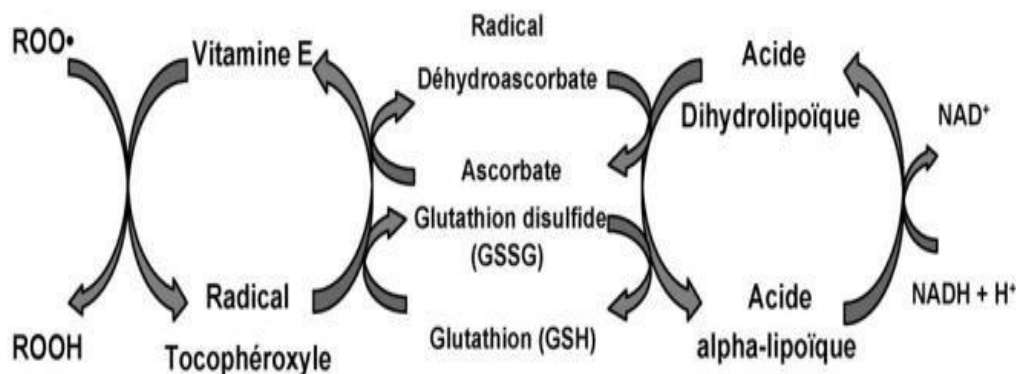


Figure 15 : Mécanismes de protection des antioxydants endogènes (vitamines C et E, glutathion) par l'acide alpha lipoïque (*Ghibu et al., 2008*)

✓ Il peut exercer un effet antioxydant sur l'enzyme de l'hème oxygénase 1 (HO-1) qui implique la dégradation de l'hème avec la libération de bilirubine et de biliverdine qui ont des effets anti oxydants (*Rochette et al., 2013*).

2.4. Effet hépatoprotecteur

Plusieurs études ont confirmé l'effet protecteur de l'AAL basée sur l'équilibre du statut oxydatif au niveau de plusieurs types cellulaires tels que les cellules pancréatiques (*Topsakal et al., 2016 ; Abd-Ellah et Abou-zeid, 2017;*).

Au niveau des hépatocytes, les études de liu et al., (2018) ont démontré que l'administration de l'AAL protège le foie contre les lésions et les dommages induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) (*Liu et al., 2018*). L'AAL est capable de réguler l'autophagie hépatocellulaire par la régulation de la voie de signalisation de AKT/m TOR avec la répression de la voie TGR/Smad3.

L'effet protecteur de l'acide alpha lipoïque contre l'hépatotoxicité induite par l'éthanol représente le but de l'expérimentation présentée dans ce travail.



Chapitre 03

Aperçu sur les modèles

d'étude de l'effet de

l'AAE

1. Etude *in silico*

La bio-informatique, discipline en évolution permanente, est une application d'outils et de techniques informatiques, mathématiques utile pour la gestion et l'analyse des données biologiques. Le terme *in silico* est devenu fréquent pour décrire les études biologiques effectuées sur ordinateurs, rejoignant les termes *in vivo* et *in vitro* qui décrivent les modèles des études expérimentales traditionnelles (Tisdall, 2002). Ekins et al., ont dit « ... Au cours de la dernière décennie, nous avons vu que des méthodes de calcul *in silico* ont été développés et appliqués au développement et au test d'hypothèses pharmacologiques » (Ekins et al., 2007).

Les méthodes *in silico* comprennent les bases des données, la relation quantitative structure activité, représentation des pharmacophores et d'autres approches de modélisation moléculaire.

1.1. Amarrage moléculaire

L'amarrage moléculaire est une méthode fondée sur la structure *in silico* largement utilisé dans la découverte des médicaments. L'amarrage permet d'identification des nouveaux composés d'intérêt thérapeutique, de prédire les interactions ligand-cible au niveau moléculaire ou de délimiter les relations structure activité (Pinzi et Rastelli, 2019). L'amarrage moléculaire est une méthode qui analyse la conformation et l'orientation des molécules dans le site de liaison d'une cible macromoléculaire (récepteur, enzymes, protéines).

Les algorithmes de recherche génèrent des conformations possibles qui sont classées par les fonction des notations (Torres et al., 2019). Plusieurs logiciels algorithmiques utilisé permettent d'évaluer les interactions énergétiques potentiels entre les ligands et le récepteur tels que l'AutoDock (Morris et al., 1996), GOLD (Jones et al., 1997), MolDock (Thomsen et Christensen, 2006).

AutoDock est une suite de logiciel d'amarrage informatique et de criblage virtuel des petites molécules vers les récepteurs macromoléculaires (Forli et al., 2016). Ce logiciel est

capable de déterminer les conformations avec les scores possibles en calculant rapidement l'énergie libre totale du complexe ligands-récepteurs.

L'effet hépatoprotecteur de l'acide alpha lipoïque consiste à étudier les interactions de ce dernier avec des molécules et macromolécules organiques et protéiques essentielles dans la pathologie de l'hépatotoxicité de l'éthanol.

2.2 QSAR (Quantitative Structure Activity Relations)

D'après les travaux de Crum-Brown et Frazer (1868), ils ont postulé que l'activité biologique d'une molécule est une fonction de sa constitution chimique (*Crum Brown et Fraser, 1868*). Après un siècle la QSAR s'est développée, diversifiée, a évolué et est largement utilisée dans le domaine de la recherche scientifique.

Le principe des méthodes QSAR est de mettre une relation mathématique reliant de manière quantitative la structure moléculaire, codée par des propriétés moléculaires appelées descripteurs, avec une activité en utilisant des méthodes d'analyse des données.

L'objectif de ces méthodes est d'analyser les données structurales afin de déterminer les facteurs influençant l'activité mesurée (*Srinivas Reddy et al., 2010 ; Li et al. 2012*). L'utilisation de QSAR est pour but de prédire les propriétés de l'activité biologique et physico-chimiques par des moyens rationnels. Ces prévisions pourraient réduire l'exigence des tests longs et coûteux pratiqués sur les animaux afin de développer de nouveaux produits pharmacologiques (*N'dri et al., 2019*).

La QSAR la plus connue est de la forme « activité = f (descripteurs) » et les descripteurs peuvent être des propriétés physicochimiques et/ou structurales.

Les propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques de l'acide alpha lipoïque, de l'acide dihydrolipoïque et de certaines molécules de référence (α -tocophérol et acide ascorbique) sont étudiées par plusieurs logiciels utilisant la méthode QSAR notamment :

✓ **Molsoft** : est un logiciel établi par *California Based Software Company*, qui est un logiciel graphique de visualisation moléculaire, de modélisation moléculaire, de dépistage virtuel, de la biologie computationnelle et la Chimie informatique. Il calcule les propriétés chimiques comme la formule moléculaire, le poids moléculaire, le coefficient de partage, la solubilité dans l'eau et la surface polaire (*Ben Hadda et al., 2019*) ;

✓ **Molinspiration** : est un logiciel qui permet de calculer les propriétés physicochimiques des molécules pour la conception des médicaments et de connaître la relation quantitative entre la structure et l'activité. Ce logiciel permet de calculer aussi des propriétés pharmacologiques, le facteur lipophile, le nombre d'atomes, le poids moléculaire, le nombre d'interaction moléculaire. Molinspiration permet également de calculer le volume moléculaire, le nombre de liaisons rotatives et la superficie topologique de la surface polaire (*Ben Hadda et al., 2019*) ;

✓ **Osiris** : est un logiciel en ligne, il permet de dessiner des structures chimiques et de calculer les différentes propriétés concernant chaque substance. Une fois que la structure est valide, les résultats de prévision sont évalués et codés par couleur. Les propriétés avec des risques élevés de toxicité et des effets indésirables comme l'effet mutagénique ou la mauvaise absorption intestinale sont indiquées en rouge, alors que la couleur verte indique le comportement adéquat de la substance (*Ben Hadda et al., 2019*) ;

✓ **SwissADME** : est un serveur en ligne, qui permet de calculer les propriétés physicochimiques des molécules, et de prédire la pharmacocinétique. Ce logiciel permet de calculer la structure chimique, les propriétés physicochimique, lipophilie, solubilité dans l'eau, pharmacocinétique, coefficient de perméabilité cutanée et les propriétés pharmacologiques (*Daina et al., 2017*).

2. Etude *in vitro*

De nombreuses expériences en biologie cellulaire sont réalisées en dehors de l'organisme. Parce que les conditions peuvent parfois ne pas correspondre aux conditions dans l'organisme, ce type de recherche vise à décrire les effets d'une variable expérimentale sur un sous-ensemble de parties constitutives d'un organisme. Il tend à se concentrer sur les organes, les tissus, les cellules, les composants cellulaires et les biomolécules. Surtout, il est plus approprié de déduire un mécanisme d'action. Avec moins de variables et de réactions amplifiées, les résultats sont généralement plus discernables (Lorian, 1988 ; Van Ravenzwaay et Leibold, 2004;).

En pratique, plusieurs essais *in vitro* sont menés pour évaluer les activités antioxydantes et permettent de mesurer le pouvoir anti-radicalaire des molécules ou des échantillons testés. Nous pouvons citer l'activité de réduction du DPPH (Manzocco et al., 1998), le test de piégeage de radicale libre H₂O₂ (Ruch et al., 1989), l'activité de piégeage de l'oxyde nitrique (Maccocci et al., 1994), l'activité de récupération des radicaux peroxy-nitrites (Kooy et al., 1994), la méthode Trolox capacité antioxydante équivalente (TEAC), le test de décoloration des cations radicalaires (ABTS) (Seeram et al., 2006), la méthode du paramètre antioxydant piégeant les radicaux totaux (TRAP) (Ghiselli et al., 1995), l'essai de réduction du pouvoir antioxydant ferrique (FRAP) (Benzie et Strain, 1999).

Deux articles de synthèse ont été publiés précédemment sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante (Chanda et Dave, 2009 ; Badarinath et al., 2010). Mais d'après l'étude de Alam et al., (2012), le test DPPH est la méthode la plus fréquemment utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*, en outre sa rapidité, sa simplicité et son faible coût par rapport à d'autres tests. D'autre part, le test de décoloration ABTS est applicable aux antioxydants hydrophiles et lipophiles (Alam et al., 2013).

Dans ce mémoire on a réalisé l'activité de réduction du DPPH pour définir le pouvoir anti-radicalaire de l'acide alpha lipoïque.

3. Etude *in vivo*

In vivo est une expression latine qualifiant des recherches pratiquées sur un organisme vivant (sur les animaux comme les rongeurs), par opposition à *in vitro*. Les études chez l'animal présentent une grande diversité dans le choix des espèces et des lignées, les modes d'administration des substances chimiques, les périodes d'exposition et le choix de l'espèce animale dans laquelle les études *in vivo* sont conduites est important. La plupart des travaux *in vivo* sont menés chez les rongeurs en particulier les rats des lignées Wistar à cause de leur similarité physiologique avec l'homme (*Howdeshell et al., 2008*). Le mode d'administration (gavage, voie intrapéritonéale, voie orale ...), la période d'administrations et la dose sont très importantes à déterminer avant l'étude expérimentale.

Plusieurs études expérimentales désignent les protocoles utilisés *in vivo* chez les rats et les souris pour induire une hépatotoxicité (*Ding et al., 2010 ; Wang et al., 2013 ; Yan et al., 2016 ; Mani et al., 2016*), et nous avons adopté dans ce mémoire un protocole d'induire l'hépatotoxicité chez la souris par l'éthanol.

A decorative border in a calligraphic style, featuring elegant flourishes and scrolls that frame the central text. The border is composed of thick black lines with intricate, flowing patterns at the corners and midpoints of each side.

Partie Pratique

A decorative border made of black calligraphic lines, featuring elegant flourishes and scrolls that frame the central text.

Chapitre 04

Matériel & Méthode

1. Etude *in silico* de l'acide alpha lipoïque

L'objectif de cette partie est de prédire l'activité hépatoprotectrice de l'AAL par la modélisation moléculaire (Technique d'amarrage moléculaire) et de présenter leur propriétés physicochimique, pharmacocinétique et toxicologique avec d'autres molécules de références par la méthode QSAR.

1.1. Etude théorique de l'activité hépatoprotectrice par l'amarrage moléculaire**1.1.1. Matériels****A. Microordinateurs**

Dans cette partie de travail nous avons utilisé deux ordinateurs :

- ✓ Laptop DELL, Windows 10, 64 bits, d'une Ram de 4 Go avec une carte graphique de 500 Go HD et processus Intel® Celeron® N4000 CPU @ 1.10 GHz ;
- ✓ Laptop ACER, Windows 10, 64 bits, d'une Ram de 6 Go avec une carte graphique de 500 Go HD et processus Pentium® Dual-core CPU T4400 @ 2.20 GHz.

B. Programmes

- ✓ Le programme AutoDock (1.5.6) pour prédire la conformation la plus favorable du ligand (AAL) au sein de son récepteur ;
- ✓ Le programme BIOVIA Discovery Studio 2020 pour la visualisation des structures et les résultats finals ;
- ✓ Le programme Open Babel (2.0.2) pour l'inter-conversion des données chimiques d'un format à un autre de divers types (pdb, mol2, sdf ... etc).

C. Ligands - Récepteurs

Dans l'étude d'amarrage nous avons utilisé deux molécules principales, le cytochrome P450 (CYT P450) et ADAM17 (*tableau 2*).

Tableau 2 : Macromolécules (récepteurs) et le ligand utilisés dans l'amarrage moléculaire

	<i>Nom</i>	<i>Structure</i>	<i>Base des données</i>
<i>Ligands</i>	R- AAL	C ₈ H ₁₄ O ₂ S ₂	PubChem : 6112
	Cytochrome P450	Une seule chaîne protéique	PDB : 6MJM
<i>Récepteurs (macromolécules)</i>	ADAM17 (Enzyme de conversion TNF-alpha)	Deux chaînes protéiques	PDB : 3kme

Les CYP P450 sont des hémoprotéines qui participent au métabolisme oxydatif de nombreux médicaments. En fonction de la structure de la protéine fixée à l'hème, différentes familles et sous-familles ont été identifiées chez l'homme. Chez l'homme, le CYT P450 3A4 est quantitativement le plus important et représente en moyenne 30 % du contenu hépatique en cytochromes, il est également présent au niveau intestinal. Il est impliqué dans le métabolisme de plus de 50 % des médicaments commercialisés. L'activité des CYP P450 peut être modifiée sous l'action de substances inductrices ou inhibitrices (*Taburet et Furlan, 2000 ; Hsu et Johnson, 2019*).

Le domaine 17 de la métallopeptidase ADAM (ADAM17), également appelé TACE (*tumorale- α -converting enzyme*) est une enzyme de 70 kDa qui appartient à la famille des protéines ADAM des désintégrines et des métalloprotéases. L'ADAM17 est censé être impliqué dans l'expression du TNF- α à la surface de la cellule et à l'intérieur des membranes intracellulaires du réseau trans-Golgien. L'ADAM17 est également censée jouer un rôle dans la libération d'une variété de cytokines ancrées à la membrane, des molécules d'adhésion cellulaire, des récepteurs, des ligands et des enzymes (*Black et al., 1997*).

1.1.2. Méthodes**A. Réalisation de la modélisation**

L'amarrage a été réalisé avec la molécule de l'AAL obtenus à partir de la base des données PubChem. Les macromolécules Cytochrome P450 et ADAM17 sont obtenues à partir de la base des données PROTEIN DATA BANK (*tableau 2*). Six étapes sont nécessaires (*Annexe 01*) :

- ✓ Préparation de l'accepteur ;
- ✓ Chargement du récepteur et du ligand ;
- ✓ Configuration des paramètres de l'AutoGrid ;
- ✓ Exécution de l'AutoGrid ;
- ✓ Exécution de l'AutoDock ;
- ✓ Analyse des résultats.

B. Calculs utilisés

- ✓ Test de fiabilité du programme AutoDock (Test RMSD) avec 20 molécules (*Annexe 02*) (*Kramer et al., 1999 ; Chikhi et Bensegueni, 2008*) ;
- ✓ L'amarrage moléculaire par le logiciel AutoDock de l'interaction de l'AAL avec les macromolécules Cytochrome P450 et ADAM17 et qui permet d'obtenir les paramètres de cette interaction à savoir, l'énergie libre de liaison ΔG et la constante de liaison K.

1.2. Etude théorique par méthode QSAR

1.2.1. Matériels

A. Microordinateur

Dans ce travail nous avons utilisé un laptop DELL, Windows 10, 64 bits, d'un Ram 4 Go avec une carte graphique 500 Go HD et processus Intel® Celeron® N4000 CPU @ 1.10 GHz.

B. Programmes

- ✓ Le programme Molsoft pour calculer les propriétés moléculaires et la ressemblance médicamenteuse ;
- ✓ Le programme Molinspiration pour prédiction de score de la bioactivité et les propriétés physicochimiques ;
- ✓ Le programme Osiris pour prédire les risques de toxicité ;
- ✓ Le programme SwissADME pour prédire la pharmacocinétique.

C. Molécules

Dans l'étude QSAR nous avons comparé l'AAL et sa forme réduite avec deux molécules de référence, l' α -tocophérol (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C) (*tableau 03*).

Tableau 3 : Molécules utilisées dans la méthode QSAR

	Nom	Structure	Base des donnés
Acide Alpha lipoïque	AAL	$C_8 H_{14} O_2 S_2$	PubChem : 6112
Acide dihydrolipoïque	ADHL	$C_8 H_{16} O_2 S_2$	PubChem : 421
α -tocophérol	Vit E	$C_{29} H_{50} O_2$	PubChem : 2116
Acide ascorbique	Vit C	$C_6 H_8 O_6$	PubChem : 54670067

1.2.2. Méthodes

A. Propriétés physicochimiques

- ✓ Le coefficient de partage est un paramètre important qui mesure l'hydrophobicité moléculaire (*Nguyen et al., 1999*) ;
- ✓ L'hydrosolubilité d'un composé affecte considérablement les caractéristiques de l'absorption et de la distribution ;
- ✓ La surface polaire est liée au potentiel de liaison hydrogène d'une molécule et est un bon indicateur des propriétés de transport de la molécule comme l'absorption intestinale, la biodisponibilité, la pénétration de la barrière hématoencéphalique, etc (*Bytheway et al., 2008*) ;
- ✓ Le Nombre des liaisons rotatives est un paramètre topologique simple qui mesure la flexibilité moléculaire et qui il est considéré comme un bon indicateur de biodisponibilité orale des médicaments.

B. Propriétés pharmacocinétiques

- ✓ Le score de bioactivité qui désigne la capacité d'une molécule d'interagir avec des récepteurs ou des inhibiteurs des protéases, des récepteurs couplés à la protéine G, des Modulateurs des canaux ioniques, des inhibiteurs de kinases ;
- ✓ La pharmacocinétique qui permette de prédire la cinétique d'une molécule comme l'absorption gastro-intestinale, le facteur de biodisponibilité, la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique.

C. Propriétés toxicologiques

- ✓ Toxicité mutagénique (MUT) ;
- ✓ Toxicité tumorigénique (TUMO) ;
- ✓ Irritation de muqueuses (IRRI) ;
- ✓ Reprotoxicité (REP).

2. Etude de l'activité antioxydante *in vitro* de l'AAL

L'activité antioxydante de l'AAL a été déterminée pour évaluer le pouvoir anti-radicalaire par le test de réduction du DPPH utilisant un radical libre relativement stable, le DPPH (diphényl picryl-hydrazyl). Ce test colorimétrique est basé sur la réduction par les antioxydants de l'échantillon à tester du radical DPPH de couleur violette en un composé de couleur jaune (Talbi *et al.*, 2015).

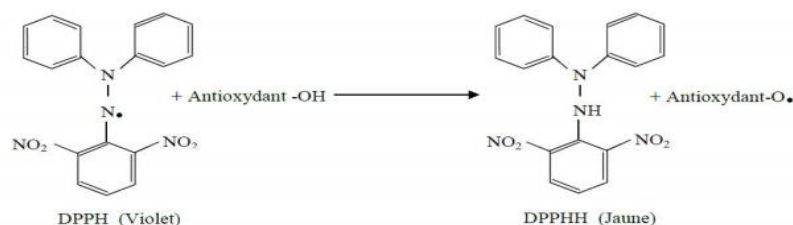


Figure 16 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Djahra, 2014)

Brièvement 750 µl d'une solution éthanolique du DPPH (0,2 M, pH = 6.6) a été mélangé avec 25 µl des différentes dilutions de la solution d'AAL (1 mg/ml). Après agitation, le mélange réactionnel est incubé pendant 1hr dans le noir. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc composé de 750 µl de la solution de DPPH et de 25 µl d'éthanol. Par ailleurs, les mêmes étapes sont effectuées en utilisant des molécules antioxydantes de référence, le vitamine E et le vitamine C.

Le pourcentage de réduction du DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \left[\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

Le calcul du pourcentage de l'activité antiradicalaire de toutes les dilutions, permet de déterminer la concentration d'inhibition moyenne (IC50) qui correspond à la concentration de l'antioxydant qui réduit 50 % de la quantité présente du DPPH. Cette valeur reflète l'efficacité de l'AAL et elle est exprimée en µg/ml.

3. Etude de l'activité hépatoprotecteur *in vivo*

3.1. Matériel biologique

Dans cette expérimentation on a utilisé 30 souris mâles, issus l'Institut Pasteur d'Alger, Algérie. Âgées de 08 semaines, pesant entre 25 g et 42 g. Les animaux sont répartis selon leur poids en cinq groupes expérimentaux de six souris chacun. Les souris passent une période d'adaptation de deux semaines aux conditions de l'animalerie et ont libre accès à l'eau et à la nourriture.

3.2. Protocole expérimentale

Le traitement des souris a suivi le protocole suivant (*Figure 18*) :

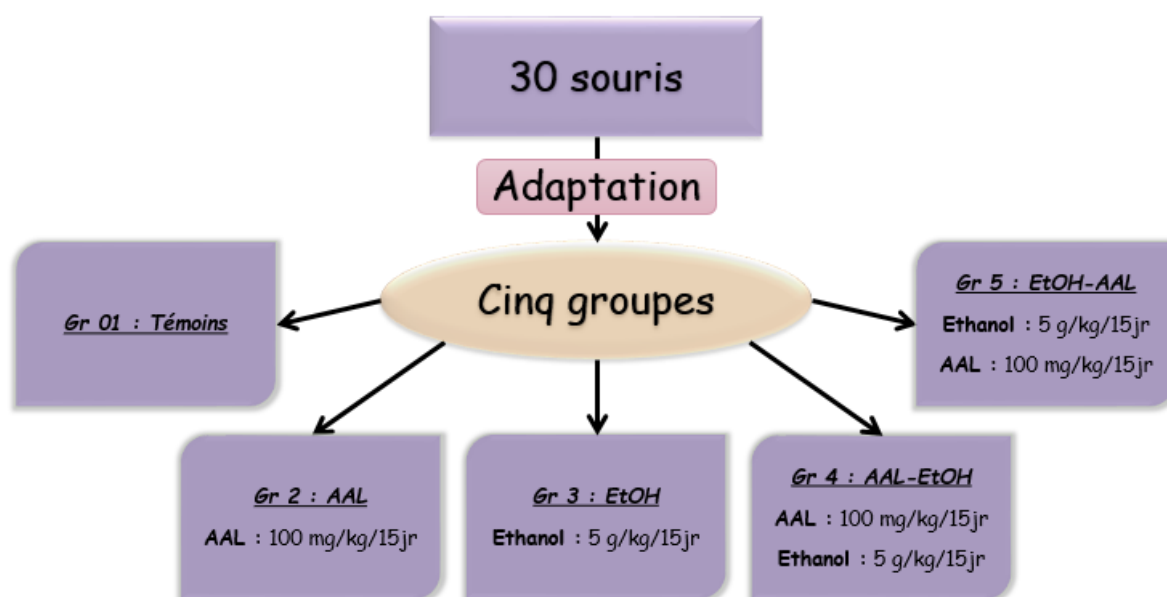


Figure 17 : Schéma illustrant le protocole expérimental

- ✓ **Groupe 01 (Témoin)** : Souris saines témoins ayant reçu un régime alimentaire normal pendant 15 jours ;
- ✓ **Groupe 02 (AAL)** : Souris saines traitées par l'AAL par injection intrapéritonéale (i.p), à raison de 100 mg/kg de poids corporel pendant 15 jours ;

- ✓ **Groupe 03 (EtOH)** : Souris traitées par l'éthanol à 50 ° *per os* à une dose de 5 mg/kg de poids corporel pendant 15 jours ;
- ✓ **Groupe 04 (AAL-EtOH)** : Souris traitées à titre préventifs, elles ont reçu d'abord l'AAL 100 mg/kg par voie i.p pendant 15 jours puis elles ont reçu l'éthanol une dose de 5 mg/kg *per os* du poids corporel pendant 15 jours ;
- ✓ **Groupe 05 (EtOH-AAL)** : Souris traitées par l'éthanol et par l'AAL, elles ont reçu d'abord l'éthanol une dose de 5 mg/kg *per os* pendant 15 jours. Ensuite, elles ont reçu l'AAL 100 mg/kg par i.p pendant 15 jours.

3.3. Sacrifice des animaux et prélèvements

À la fin de la période du traitement, les souris sont anesthésiées puis sacrifiées, le sang est prélevé ainsi que le foie (*Figure 18*).



Figure 18 : Paramètres calculées après le traitement

3.3.1. Prélèvement sanguin

Le sang prélevé par ponction cardiaque est récolté dans des tubes secs, centrifugé à 4000 tours/minute pendant 10 minutes, afin de récupérer le sérum pour le dosage des paramètres biochimiques indicateur de la fonction hépatique (ASAT, ALAT, γ -GT et PAL).

3.3.2. Prélèvement du foie

Une dissection abdominale longitudinale est effectuée pour le prélèvement du foie. Ce dernier est rincé avec une solution saline (NaCl) à 0,9 % puis pesés.

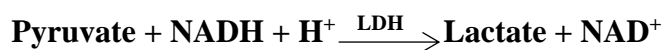
Un fragment de foie est fixé dans le formol 10 % afin de réaliser des coupes histologiques. Le reste est conservé au congélateur à -20°C pour le dosage des paramètres du stress oxydant (MDA et CAT).

3.4. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques est réalisé par des kits (*selon la fiche technique Spinreact*).

3.4.1. Dosage de l'activité d'alanine aminotransférase

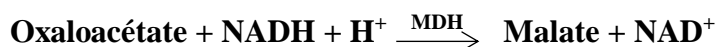
L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi transaminase glutamique pyruvique (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé d'alanine vers α -cétoglutarate formant le glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit au lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :



Selon la méthode de Karmen (1955) modifiée par Bergmeyer et al., (1976) le taux de variation d'absorbance à 340 nm / 405 nm causé par la conversion de NADH en NAD⁺ est directement proportionnel à la quantité de l'activité d'alanine aminotransférase (ALAT) présente dans l'échantillon (*Karmen, 1955 ; Bergmeyer et al., 1976*).

3.4.2. Dosage de l'activité d'aspartate aminotransférase

L'aspartate aminotransférase (ASAT), appelée aussi Transaminase glutamique oxaloacétique (TGO) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé de l'aspartate vers α -cétoglutarate formant le glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et NADH :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate aminotransférase (ASAT) dans l'échantillon à une longueur d'onde $\lambda = 340$ nm (*Young et al., 1972*).

3.4.3. Dosage de la phosphatase alcaline

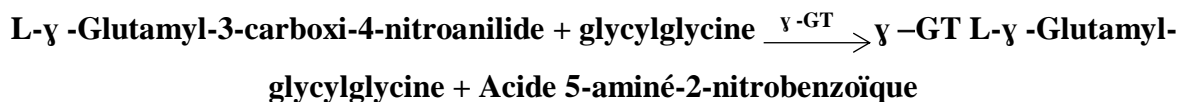
La phosphatase alcaline (PAL) catalyse le transfert du groupe phosphate depuis le p-nitrophénylphosphate (pNPP) vers le 2-amino-méthyle-1-propanol en libérant du p-nitrophénol et du phosphate, selon la réaction suivante :



La vitesse de formation du p-Nitrophénol déterminée de manière photométrique est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé.

3.4.5. Dosage de la gamma - glutamyl transférase

La gamma - glutamyl transférase (γ -GT) catalyse le transfert d'un groupe γ - glutamyl de la γ - glutamyl-p nitroanillide au dipeptide accepteur glycyglycine, selon la réaction suivante :



La vitesse de formation de l'acide 5-aminé-2-nitrobenzoïque déterminé par photométrie est proportionnelle à la concentration catalytique de γ -GT dans l'échantillon testé

3.5. Dosage des paramètres du stress oxydant

3.5.1. Préparation de l'homogénat

Brièvement, 500 mg de foie ont été broyé et homogénéisé dans le tampon phosphate (0.1M, pH = 7.4) à l'aide d'un homogénéisateur (Ultra-Turax) pendant 1 minute à 4 °C. L'homogénat est centrifugé à 4000 tours/min à 4°C pendant 10 minutes. Le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs pour le dosage de malondialdéhyde (MDA). Une deuxième centrifugation à 10000 tours/min à 4 C° pendant 30 min est nécessaire pour le dosage de CAT.

3.5.2. Dosage du malondialdéhyde

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'Ohakawa et al., (1979) basée sur la formation d'un complexe de couleur rose absorbant à 530 nm, résultat de la condensation de MDA en milieu acide et à chaud (100°C) avec l'acide thiobarbiturique (TBA) (*Ohkawa et al., 1979*).

Brièvement, Pour le dosage du MDA, 0.5 ml d'homogénat sont ajoutés à un mélange de 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA à 20 %) et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA à 0,67 %). Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 15 minutes. Après refroidissement, 4 ml du n-butanol est ajouté puis suivi par une centrifugation à 3000 t/min pendant 15 minutes.

L'absorbance est mesurée à 532 nm. La quantité du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire ($\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$) et les valeurs sont exprimées en nmole de MDA formé par millilitre du plasma ou par gramme du tissu.

La concentration de MDA est calculée selon la formule suivante (*loi de Beer Lambert*) :

$$C \text{ (nmole/mg protéines)} = \frac{DO \times 10^6}{E \times L \times X \times Fd}$$

C : Concentration du MDA en nmole/mg de protéines ;

DO : Densité optique lue à 532 nm ;

E : Coefficient d'extinction molaire du MDA, $\epsilon = 1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;

L : Longueur du trajet optique, $L = 1 \text{ cm}$;

X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml) ;

Fd : Facteur de dilution.

3.5.3. Dosage de l'activité de la catalase

L'activité enzymatique de la catalase est mesurée selon la méthode de Aebi (1984). Le principe de cette méthode consiste à mesurer la variation de l'absorbance à 240 nm consécutive à la dismutation du H_2O_2 en faisant réagir dans le tampon phosphate (100 mM) et H_2O_2 (500 mM) pendant 1 minutes à pH 7.4 et à une température d'incubation de 25°C (Aebi, 1984).

Brièvement, 983,5 μL de H_2O_2 sont ajoutés à 16,5 μL de l'homogénat. La variation de l'absorbance est suivie pendant 30 s à 240 nm. L'activité enzymatique de la catalase est exprimée en micromoles de H_2O_2 par minute par milligramme de protéines ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}$) selon la formule suivante :

$$\text{Catalase } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg protéines}) = \frac{\Delta DO/\text{min}}{\epsilon \times X \times L \times 0.02}$$

ϵ : Coefficient d'extinction moléculaire de l'eau oxygénée, $\epsilon \text{ H}_2\text{O}_2 = 0.043 \text{ Mm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;

L : Trajet optique de la cuve, $L = 1 \text{ cm}$;

X : Concentration de protéines en mg/ml.

3.6. Etude histologique

Afin de réaliser les coupes histologiques, la technique classique de Hould (1984) a été effectuée (Hould, 1984). Elle comporte les étapes suivantes :

3.6.1. Fixation

La fixation est essentielle car elle permet la conservation et la stabilisation des structures cellulaires et tissulaires, elle basée sur l'immersion dans le formol 10 % pendant 48 h. Puis le foie est coupé à l'aide d'une lame bistouri afin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1 à 2 cm² et une épaisseur proche de 1.5 mm. Les pièces obtenues sont alors mises dans des cassettes spéciales à parois tournées qui permettent le passage de liquide.

3.6.2. Déshydratation

La déshydratation des prélèvements est réalisée par immersion successive dans des bains d'éthanol à des concentrations croissantes (70°, 96° et 100°) pour des durées adaptées 2 h pour chaque bain, puis dans un bain de xylène.

3.6.3. Inclusion

Après déshydratation les échantillons sont plongés dans des bains de paraffine liquide par passage dans plusieurs bains, puis à l'aide d'une pince métallique, chaque pièce est extraite du dernier bain d'imprégnation versée rapidement entre des barres adaptables à leurs dimensions dites barres de Leuckart, qui contiennent au fond de la paraffine. Après refroidissement des blocs de paraffine durs sont formés, à l'intérieur desquels la pièce prélevée est incluse et orientée selon la coupe choisie.

Cette opération est réalisée dans des appareils dits à inclusion renfermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.

3.6.4. Réalisation des coupes

La réalisation des coupes de 2 à 5 μm d'épaisseur des blocs de paraffine sont faites grâce à un microtome. Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porte-objet, dépliées et fixés sur la lame par l'utilisation de l'eau gélative chauffée. Ensuite, les lames sont séchées dans une étuve 100°C pendant 1h.

3.6.5. Coloration et montage

La coloration est faite selon la techniques à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine), les lames sont plongées et laissées dans des bains successifs selon les étapes suivantes :

- ✓ Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distillée ;
- ✓ Immerger dans un bain d'Hématoxyline de Harris pendant 15 minutes qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux) ;
- ✓ Différencier les coupes dans l'alcool acide de 1 à 2 plongées ;
- ✓ Déposer ensuite les lames dans un bain d'eau du robinet ;
- ✓ Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale ;
- ✓ Immerger dans un bain d'Eosine de 15 secondes à 2 minutes qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme) ;
- ✓ Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet, éclaircir et monter les lames à Eukitt ;
- ✓ Enfin, passer à l'observation au microscope photonique, lequel est équipé d'un appareil photographique qui permet la réalisation des photographies.

3.7. Étude statistique

Les résultats ont été représentés sous forme de moyennes avec leur écart-type (Moy \pm écart-type). Les analyses statistiques ont été effectuées par application du test « t » de Student basant sur la comparaison des moyennes deux à deux.



Chapitre 05

Résultats

& Interprétations

Après avoir établi le protocole expérimental pour tester l'effet de l'AAL, l'expérimentation *in vitro* ainsi que le traitement des souris suivant le protocole ont été commencés. Mais, suite à la pandémie du Covid 19 durant laquelle un confinement national total a été appliqué, les instructions du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique relatives à l'arrêt total des travaux pratiques des projets de fin d'études avait pour but de diminuer la propagation du virus au sein de l'université et de toute la communauté. Nous avons été obligés d'interrompre notre protocole expérimental et de se contenter uniquement d'exposer les résultats de l'étude *in silico* ainsi que de décrire notre démarche expérimentale concernat l'étude *in vitro* et *in vivo*.

1. Etude de l'activité hépatoprotectrice par amarrage moléculaire

1.1. Test RMSD

La prédiction du positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur calculé par logiciel AutoDock est effectuée par le test RMSD. Elle est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 \AA (*Chikhi et Bensegueni, 2008*).

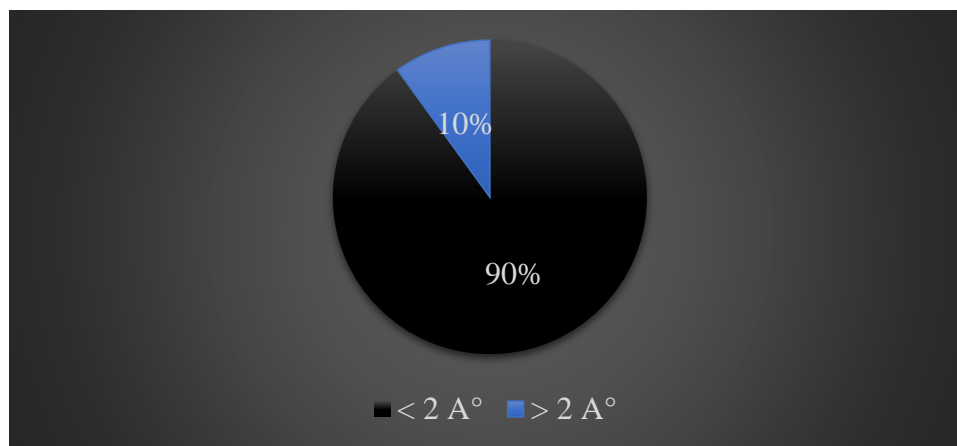


Figure 19 : Résultats de test RMSD par AutoDock

Dans la présente figure (*Figure 19*), le résultat du test est donné en pourcentage (%), à deux intervalles de RMSD. La figure montre que 90 % des valeurs RMSD sont inférieures à 2 \AA et que seulement 10 % des résultats sont supérieurs à 2 \AA . Ces résultats montrent que le programme AutoDock est un outil de modélisation par docking moléculaire hautement performant.

1.2. Résultats d'amarrage moléculaire

L'amarrage moléculaire par le logiciel AutoDock de l'interaction de l'AAL avec CYT P450 et ADAM 17 a permis d'obtenir les paramètres de cette interaction à savoir l'énergie libre de liaison ΔG et la constante de liaison K .

1.2.1. Interaction de AAL avec CYT P450

Nous avons obtenus dix conformations d'interaction de AAL - CYT P450 comme suit :

Tableau 4 : Différentes conformations de l'interaction AAL-CYT P450 et leurs énergies

Conformation	ΔG (Kcal.mol ⁻¹)	K (μM)
1	-8.16	1.04
2	-8.08	1.19
3	-7.96	1.46
4	-7.95	1.48
5	-7.88	1.66
6	-7.85	1.75
7	-7.85	1.78
8	-7.80	1.90
9	-7.77	2.00
10	-7.47	3.34

Les simulations d'accueils moléculaires ont été utilisées pour voir les types des liaisons des inhibiteurs étudiés dans le site actif de la CYT P450 (*figure 20*).

Nous avons mesuré les distances entre l'AAL et les chaînes latérales des AA qui forment le site actif et éventuellement d'autres groupements de la chaîne principale de l'enzyme responsable de l'interaction (ce qui peut provoquer une conformation favorable à un niveau élevé de complémentarité résultant en une activité cohérente).

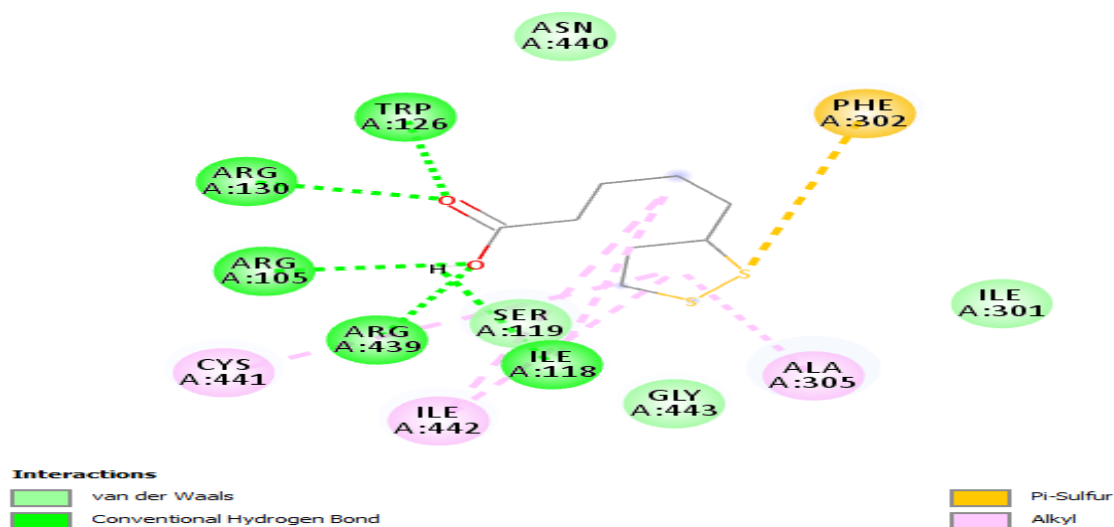


Figure 20 : Structure 2D de complexe AAL - CYT P450

L'AAL se lie avec le CYT P450 en formant cinq liaisons hydrogènes (figure 20), la première entre l'arginine 105 et l'oxygène de groupement hydroxyle de l'AAL, la deuxième est entre l'arginine 439 et l'oxygène de groupement hydroxyle de l'AAL. La troisième est entre le tryptophane 126 et la double liaison de l'AAL, la quatrième est entre l'arginine 130 avec la double liaison d'oxygène de l'AAL et la cinquième liaison de l'Isoleucine 118 avec l'hydrogène de groupement hydroxyle de l'AAL.

Les distances mesurées des liaisons hydrogènes varient entre 1.80 Å et 2.15 Å (tableau 05). Le complexe est stabilisé par 3 autres types d'interaction, on trouve l'interaction Van der Waals (Serine 119, glycine 443 et isoleucine 301 et asparagine 440), l'interaction Pi sulfure (phenylalanine 302) et l'interaction hydrophobe (alanine 305, isoleucine 445 et cystine 442).

Tableau 5 : Distances des liaisons hydrogènes entre les atomes de CYT P450 et de l'AAL impliqués dans ces liaisons

Liaison	Atome	Distance
1	Chaîne protéique A : Arg 105 avec O	1.90
2	Chaîne protéique A : Arg 439 avec O	1.92
3	Chaîne protéique A : Trp 126 avec double liaison O	1.80
4	Chaîne protéique A : Arg 130 avec double liaison O	2.15
5	Chaîne protéique A : Ile 118 avec H	2.12

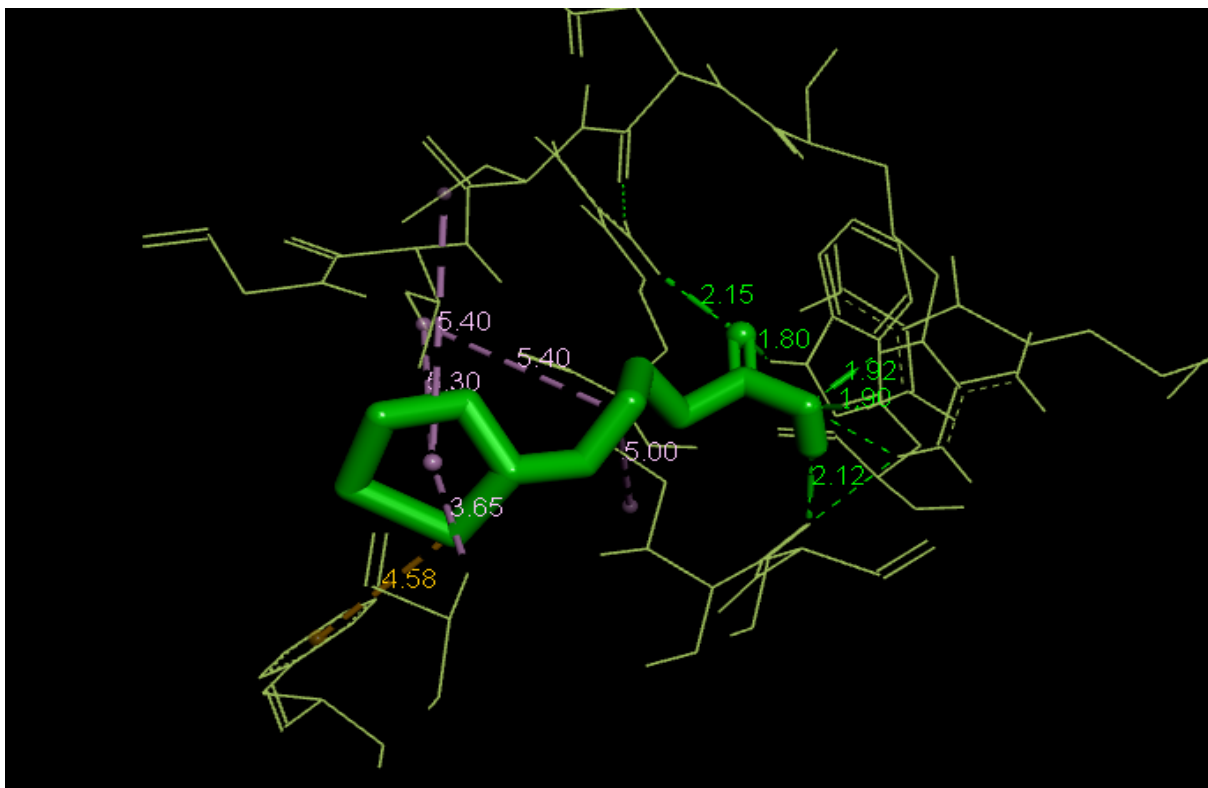


Figure 21 : Structure 3D de complexe AAL - CYT P450

D'après ces résultats, il est bien clair que l'AAL est bien inséré dans le CYT P450 par des liaisons hydrogènes fortes de type covalente, en accord avec la littérature qui classées les liaisons hydrogènes de distance (1.2 \AA à 2.5 \AA) comme des liaisons fortes de type covalente (Renvez 2010). Ainsi le processus de l'interaction exoénergétique qui va libérer l'énergie caractérise l'interaction spontanées réversible de l'AAL - CYT P450 où l'énergie libre de gipps est négative (Cooper, 2000). Et, comme le CYT P450 est le siège de métabolisme de l'éthanol, l'interaction avec l'AAL à un impact positif sur le développement d'une hépatite alcoolique (Silvain et Chagneau-Derrode, 2006).

1.2.2. Interaction de l'AAL avec ADAM 17

Nous avons obtenus dix conformations d'interaction de l'AAL - ADAM17 comme suit (tableau 06) :

Tableau 6 : Différentes conformations de l'interaction AAL-ADAM17 et leurs énergies

Conformation	ΔG (Kcal.mol ⁻¹)	K (uM)
1	-5.86	50.44
2	-5.76	59.65
3	-5.67	69.76
4	-5.50	92.99
5	-5.46	99.61
6	-5.43	104.83
7	-5.40	110.56
8	-5.37	115.26
9	-5.35	118.97
10	-5.33	122.99

Les simulations d'accueils moléculaire par logiciel eDiscovery ont été utilisées pour voir les types des liaisons (Figure 22).

Nous avons mesuré les distances entre AAL et les chaînes latérales d'AA qui forment le site actif et éventuellement d'autres groupes de la chaîne principale de l'enzyme responsable de l'interaction.

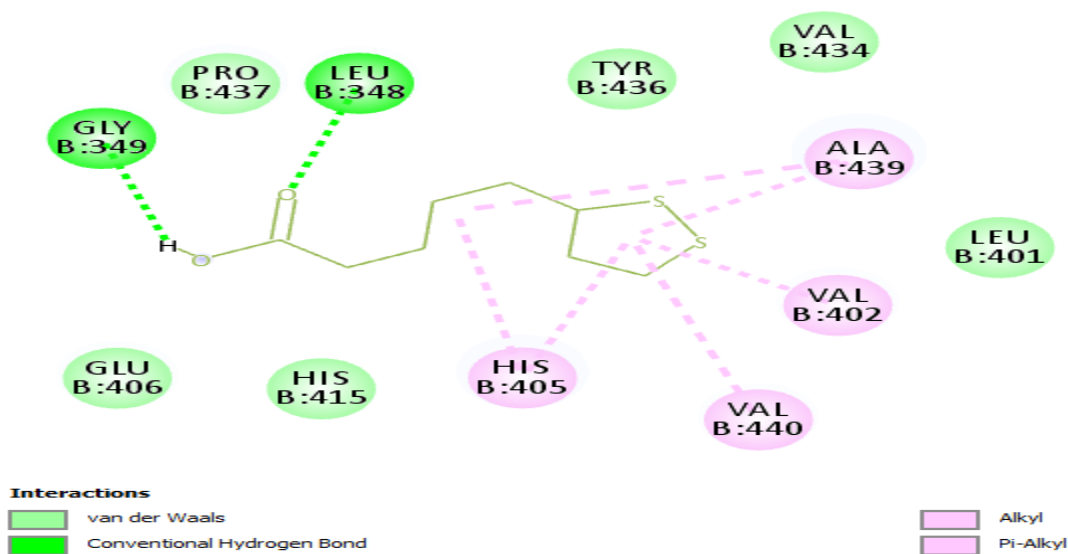


Figure 22 : Structure 2D de complexe AAL – ADAM17

L'AAL se lie avec ADAM17 en formant deux liaisons hydrogènes (*figure 22*), la première est entre la leucine 348 de la chaîne A et l'hydrogène de groupement hydroxyle de l'AAL et la deuxième entre le glycine 349 avec la double liaison oxygène de l'AAL. Le complexe est stabilisé par des interactions hydrophobes au niveau des AA alanine 439, valine 402, valine 440 et histidine 405. Ils impliquent l'interaction Van der Waals au niveau des AA proline 437, Glutamate 406 et histidine 415. Les distances mesurées des liaisons hydrogènes varient entre 1.90 Å et 1.99 Å (*tableau 07*).

Tableau 7 : Distances des liaisons hydrogènes, et les atomes de ADAM17 et de l'AAL impliqués dans ces liaisons

Liaison	Atome	Distance
1	Chaîne protéique B : gly 349 avec H de l'AAL	1.90
2	Chaîne protéique A : leu 348 avec double liaison O	1.99

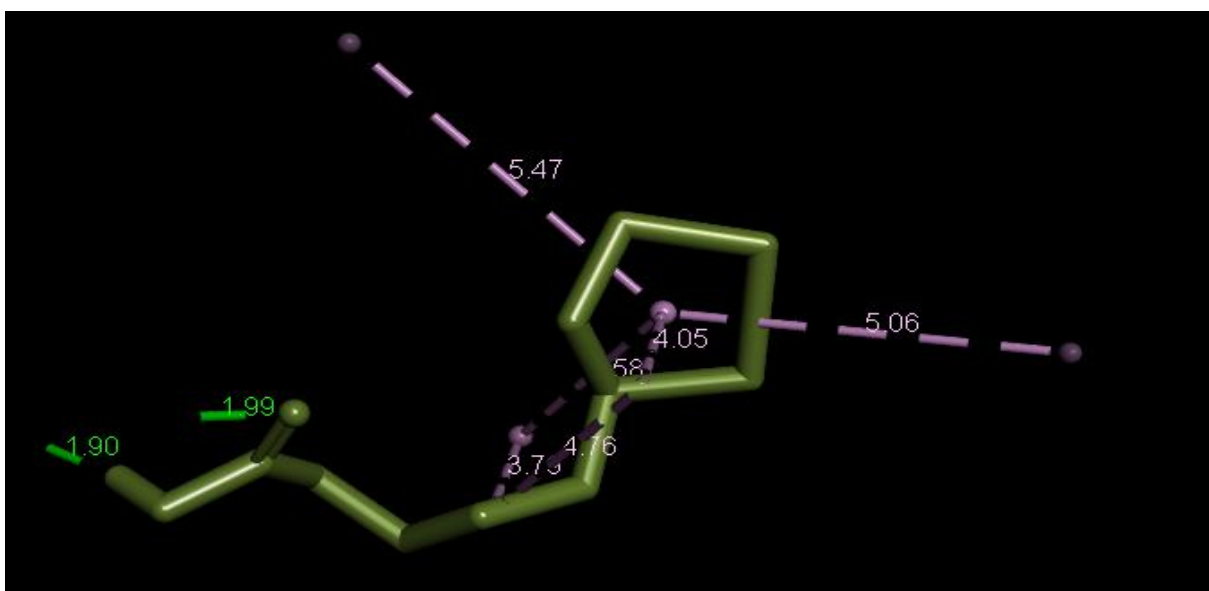


Figure 23 : Structure 3D de complexe AAL – ADAM17

D'après ces résultats, il est bien clair que l'AAL est modérément inséré dans le ADAM 17 par des liaisons hydrogènes fortes de type covalente, en accord avec la littérature qui classées les liaisons hydrogènes de distance (1.2 Å à 2.5 Å) comme des liaisons fortes de type covalente (*Renvez, 2010*). Ainsi l'interaction produit l'énergie libre inférieure à 0 ce qui montre que l'interaction de l'AAL avec ADAM17 se fait spontanément. Ainsi le processus inflammatoire produire au cours de l'hépatite alcoolique peut-être influencé par cette interaction.

1.2. Etude théorique par méthode QSAR

Dans ce travail, nous avons réalisé une étude théorique des propriétés QSAR des molécules AAL, ADHL, Vit E et Vit C. Pour cela, on a utilisé les logiciels on ligne (*molsoft*, *molinspiration*, *Osiris* et *SwissADME*) pour calculé les différentes propriétés physicochimique, pharmacocinétique et toxicologique.

1.2.1. Propriétés physicochimiques

Les résultats concernant les propriétés physico-chimiques des molécules sont représentés dans le tableau sous-dessous (coefficient de partage log P, hydrosolubilité log S, surface polaire topologique TPSA et nombre de liaison rotative Nb Rotat) (*tableau 08*).

Tableau 8 : Propriétés physicochimiques des molécules

<i>Molécules</i>	<i>Log P</i>	<i>Log S</i>	<i>TPSA</i>	<i>Nb Rotat</i>
<i>Acide lipoïque</i>	2.25	-1.96	37.30	5
<i>Acide dihydrolipoïque</i>	2.01	-1.90	37.30	7
<i>α-tocophérol</i>	9.04	-5.89	29.46	12
<i>Acide ascorbique</i>	-1.40	-0.05	107.22	2

Après l'utilisation de deux logiciels molsoft et molinspiration, plusieurs propriétés physico-chimiques sont apparues. Ce qui concerne les coefficients de partage, les molécules AAL, DHAL et vit E sont supérieur à 0 ce qui montre que c'est trois molécules sont lipophiles mais pour le vitamine c le coefficient de partage est inférieur à 0 cela indique la lipophobicit  de ce dernier. Il est très difficile de faire des comparaisons entre AAL et Vit E mais nous pouvons dire qu'ils ont le même caractère (lipophile).

En ce qui concerne la solubilité, l'AAL possède une valeur inférieure par rapport à la vit E, mais tant que la valeur est négative pour les deux forme oxydé (AAL) et réduite (ADHL) donc les deux molécules sont insolubles dans l'eau. Pour la surface polaire topologique les valeurs sont inférieures aux limites (90 à) (*Hitchcock et Pennington, 2006*), ce qui permet de prédire la bonne capacité de l'AAL   pénétrer la cellule et même la barrière

hématoencéphalique. En addition, l'AAL comporte un nombre bien défini des liaisons rotatives ce qui démontre la bonne flexibilité mais qui reste inférieure à la vit E et l'ADHL.

1.2.2. Propriétés pharmacocinétiques

A. Prédiction du score de bioactivité

Pour des cibles comme les récepteurs couplés à la protéine G (GPCR), les inhibiteurs des kinases (IK), les inhibiteurs des protéases (IP), modulateurs des canaux ioniques (MCI), les ligands des récepteurs nucléaires (LRN) et l'activité inhibitrice des enzymes (IE), les scores de bioactivité des composés ont été prédits (*tableau 09*). Généralement, un score de bioactivité supérieur indique que le composé est biologiquement plus actif. Si les valeurs de bioactivité des composés sont situées entre -0.50 et 0.00 dans ce cas ils sont modérément actives, et si le score est inférieur à -0.50 on suppose que le composé est biologiquement inactif.

Tableau 9 : Les résultats des scores de bioactivité prédites par Molinspiration

<i>Molécules</i>	<i>GPCR</i>	<i>MCI</i>	<i>IK</i>	<i>LRN</i>	<i>IP</i>	<i>IE</i>
<i>Acide lipoïque</i>	0.23	-0.50	-0.74	0.22	0.57	1.15
<i>Acide dihydrolipoïque</i>	-0.48	-0.40	-1.01	00	0.65	0.61
<i>α-tocophérol</i>	0.25	0.14	-0.21	0.41	0.28	0.24
<i>Acide ascorbique</i>	-0.53	-0.24	-1.09	-1.01	-0.81	0.20

A partir des résultats obtenus par le logiciel molinspiration, il est clair que les molécules étudiées sont biologiquement actives, nous avons observé que la forme oxydée de l'AAL est active, au même titre que la vitamine E, par rapport à sa forme réduite qui est inactive au niveau du récepteur couplé au protéine G. En addition, l'AAL et le DHLA sont très actifs et ont une très bonne action sur le récepteur nucléaire, inhibiteur de protéase et inhibiteur des enzymes comme celle de la vit E. Mais ces deux formes sont inactives au niveau des canaux ioniques et les inhibiteurs des kinases contrairement à la vit E.

D'après ces résultats, l'AAL, au niveau cellulaire, est capable d'interagir avec différentes cibles enzymatiques qui peut être présentes au niveau de la membrane cytoplasmique, le

membrane nucléaire et cytoplasme. Cela peut être indiqué l'effet de l'AAL sur la cellule hépatocytaire et plus lorsque le foie subit une hépatotoxicité.

B. Prédiction de la pharmacocinétique

A partir du logiciel SwissADME, on a prédit les propriétés pharmacocinétiques des molécules (*tableau 10*).

Tableau 10 : Résultats des propriétés pharmacocinétiques calculées par le logiciel SwissADME

Molécules	Absorption gastro-intestinale	Barrière hémato-encéphalique	Score de biodisponibilité
<i>Acide lipoïque</i>	Haute	Non	0.56
<i>Acide dihydrolipoïque</i>	Haute	Non	0.56
<i>α-tocophérol</i>	Faible	Non	0.55
<i>Acide ascorbique</i>	Haute	Non	0.56

Nous observons à partir de ces résultats obtenus par le logiciel SwissADME que, toutes les molécules sauf la vit E ont une bonne absorption gastro-intestinale, un bon score de biodisponibilité. Toutes les molécules ne pénètrent pas la barrière hémato-encéphalique.

1.2.3. Propriétés toxicologiques

Dans cette partie, nous avons utilisé le logiciel de prédire de toxicité (*OSIRIS*) pour calculer les risques de toxicité également les risques mutagènes (MUT), tumorigènes (TUMO), les risques d'irritations de muqueuse (IRRI) et la reprotoxicité (*tableau 11*).

Tableau 11 : Risques de toxicité calculés par Osiris

Molécules	MUT	TUMO	IRRI	REP
<i>Acide lipoïque</i>	Vert	Vert	Vert	Vert
<i>Acide dihydrolipoïque</i>	Vert	Vert	Vert	Vert
<i>Alpha tocophérol</i>	Vert	Vert	Vert	Vert
<i>Acide ascorbique</i>	Vert	Vert	Vert	Vert

L'analyse des risques de toxicité a révélé que l'AAL, l'ADHL, la vit E et la vit C sont non mutagènes, non tumorigènes, non irritants et sans effets nocifs sur la reproduction des mammifères. Certaines études expérimentales faites sur l'AAL ont abordé de tester sa toxicité sur quelques organismes vivants, mais tous ces tests étaient négatifs. Cela indique l'innocuité de cette substance.

A decorative border made of black calligraphic lines. It consists of four large, ornate flourishes at the corners, each with multiple loops and elegant curves. These are connected by straight horizontal and vertical lines, with small, delicate scrolls at the corners where the straight lines meet.

Discussion

DISCUSSION

Notre étude a pour but d'évaluer l'activité hépatoprotectrice de l'acide alpha lipoïque, qui a été ; pour la première fois, isolé et identifié chimiquement en 1951 (*Reed et al., 1951*).

Dans cette partie nous allons relier quatre éléments importants, l'AAL (son métabolisme avec leur propriétés physico-chimiques, pharmacologiques et antioxydantes), la fonction hépatique, le stress oxydant et le processus inflammatoire qui se produisent lors de l'hépatotoxicité induite par l'éthanol. Ces quatre éléments sont très importants et doivent être mises en évidence par différents méthodes d'études, *in silico* pour confirmer l'interaction théorique entre l'AAL avec le CYT P450 et avec ADAM17 ; *in vitro*, par le test de réduction du DPPH et enfin, l'étude *in vivo* pour tester l'efficacité biologique de l'AAL par injection intrapéritonéale chez la souris après un traitement toxique par l'éthanol. Mais à cause de propagation de covid 19 et l'arrêt des travaux pratique, nous ferons une lecture critique des articles décrivant des études *in vivo* sur la même thématique et nous discuterons les résultats de la partie *in silico*.

In silico, l'interaction entre l'AAL avec le CYT P450 se fait d'une façon spontanée traduite par la valeur de l'énergie libre qui est égale à - 8.16 kcal/mol. En effet, l'AAL se lie au CYT P450 en formant cinq liaisons hydrogènes et une liaison sulfurique qui empêche leur action (inhibition enzymatique). Cette inhibition enzymatique est appuyée par une observation expérimentale suggérant une diminution de NADPH - CYT dans le coeur, le foie et les poumons après une traitement d'AAL (*Dudka, 2006*). D'autre étude menée par Slepneva et al., (1995) ont montré que l'inhibition efficace et réversible de CYT hépatique par l'AAL chez les rats (*Slepneva et al., 1995*).

L'interaction de l'AAL avec l'ADAM17 est évidente car elle révèle une bonne valeur d'énergie libre avec deux liaisons hydrogènes. L'ADAM17 est un bon régulateur du processus inflammatoire provoquant la synthèse des cytokines pro-inflammatoires.

Certaines études comme celle de Lee et al., (2020) montre une inhibition significative de cytokine pro-inflammatoire et du mécanisme de l'inflammation attribuée à un traitement de 25 µM de l'AAL et 25 µM de l'acide linoléique (*Lee et al., 2020*). En outre, l'AAL peut inhibe d'une façon dose dépendante le NF-κB (*Zhang et Frei, 2001*). D'après l'étude de Wawro et al., (2019), il a été révélé la relation entre l'expression du NF-κB et celle de l'ADAM17, mais

DISCUSSION

l'interaction de l'ADAM 17 avec l'AAL reste vague expérimentalement par rapport à sa relation avec TNF α ou NF- κ B (*Wawro et al., 2019*).

Les calculs QSAR montrent que l'AAL pourrait être un bon candidat pour interagir avec les différentes cibles enzymatiques notamment le ligand GPCR, le ligand récepteur nucléaire, l'inhibiteur de protéase et l'inhibiteur d'enzyme. Expérimentalement, Jameel et al., (2006) ont prouvé que l'AAL inhibe la phospholipase A2 (PLA2) et suggèrent que l'AAL peut agir comme un régulateur endogène de l'activité enzymatique PLA2 et supprimer les réactions inflammatoires (*Jameel et al., 2006*). En addition, L'AAL stimule la production d'AMPc via des mécanismes dépendants et indépendants des récepteurs couplés aux protéines G (*Salinthonne et al., 2011*).

Les propriétés pharmacocinétiques de l'AAL révélées dans cette étude par la méthode QSAR montre la bonne absorption par voie orale suivi d'un bon processus de distribution. Cela correspond à l'étude menée par Teichert et al., (2003) qui montre que l'excrétion biliaire des quelques produits de dégradation électrochimique de l'AAL inactifs indique l'utilisation complète de l'AAL comme substrat principal dans le métabolisme endogène (*Teichert et al., 2003*). L'AAL n'a pas présenté de toxicités entravant son effet biologique, ce qui peut encourager son utilisation pharmacologique.

Plusieurs études *in vitro* menées sur l'AAL comme un fort antioxydant universel (*Packer et al., 1995*). Zhao et Liu., (2011) ont comparé la capacité de l'AAL pour éliminer les ERO avec sa forme réduite, ADHL. Ils ont montré que dans les mêmes conditions, l'AAL et l'ADHL ont une capacité forte de piéger les radicaux libres où l'ADHL présente un taux élevé que celui de l'AAL (*Zhao et Liu, 2011*). Dans le système biologique l'AAL est réduit en ADHL, qui s'avère être un antioxydant plus puissant cela explique le processus pair redox entre les deux forme oxydé et réduite (*Bast et Haenen, 2002 ; Madawala et al., 2011*).

Un nombre important d'études montrent que l'AAL et sa forme réduite, l'ADHL, récupèrent directement les ERO et protègent les cellules, cela favorisent une amélioration durable de la résistance cellulaire aux pathologies où le stress oxydatif est impliqué ce qui ne serait pas le cas si l'AAL agissent uniquement comme un piègeur d'ERO transitoire (*Suzuki et*

DISCUSSION

al., 1994 ; Matsugo et al., 1995 ; Packer et al., 1996 ; Petersen Shay et al., 2008 ; Külkamp et al., 2011 ; Rochette et al., 2015).

L'exposition à l'éthanol entraîne une toxicité hépatique sur quatre degrés qui désignent les types pathologiques de l'HA. Cette exposition entraîne la peroxydation des acides gras polyinsaturés et la dégradation des phospholipidiques en causant des dommages cellulaires (*Park, 1990 ; Lieber et Decarli, 1991*). Le suivi de l'altération causé par l'éthanol est effectué à travers les marqueurs du stress oxydant tissulaire, le bilan hépatique et l'étude histologique. Par ailleurs, l'hyperperméabilité digestive (syndrome de l'intestin perméable) produite par l'éthanol permet aux bactéries, aux toxines, aux aliments non digérés et à toute autre particule indésirable de franchir la paroi intestinale intérieure et, ce faisant, d'entraîner toute une gamme des symptômes indésirables comme la fatigue, des sensibilités alimentaires, des troubles digestifs et des perturbations psychologiques (*Engen et al., 2015*). Ainsi, contribue à déclencher le processus inflammatoire (*Gao et Bataller, 2011*).

D'après Palma et al., (2019) l'exposition à l'éthanol réduit modérément la viabilité cellulaire et affecte gravement la croissance cellulaire. Un traitement plus long montre une faible augmentation significative de l'apoptose (*Palma et al., 2019*). Ils ont suggéré que la dynamique mitochondriale joue un rôle essentiel dans la maladie hépatique liée à l'alcool, ce qui est soutenu par d'autres études qui ont proposé un remodelage hépatomitochondriale (*Das et al., 2012*).

Les altérations mitochondriales liées à l'alcool diminuent le nombre des électrons pris en charge par la chaîne respiratoire ce qui favorise la formation des radicaux libres et provoque le phénomène de stress oxydatif (*Edeas et al., 2010*).

Song et ses collaborateurs (2006) ont traité des souris avec une dose de 5 g/kg toute les 12 heures pour un total de 3 doses et sont arrivés à conclure que l'administration aiguë de l'éthanol a provoqué une stéatose microvésiculaire prédominante avec une nécrose légère et une élévation de l'activité des enzymes sériques ALAT et ASAT. Ainsi qu'une amélioration de la LIPOX due à la formation des radicaux libres avec une augmentation aiguë de la production hépatique de TNF- α (*Murphy et al., 1993 ; Song et al., 2006*). L'amélioration des taux des enzymes sériques favorisent la lyse cellulaire (*Filliol et al., 2017*). Les travaux de Lieber (1990), Habib-

DISCUSSION

Abdelrahmane et al., (2011) qui ont montré que l'éthanol entraîne une perturbation liée à la formation de fibrose hépatique, augmentation des taux des enzymes sériques et provoque un stress oxydatif (*Lieber, 1990 ; Habib abdelRehman et al., 2011;*).

Les agents toxiques sont différents mais ils provoquent la même perturbation au niveau hépatique, quel que soit l'agent toxique (Ethanol, CCl₄, Cadmium et Paracétamol) le processus inflammatoire, la fibrose hépatique, la perturbation fonctionnelle et la manifestation du stress oxydatif sont toujours présents (*Bouchentouf et al., 2011 ; Ferguson et al., 2013 ; Serairi et al., 2014 ; Kehili et al., 2017*).

De nombreuses études révèlent la capacité de l'AAL à diminuer la LIPOX qui favorisent le phénomène du stress oxydant liée à plusieurs agents toxiques (*Sivaprasad et al., 2002 ; Malarkodi, 2003*). Les résultats obtenus d'après plusieurs travaux supportent l'hypothèse que le stress oxydatif qui jouent un rôle important dans l'hépatotoxicité alcoolique, diminue après un simple traitement avec l'AAL.

Donc notre objectif est de discuter le processus utilisé par AAL pour diminué la physiopathologie d'HA. D'après Pari et Murugavel (2004), l'AAL a eu un meilleur effet protecteur contre l'hépatotoxicité induite par chloroquine par rapport à la sylimarine qui est utilisé comme une référence. L'AAL a pu maintenir les antioxydants non enzymatiques (Vitamine C, Vitamine E) à un niveau proche de la normale chez les rats traités par la chloroquine (*Pari et Murugavel, 2004*).

L'AAL stimule la biosynthèse de GSH en favorisent le transport de la cystéine (*Packer et al., 1997*). De plus l'AAL a été signalé pour reconstituer la vitamine C le glutathion et le vit E via le cycle redox (*Arivazhagan et al., 2000*). Peu d'études ont rapporté les effets bénéfiques de l'AAL sur la cascade inflammatoire. L'apport de l'AAL peut réduire les marqueurs inflammatoires également l'inhibition de kinase induite par TNF- α (*Bierhaus et al., 1997 ; Cao et al., 2003 ; Akbari et al., 2018*). La diminution de la LIPOX est observée lors de l'administration de l'AAL (*Arivazhagan et al., 2000 ; Thirunavukkarasu et Anuradha, 2004*).

Une étude a été menée par Sena et al., (2018) pour étudier les effets de l'AAL sur la stéatose hépatique, la fonction hépatocellulaire et le stress oxydatif dans un modèle de diabète

DISCUSSION

de type II nourri avec un régime riche en graisses dans un cas plus proche au modèle alcoolique. La stéatose histopathologique et la fibrose ont été évaluées. Les animaux diabétiques de type 2 nourris avec régime riche en graisses ont montré une stéatose hépatique marquée et qui a été complètement empêché par l'AAL. Ils ont conclu que l'AAL pourrait être considéré comme un outil thérapeutique utile pour prévenir la stéatose hépatique, diminuer le marqueur inflammatoire TNF- α et réduire le stress oxydatif (*Sena et al., 2018*).

A la suite de toutes les études sur l'AAL et l'hépatotoxicité, il a été révélé que l'AAL a un effet protecteur lié à la suppression de processus inflammatoire, la diminution de la LIPOX et l'augmentation des antioxydants qui sont liés à cette pathologie (*Al-Qahtani et al., 2017*).

D'après la lecture des différentes études réalisées dans cette thématique que l'acide alpha lipoïque est considéré comme est un bon hépatoprotecteur où il diminue la toxicité hépatique induite par l'éthanol soit par son effet antioxydant que par son effet anti-inflammatoire.

A decorative border with calligraphic flourishes, consisting of a double-line rectangular frame with ornate, swirling flourishes at each corner and mid-point.

Conclusion

&

Perspectives

CONCLUSION & PERSPECTIVES

L'objectif de l'étude présentée dans ce mémoire est de déterminer l'effet protecteur de l'acide alpha lipoïque contre la toxicité induite par l'éthanol. L'étude est mise en œuvre selon des expériences *in vivo* et une simulation *in silico*.

D'après les résultats de l'étude *in silico*, nous avons pu prédire que l'AAL possède une bonne interaction avec le cytochrome P450 et l'ADAM17 principales enzymes impliquées dans le processus du stress oxydant et celui de l'inflammation respectivement. Il peut être conclu que l'AAL est considéré comme molécule non toxique et prometteuse pour réduire l'hépatite alcoolique.

L'étude de l'activité antioxydant *in vitro* de l'AAL a été faite en ciblant la capacité de piégeage des radicaux libres. L'AAL peut avoir une capacité antioxydante intéressante qui peut être proche de celle de la vitamine E.

In vivo, et d'après la littérature, l'AAL peut exercer un effet hépatoprotecteur chez les animaux en diminuant la peroxydation lipidique due aux attaques des radicaux libres issus du métabolisme de l'éthanol. L'AAL peut par conséquent diminuer les niveaux sériques de l'ALAT, ASAT, PAL et de la γ -GT hépatique. Nous pouvons ainsi dire que les effets hépatoprotecteur pourrait être liée aux capacités antioxydante et anti-inflammatoire de l'AAL.

L'AAL pourrait être un potentiel complément alimentaire pour la prévention et l'éventuel traitement du foie atteint suite à la consommation chronique d'alcool.

En perspectives, il serait intéressant d'élargir le spectre d'étude sur l'activité anti-inflammatoire de l'AAL et son effet sur les composants de système immunitaire. Il est important également de déterminer la dose de l'AAL administré afin d'assurer un effet hépatoprotecteur préventif ou bien curatif chez les alcooliques.

A decorative border in a calligraphic style, featuring thick black lines and intricate flourishes. The border is rectangular with rounded corners and is composed of four main sections: a top section with a horizontal line and two large, symmetrical flourishes; a right section with a vertical line and two smaller flourishes; a bottom section with a horizontal line and two large, symmetrical flourishes; and a left section with a vertical line and two smaller flourishes. The text is centered within this border.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abd-Ellah, Hala F., et Nadia R. A. Abou-zeid. 2017. « Role of Alpha-Lipoic Acid in Ameliorating Cyclosporine A-Induced Pancreatic Injury in Albino Rats: A Structural, Ultrastructural, and Morphometric Study ». *Ultrastructural Pathology* 41 (2): 196-208. <https://doi.org/10.1080/01913123.2017.1286422>.
- Aebi, Hugo. 1984. « [13] Catalase in Vitro ». In *Methods in Enzymology*, 105:121-26. Oxygen Radicals in Biological Systems. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- Akbari, Maryam, Vahidreza Ostadmohammadi, Reza Tabrizi, Moein Mobini, Kamran B. Lankarani, Mahmood Moosazadeh, Seyed Taghi Heydari, Maryam Chamani, Fariba Kolahdooz, et Zatollah Asemi. 2018. « The effects of alpha-lipoic acid supplementation on inflammatory markers among patients with metabolic syndrome and related disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials ». *Nutrition & Metabolism* 15 (1): 39.
- Alam, Md. Nur, Nusrat Jahan Bristi, et Md. Rafiquzzaman. 2013. « Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity ». *Saudi Pharmaceutical Journal : SPJ* 21 (2): 143-52. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>.
- Al-Qahtani, F., Maha Arafah, Bechan Sharma, et N. Siddiqi. 2017. « Effects of alpha lipoic acid on acrylamide-induced hepatotoxicity in rats ». *Cellular and Molecular Biology* 63 (juillet): 1. <https://doi.org/10.14715/cmb/2017.63.6.1>.
- Amenta, Francesco, Michela Buccioni, Diego Dal Ben, Catia Lambertucci, Aleix Martí Navia, Michael A. Ngouadjeu Ngnintedem, Massimo Ricciutelli, Andrea Spinaci, Rosaria Volpini, et Gabriella Marucci. 2018. « Ex-Vivo Absorption Study of Lysine R-Lipoate Salt, a New Pharmaceutical Form of R-ALA ». *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 118 (juin): 200-207. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.03.025>.
- Archer, Stephen. 1993. « Measurement of Nitric Oxide in Biological Models ». *The FASEB Journal* 7 (2): 349-60. <https://doi.org/10.1096/fasebj.7.2.8440411>.

- Arivazhagan, P., P. Juliet, et C. Panneerselvam. 2000. « Effect of DL Alpha Lipoic Acid on the Status of Lipid Peroxidation and Antioxidants in Aged Rats ». *Pharmacological Research* 41 (3): 299-303. <https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0594>.
- Ayala, Antonio, Mario F. Muñoz, et Sandro Argüelles. 2014. « Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>.
- Badarinath, A.V., K. Mallikarjuna RAo, C. Madhu Sudhana Chetty, T.V.S Rajan, et K. Gnanaprakash. 2010. « A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations ». *International Journal of PharmTech Research* 2 (2): 1276-85.
- Badlis, lynda, et loubna Haderbache. 2018. « L'effet hépatoprotecteur d'Elettaria Cardamomum vis-à-vis L'hépatotoxicité induite par la gentamicine ». Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, algérie: Frères Mentouri Constantine.
- Badouard, Carine. 2006. « Les lésions des acides nucléiques: détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. » Doctorat, France: Joseph Fourier-Grenoble.
- Bansal, Mohinder, et Naveen Kaushal. 2014. *Oxidative Stress Mechanisms and Their Modulation*. India. New Delhi: Springer India. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2032-9>.
- Barry, Halliwell. 2001. « Free Radical Reactions in Human Disease ». In *Environmental Stressors in Health and Disease*, édité par Jürgen Fuchs et Lester Packer. Oxidative Stress and Disease 7. New York: M. Dekker.
- Bast, Aalt, et Guido R.M.M Haenen. 2002. « The Toxicity of Antioxidants and Their Metabolites ». *Environmental Toxicology and Pharmacology* 11 (3-4): 251-58. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(01\)00118-1](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(01)00118-1).
- Ben Hadda, Taibi, Vesna Rastija, Faisal AlMalki, Abderrahim Titi, Rachid Touzani, Yahia N. Mabkhot, Shah Khalid, Abdelkader Zarrouk, et Bina S. Siddiqui. 2019. « Petra/Osiris/Molinspiration and Molecular Docking Analyses of 3-Hydroxy-Indolin-

- 2-One Derivatives as Potential Antiviral Agents ». *Current Computer-Aided Drug Design* 16 (décembre): 1-11. <https://doi.org/10.2174/1573409916666191226110029>.
- Benzie, I. F., et J. J. Strain. 1999. « Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration ». *Methods in Enzymology* 299: 15-27. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5).
- Bergmeyer, H. U., G. N. Bowers, M. horder, et D. W. Moss. 1976. « Provisional Recommendations on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentrations of Enzymes. Part 2. IFCC Method for Aspartate Aminotransferase ». *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 70 (2): F19-29.
- Berlett, Barbara S., et Earl R. Stadtman. 1997. « Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress ». *Journal of Biological Chemistry* 272 (33): 20313-16. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.33.20313>.
- Bierhaus, A., S. Chevion, M. Chevion, M. Hofmann, P. Quehenberger, T. Illmer, T. Luther, et al. 1997. « Advanced Glycation End Product-Induced Activation of NF-KappaB Is Suppressed by Alpha-Lipoic Acid in Cultured Endothelial Cells ». *Diabetes* 46 (9): 1481-90. <https://doi.org/10.2337/diab.46.9.1481>.
- Biewenga, Gerreke Ph., Guido R.M.M. Haenen, et Aalt Bast. 1997. « The Pharmacology of the Antioxidant Lipoic Acid ». *General Pharmacology: The Vascular System* 29 (3): 315-31. [https://doi.org/10.1016/S0306-3623\(96\)00474-0](https://doi.org/10.1016/S0306-3623(96)00474-0).
- Birben, Esra, Umit Murat Sahiner, Cansin Sackesen, Serpil Erzurum, et Omer Kalayci. 2012. « Oxidative Stress and Antioxidant Defense ». *World Allergy Organization Journal* 5 (1): 9-19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>.
- Black, Roy A., Charles T. Rauch, Carl J. Kozlosky, Jacques J. Peschon, Jennifer L. Slack, Martin F. Wolfson, Beverly J. Castner, et al. 1997. « A Metalloproteinase Disintegrin That Releases Tumour-Necrosis Factor- α from Cells ». *Nature* 385 (6618): 729-33. <https://doi.org/10.1038/385729a0>.
- Bouchentouf, R., S. jastimi, Amine Benjelloun, et M. Aitbenasser. 2011. « Hépatotoxicité des antituberculeux : épidémiologie, mécanisme et conduite à tenir ». *Journal Africain*

- d'Hépatogastroentérologie* 5 (septembre): 168-73. <https://doi.org/10.1007/s12157-011-0270-6>.
- Bustamante, Juanita, John K Lodge, Lucia Marcocci, Hans J Tritschler, Lester Packer, et Bertrand H Rihn. 1998. « Alpha Lipoic Acid in Liver Metabolism and Disease ». *Free Radical Biology & Medicine* 24 (6): 1023-39.
- Bytheway, Ian, Michael G. Darley, et Paul L. A. Popelier. 2008. « The Calculation of Polar Surface Area from First Principles: An Application of Quantum Chemical Topology to Drug Design ». *ChemMedChem* 3 (3): 445-53. <https://doi.org/10.1002/cmdc.200700262>.
- Cao, Zhuoxiao, Maggie Tsang, Hai Zhao, et Yunbo Li. 2003. « Induction of Endogenous Antioxidants and Phase 2 Enzymes by Alpha-Lipoic Acid in Rat Cardiac H9C2 Cells: Protection against Oxidative Injury ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 310 (3): 979-85. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.09.110>.
- Caylak, Emrah, Metin Aytekin, et Ihsan Halifeoglu. 2008. « Antioxidant Effects of Methionine, α -Lipoic Acid, N-Acetylcysteine and Homocysteine on Lead-Induced Oxidative Stress to Erythrocytes in Rats ». *Experimental and Toxicologic Pathology* 60 (4-5): 289-94. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2007.11.004>.
- Chambial, Shailja, Shailendra Dwivedi, Kamla Kant Shukla, Placheril J. John, et Praveen Sharma. 2013. « Vitamin C in Disease Prevention and Cure: An Overview ». *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 28 (4): 314-28. <https://doi.org/10.1007/s12291-013-0375-3>.
- Chanda, S, et R Dave. 2009. « In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview ». *African Journal of Microbiology Research* 3 (13): 981-96.
- Chiarugi, Paola, Maria Letizia Taddei, et Elisa Giannoni. 2015. « Principles of Redox Signaling ». In *Studies on Hepatic Disorders*, édité par Emanuele Albano et Maurizio Parola, 3-40. Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice. Italy: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-15539-5>.

- Chikhi, Abdelouahab, et Abderrahmane Bensegueni. 2008. « Comparative Study of the Efficiency of Three Protein-Ligand Docking Programs ». *Journal of Proteomics & Bioinformatics* 01 (juin): 161-65. <https://doi.org/10.4172/jpb.1000022>.
- Cooper, Geoffrey M. 2000. « Metabolic Energy ». *The Cell: A Molecular Approach. 2nd Edition*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9903/>.
- Crum Brown, Alexander, et Thomas R. Fraser. 1868. « On the Connection between Chemical Constitution and Physiological Action; with special reference to the Physiological Action of the Salts of the Ammonium Bases derived from Strychnia, Brucia, Thebaia, Codeia, Morphia, and Nicotia ». *Journal of anatomie physiologie* 2 (2): 224-42.
- Daina, Antoine, Olivier Michielin, et Vincent Zoete. 2017. « SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules ». *Scientific Reports* 7: 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- Das, S. K., et D. M. Vasudevan. 2007. « Alcohol-Induced Oxidative Stress ». *Life Sciences* 81 (3): 177-87. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.05.005>.
- Das, Sudipto, Nora Hajnóczky, Anil Noronha Antony, György Csordás, Lawrence D. Gaspers, Dahn L. Clemens, Jan B. Hoek, et György Hajnóczky. 2012. « Mitochondrial Morphology and Dynamics in Hepatocytes from Normal and Ethanol-Fed Rats ». *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 464 (1): 101-9. <https://doi.org/10.1007/s00424-012-1100-4>.
- Di Tucci, Chiara, Mara Di Feliciantonio, Flaminia Vena, Carmela Capone, Michele Carlo Schiavi, Daniela Pietrangeli, Ludovico Muzii, et Pierluigi Benedetti Panici. 2018. « Alpha Lipoic Acid in Obstetrics and Gynecology ». *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology* 34 (9): 729-33. <https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1462320>.
- Ding, Wen-Xing, Min Li, Xiaoyun Chen, Hong-Min Ni, Chih-Wen Lin, Wentao Gao, Binfeng Lu, Donna B. Stolz, Dahn L. Clemens, et Xiao-Ming Yin. 2010. « Autophagy Reduces Acute Ethanol-Induced Hepatotoxicity and Steatosis in Mice ». *Gastroenterology* 139 (5): 1740-52. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.07.041>.

- Djahra, Ali Boutlelis. 2014. « Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. » Doctorat en Science, algérie: Université BADJI Mokhtar Annaba.
- Djeffal, Assia. 2014. « Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C ». Thèse de doctorat, annaba: Université Badji Mokhtar.
- Dudka, Jaroslaw. 2006. « Decrease in NADPH-Cytochrome P450 Reductase Activity of the Human Heart, Liver and Lungs in the Presence of Alpha-Lipoic Acid ». *Annals of Nutrition and Metabolism* 50 (2): 121-25. <https://doi.org/10.1159/000090632>.
- Edeas, M., D. Attaf, A.-S. Mailfert, M. Nasu, et R. Joubet. 2010. « Maillard Reaction, Mitochondria and Oxidative Stress: Potential Role of Antioxidants ». *Pathologie Biologie* 58 (3): 220-25. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.09.011>.
- Ekins, S, J Mestres, et B Testa. 2007. « In silico pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling ». *British Journal of Pharmacology* 152 (1): 9-20. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707305>.
- Elamin, Elhaseen E, Ad A Masclee, Jan Dekker, et Daisy M Jonkers. 2019. « Ethanol Metabolism and Its Effects on the Intestinal Epithelial Barrier ». *Nutrition Reviews* 71 (7): 483-99. <https://doi.org/10.1111/nure.12027>.
- Engen, Phillip A., Stefan J. Green, Robin M. Voigt, Christopher B. Forsyth, et Ali Keshavarzian. 2015. « The Gastrointestinal Microbiome: Alcohol Effects on the Composition of Intestinal Microbiota ». *Alcohol Research: Current Reviews* 37 (2): 223-36.
- Falcy, M, D Jargot, S Miraval, E Pasquier, F Pillière, et S Robert. 2019. « Éthanol ». *Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES*, 1-11.
- Fang, Yun-Zhong, Sheng Yang, et Guoyao Wu. 2002. « Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition ». *Nutrition* 18 (10): 872-79. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00916-4](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4).
- Farhat, D., et H. Lincet. 2020. « Lipoic Acid a Multi-Level Molecular Inhibitor of Tumorigenesis ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1873 (1): 188317. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.188317>.

- Favier, Alain. 2003. « Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique ». *l'actualité chimique*, 2003.
- Ferguson, Gavin Douglas, et Wallace John Bridge. 2019. « The Glutathione System and the Related Thiol Network in *Caenorhabditis Elegans* ». *Redox Biology* 24 (juin): 101171. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101171>.
- Ferguson, Jessica, Anne-Isabelle Dubé, et Catherine Ouellet. 2013. « Hépatotoxicité à la suite de l'utilisation à court terme d'amiodarone pour une personne âgée : un rapport de cas ». *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy* 66 (3): 190-93.
- Filliol, Aveline, Jacques Seyec, et Michel Samson. 2017. « Nouvelles voies de mort cellulaire des hépatocytes », juin. [https://doi.org/10.1016/S1155-1976\(17\)80072-3](https://doi.org/10.1016/S1155-1976(17)80072-3).
- Finaud, Julien, Gérard Lac, et Edith Filaire. 2006. « Oxidative Stress: Relationship with Exercise and Training ». *Sports Medicine* 36 (4): 327-58. <https://doi.org/10.2165/00007256-200636040-00004>.
- Forli, Stefano, Ruth Huey, Michael E. Pique, Michel Sanner, David S. Goodsell, et Arthur J. Olson. 2016. « Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite ». *Nature protocols* 11 (5): 905-19. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.051>.
- Forman, Henry Jay, Jon M. Fukuto, et Martine Torres. 2004. « Redox Signaling: Thiol Chemistry Defines Which Reactive Oxygen and Nitrogen Species Can Act as Second Messengers ». *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 287 (2): C246-56. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00516.2003>.
- Frei, B, M C Kim, et B N Ames. 1990. « Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (12): 4879-83.
- Fung, Phoenix, et Nikolaos Pyrsopoulos. 2017. « Emerging Concepts in Alcoholic Hepatitis ». *World Journal of Hepatology* 9 (12): 567. <https://doi.org/10.4254/wjh.v9.i12.567>.
- Gao, Bin, et Ramon Bataller. 2011. « Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and New Therapeutic Targets ». *Gastroenterology* 141 (5): 1572-85. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.09.002>.

- García-Ruiz, C., A. Morales, A. Ballesta, J. Rodés, N. Kaplowitz, et J. C. Fernández-Checa. 1994. « Effect of Chronic Ethanol Feeding on Glutathione and Functional Integrity of Mitochondria in Periportal and Perivenous Rat Hepatocytes. » *Mitochondrial GSH in Periportal and Perivenous Hepatocyte* 94 (juillet): 193-201. <https://doi.org/10.1172/JCI117306>.
- Gardès-Albert, Monique, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh, et Daniel Jore. 2003. « Espèces réactives de l'oxygène ». *l'actualité chimique*, 91-96.
- Gargouri, Mohamed, Najla Ben Akacha, F. Kotti, et Ines Rejeb. 2008. « Voie de la lipoxigénase : valorisation d'huiles végétales et biosynthèse de saveurs ». *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 12 (janvier).
- Ghafouri-Fard, Soudeh, Hamed Shoorei, et Mohammad Taheri. 2020. « Non-Coding RNAs Are Involved in the Response to Oxidative Stress ». *Biomedicine & Pharmacotherapy* 127 (juillet): 110228. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110228>.
- Ghibu, S., C. Richard, S. Delemasure, C. Vergely, C. Mogosan, et A. Muresan. 2008. « Un dithiol endogène aux propriétés antioxydantes : l'acide alpha-lipoïque, utilisation potentielle dans les pathologies cardiovasculaires ». *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* 57 (3): 161-65. <https://doi.org/10.1016/j.ancard.2008.02.018>.
- Ghiselli, A., M. Serafini, G. Maiani, E. Azzini, et A. Ferro-Luzzi. 1995. « A Fluorescence-Based Method for Measuring Total Plasma Antioxidant Capability ». *Free Radical Biology & Medicine* 18 (1): 29-36. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)00102-p](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)00102-p).
- Goossens, N, S Ditisheim, N Lanthier, L Spahr, et A Hadengue. 2012. « Stéatohépatite alcoolique : nouveautés 2012 ». *Rev Med Suisse*, n° 8: 1646-51.
- Goraça, Anna, Halina Huk-Kolega, Aleksandra Piechota, Paulina Kleniewska, Elżbieta Ciejka, et Beata Skibska. 2011. « Lipoic Acid – Biological Activity and Therapeutic Potential ». *Pharmacological Reports* 63 (4): 849-58. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(11\)70600-4](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(11)70600-4).
- Gougerot-Pocidallo, M. A., J. El Benna, C. Elbim, S. Chollet-Martin, et M. C. Dang. 2002. « Régulation de l'explosion oxydative des polynucléaires neutrophiles humains par les cytokines pro- et anti-inflammatoires ». *Journal de la Société de Biologie* 196 (1): 37-46. <https://doi.org/10.1051/jbio/2002196010037>.

- Goullé, J. P., et M. Guerbet. 2015. « Éthanol : pharmacocinétique, métabolisme et méthodes analytiques ». *Annales Pharmaceutiques Françaises* 73 (5): 313-22. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2015.03.003>.
- Grönwall, Caroline, Khaled Amara, Uta Hardt, Akilan Krishnamurthy, Johanna Steen, Marianne Engström, Meng Sun, et al. 2017. « Autoreactivity to Malondialdehyde-Modifications in Rheumatoid Arthritis Is Linked to Disease Activity and Synovial Pathogenesis ». *Journal of Autoimmunity* 84 (novembre): 29-45. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2017.06.004>.
- Guichardant, M., S. Bacot, P. Molière, et M. Lagarde. 2006. « Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique ». *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 13 (1): 31-34. <https://doi.org/10.1051/ocl.2006.5555>.
- Guiraud, Annabelle. 2006. « Etude des effets et des mécanismes cardioprotecteurs de l'éthanol chez le rat ». Phdthesis, Université Joseph-Fourier - Grenoble I. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00106391>.
- Gupta, Ram B., et Ayhan Demirbas. 2010. *Gasoline, Diesel, and Ethanol Biofuels from Grasses and Plants*. 1^{re} éd. Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511779152>.
- Gyamfi, Daniel, et Kwabena Owusu Danquah. 2016. « Nutrients and Liver Metabolism ». In *Molecular Aspects of Alcohol and Nutrition*, 3-15. Molecular nutrition series. Amsterdam ; Boston: Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Habib abdelRehman, Muhammad, Mohammad Tahir, Khalid Lone, et Waqas Sami. 2011. « Ethanol Induced Hepatotoxicity in Albino Rats ». *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP* 21 (octobre): 642-43. <https://doi.org/10.2011/JCPSP.642643>.
- Hagymási, Krisztina, Anna Egresi, et Gabriella Lengyel. 2015. « Antioxidants--antioxidative stress: facts and questions, 2015 ». *Orvosi Hetilap* 156 (47): 1884-87. <https://doi.org/10.1556/650.2015.30302>.
- Hitchcock, Stephen A., et Lewis D. Pennington. 2006. « Structure–Brain Exposure Relationships ». *Journal of Medicinal Chemistry* 49 (26): 7559-83. <https://doi.org/10.1021/jm060642i>.

- Hlusicka, Jiri, Tomas Loster, Lucie Lischkova, Manuela Vaneckova, Pavel Diblik, Pavel Urban, Tomás Navrátil, Petr Kacer, Tereza Kacerova, et Sergey Zakharov. 2019. « Reactive carbonyl compounds, carbonyl stress, and neuroinflammation in methyl alcohol intoxication ». *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, juillet. <https://doi.org/10.1007/s00706-019-02429-z>.
- Hould, René. 1984. *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Montreal: Decarie.
- Howdeshell, Kembra L., Cynthia V. Rider, Vickie S. Wilson, et L. Earl Gray. 2008. « Mechanisms of Action of Phthalate Esters, Individually and in Combination, to Induce Abnormal Reproductive Development in Male Laboratory Rats ». *Environmental Research* 108 (2): 168-76. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.08.009>.
- Hsu, Mei-Hui, et Eric F. Johnson. 2019. « Active-Site Differences between Substrate-Free and Ritonavir-Bound Cytochrome P450 (CYP) 3A5 Reveal Plasticity Differences between CYP3A5 and CYP3A4 ». *Journal of Biological Chemistry* 294 (20): 8015-22. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.007928>.
- Ighodaro, O.M., et O.A. Akinloye. 2018. « First Line Defence Antioxidants-Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GPX): Their Fundamental Role in the Entire Antioxidant Defence Grid ». *Alexandria Journal of Medicine* 54 (4): 287-93. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
- Jaisson, Stéphane, Aurore Desmons, Laëtitia Gorisse, et Philippe Gillery. 2017. « Vieillesse moléculaire des protéines: Quel rôle en physiopathologie ? » *médecine/sciences* 33 (2): 176-82. <https://doi.org/10.1051/medsci/20173302013>.
- Jameel, Noor Mohamed, Mysore A. Shekhar, et Bannikuppe S. Vishwanath. 2006. « Alpha-Lipoic Acid: An Inhibitor of Secretory Phospholipase A2 with Anti-Inflammatory Activity ». *Life Sciences* 80 (2): 146-53. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.08.032>.
- Jones, G., P. Willett, R. C. Glen, A. R. Leach, et R. Taylor. 1997. « Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking ». *Journal of Molecular Biology* 267 (3): 727-48. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1996.0897>.
- Juurink, Bernhard H.J. 1997. « Response of Glial Cells to Ischemia: Roles of Reactive Oxygen Species and Glutathione ». *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 21 (2): 151-66. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(96\)00005-X](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(96)00005-X).

- Karmen, A. 1955. « A Note on the Spectrometric Assay of Glutamic-Oxalacetic Transaminase in Human Blood Serum ». *The Journal of Clinical Investigation* 34 (1): 131-33.
- Kaur, Amandeep. 2018. *Fluorescent Tools for Imaging Oxidative Stress in Biology*. Springer Theses. Australia: Springer International Publishing.
- Kaushal, Jyoti, Seema Mehandia, Gursharan Singh, Arun Raina, et Shailendra Kumar Arya. 2018. « Catalase Enzyme: Application in Bioremediation and Food Industry ». *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 16 (octobre): 192-99. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.035>.
- Kehili, N., Saad Saka, et Ouassila Aouacheri. 2017. « L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats ». *Phytothérapie*, février. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1099-y>.
- Kooy, N. W., J. A. Royall, H. Ischiropoulos, et J. S. Beckman. 1994. « Peroxynitrite-Mediated Oxidation of Dihydrorhodamine 123 ». *Free Radical Biology & Medicine* 16 (2): 149-56. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)90138-4](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)90138-4).
- Kramer, B., M. Rarey, et T. Lengauer. 1999. « Evaluation of the FLEXX Incremental Construction Algorithm for Protein-Ligand Docking ». *Proteins* 37 (2): 228-41. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0134\(19991101\)37:2<228::aid-prot8>3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0134(19991101)37:2<228::aid-prot8>3.0.co;2-8).
- Külkamp, Irene C., Bruna D. Rabelo, Simone J. Berlitz, Mateus Isoppo, Mariana D. Bianchin, Scheila R. Schaffazick, Adriana R. Pohlmann, et Sílvia S. Guterres. 2011. « Nanoencapsulation Improves the In Vitro Antioxidant Activity of Lipoic Acid ». *Journal of Biomedical Nanotechnology* 7 (4): 598-607. <https://doi.org/10.1166/jbn.2011.1318>.
- Lee, Ki-June, Yoon-Joo Ko, Sang-Kee Kang, Whee-Soo Kim, Chong-Su Cho, et Yun-Jaie Choi. 2020. « Additive Anti-Inflammation by a Combination of Conjugated Linoleic Acid and α -Lipoic Acid through Molecular Interaction between Both Compounds ». *Food Science and Biotechnology* 29 (3): 419-29. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00677-7>.
- Leung, Fred Y. 1998. « Trace Elements That Act as Antioxidants in Parenteral Micronutrition ». *J. Nutr. Biochem* 9: 304-7.
- Li, Fei, Huifeng Wu, Lianzhen Li, Xuehua Li, Jianmin Zhao, et Willie J.G.M. Peijnenburg. 2012. « Docking and QSAR Study on the Binding Interactions between Polycyclic

- Aromatic Hydrocarbons and Estrogen Receptor ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80 (juin): 273-79. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.03.009>.
- Lieber, C. S., et L. M. Decarli. 1991. « Hepatotoxicity of Ethanol ». *Journal of Hepatology* 12 (3): 394-401. [https://doi.org/10.1016/0168-8278\(91\)90846-4](https://doi.org/10.1016/0168-8278(91)90846-4).
- Lieber, C.S. 1990. « Mechanism of Ethanol Induced Hepatic Injury ». *Pharmacology & Therapeutics* 46 (1): 1-41. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(90\)90032-W](https://doi.org/10.1016/0163-7258(90)90032-W).
- Liu, Guangwei, Jiangkai Liu, Linping Pian, Songlin Gui, et Baoping Lu. 2018. « A-lipoic Acid Protects against Carbon Tetrachloride-induced Liver Cirrhosis through the Suppression of the TGF- β /Smad3 Pathway and Autophagy ». *Molecular Medicine Reports*, décembre. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9719>.
- Lorian, V. 1988. « Differences between in vitro and in vivo studies. » *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 32 (10): 1600-1601.
- Machlin, Lawrence J., et Adrienne Bendich. 1987. « Free Radical Tissue Damage: Protective Role of Antioxidant Nutrients1 ». *The FASEB Journal* 1 (6): 441-45. <https://doi.org/10.1096/fasebj.1.6.3315807>.
- Madawala, Samantha R. P., Rolf E. Andersson, Jelena A. Jastrebova, Maria Almeida, et Paresch C. Dutta. 2011. « Novel Conjugates of 1,3-Diacylglycerol and Lipoic Acid: Synthesis, DPPH Assay, and RP-LC-MS-APCI Analysis ». *Journal of Lipids* 2011: 1-10. <https://doi.org/10.1155/2011/419809>.
- Malarkodi, Kumaravel Palanichamy. 2003. « Protective effect of lipoic acid on adriamycin induced lipid peroxidation in rat kidney ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 247 (1/2): 9-13. <https://doi.org/10.1023/A:1024164608148>.
- Mani, Vijay, Sivaranjani Arivalagan, Aktarul Islam Siddique, et Nalini Namasivayam. 2016. « Antioxidant and Anti-Inflammatory Role of Zingerone in Ethanol-Induced Hepatotoxicity ». *Molecular and Cellular Biochemistry* 421 (1-2): 169-81. <https://doi.org/10.1007/s11010-016-2798-7>.
- Manzocco, L, M Anese, et M. C Nicoli. 1998. « Antioxidant Properties of Tea Extracts as Affected by Processing ». *LWT - Food Science and Technology* 31 (7): 694-98. <https://doi.org/10.1006/fstl.1998.0491>.

- Marcocci, L., J. J. Maguire, M. T. Droy-Lefaix, et L. Packer. 1994. « The Nitric Oxide-Scavenging Properties of Ginkgo Biloba Extract EGb 761 ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 201 (2): 748-55. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1764>.
- Massion, Paul, Jean-Charles Preiser, et Jean-Luc Balligand. 2002. « Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères ? Reactive nitrogen species: deleterious or not? » *Nutrition clinique et métabolisme*, n° 16: 248–252.
- Mathurin, P. 2009. « L'alcool et le foie ». *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 33 (8-9): 840-49. <https://doi.org/10.1016/j.gcb.2009.06.004>.
- Matsugo, S., L. J. Yan, D. Han, H. J. Trischler, et L. Packer. 1995. « Elucidation of Antioxidant Activity of α -Lipoic Acid Toward Hydroxyl Radical ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 208 (1): 161-67. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1318>.
- Megarbane, B, N Deye, et F Baud. 2007. « Foie toxique : mécanismes lésionnels et thérapeutiques pharmacologiques spécifiques ». *Réanimation* 16 (7-8): 632-42. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2007.08.004>.
- Mendelson, Scott D. 2008. *Metabolic Syndrome and Psychiatric Illness*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374240-7.X5001-3>.
- Michel, F, D Bonnefont-Rousselot, E Mas, J Draï, et P Thérond. 2008. « Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques ». *Ann Biol Clin* 66 (6): 16.
- Migdal, Camille, et Mireille Serres. 2011. « Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant ». *médecine/sciences* 27 (4): 405-12. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>.
- Moini, Hadi, Lester Packer, et Nils-Erik L. Saris. 2002. « Antioxidant and Prooxidant Activities of Alpha-Lipoic Acid and Dihydrolipoic Acid ». *Toxicology and Applied Pharmacology* 182 (1): 84-90. <https://doi.org/10.1006/taap.2002.9437>.
- Moraes, Tarsila Barros, Fernanda Zanin, Andrea da Rosa, Amanda de Oliveira, Juliana Coelho, Felipe Petrillo, Moacir Wajner, et Carlos Severo Dutra-Filho. 2010. « Lipoic Acid Prevents Oxidative Stress in Vitro and in Vivo by an Acute Hyperphenylalaninemia Chemically-Induced in Rat Brain ». *Journal of the Neurological Sciences* 292 (1-2): 89-95. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2010.01.016>.

- Morris, Garrett M., David S. Goodsell, Ruth Huey, et Arthur J. Olson. 1996. « Distributed Automated Docking of Flexible Ligands to Proteins: Parallel Applications of AutoDock 2.4 ». *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 10 (4): 293-304. <https://doi.org/10.1007/BF00124499>.
- Mosbah, Asma. 2016. « Etude de l'effet hépatoprotecteur de l'huile totale et de la fraction neutre des graines de *Nigella sativa* contre l'hépatotoxicité induite par l'éthanol chez le rat ». Doctorat, sétif: Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Murphy, P. G., J. R. Bennett, D. S. Myers, M. J. Davies, et J. G. Jones. 1993. « The Effect of Propofol Anaesthesia on Free Radical-Induced Lipid Peroxidation in Rat Liver Microsomes ». *European Journal of Anaesthesiology* 10 (4): 261-66.
- Naskar, S., A. Islam, U. K. Mazumder, P. Saha, P. K. Haldar, et M. Gupta. 2009. « In Vitro and In Vivo Antioxidant Potential of Hydromethanolic Extract of *Phoenix dactylifera* Fruits ». *Journal of Scientific Research* 2 (1): 144-57. <https://doi.org/10.3329/jsr.v2i1.2643>.
- Nasrallah, Daniel Frédéric. 2014. « Évaluation de l'état nutritionnel chez les patients ayant une pathologie en rapport avec une consommation alcoolique chronique ». Thèse pour le diplôme de doctorat en médecine, France: PARIS DIDEROT - PARIS 7.
- Navari-Izzo, Flavia, Mike Frank Quartacci, et Cristina Sgherri. 2002. « Lipoic Acid: A Unique Antioxidant in the Detoxification of Activated Oxygen Species ». *Plant Physiology and Biochemistry* 40 (6-8): 463-70. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(02\)01407-9](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01407-9).
- N'dri, Jean Stéphane, Ahmont Landry Claude Kablan, Bafétigué Ouattara, Mamadou Guy-Richard Koné, Lamoussa Ouattara, Charles Guillaume Kodjo, et Nahossé Ziao. 2019. « QSAR Studies of the Antifungal Activities of α -Diaminophosphonates Derived from Dapsone by DFT Method ». *Journal of Materials Physics and Chemistry* 7 (1): 1-7. <https://doi.org/10.12691/jmpc-7-1-1>.
- Nguyen, Nguyen, E. Kummer, Jean-Pierre Dubost, Thierry Convard, J. Barbanton, et A. Carpy. 1999. « La probabilité d'hydratation moléculaire : un nouveau concept pour le calcul du log P d'une molécule à partir de sa structure 3D (text in French) ». *Analisis* 27 (janvier): 29-31. <https://doi.org/10.1051/analisis:1999270029>.

- Nordmann, Roger, Catherine Ribière, et Hélène Rouach. 1988. « Alcool et radicaux libres : données actuelles ». *médecine/sciences* 4 (6): 336-45.
- Ohkawa, H., N. Ohishi, et K. Yagi. 1979. « Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction ». *Analytical Biochemistry* 95 (2): 351-58. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3).
- O'Shea, Robert S., Srinivasan Dasarathy, Arthur J. McCullough, et Practice Guideline Committee of the American Association for the Study of Liver Diseases and the Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. 2010. « Alcoholic Liver Disease ». *Hepatology* 51 (1): 307-28. <https://doi.org/10.1002/hep.23258>.
- Ozcan, Ayla, et Metin Ogun. 2015. « Biochemistry of Reactive Oxygen and Nitrogen Species ». In *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*, édité par Sivakumar Joghi Thatha Gowder, 38-58. InTech. <https://doi.org/10.5772/59293>.
- Özel, Feyyaz, Müge Kiray, Aslı Göker, Selma Aydemir, et Serap Cilaker Mıcılı. 2020. « Protective Effect of Alpha Lipoic Acid on 4-Vinylcyclohexene Diepoxide Induced Primary Ovarian Failure in Female Rats ». *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology* 59 (2): 293-300. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2020.01.020>.
- Packer, Lester, Sashwati Roy, et Chandan K. Sen. 1996. « α -Lipoic Acid: A Metabolic Antioxidant and Potential Redox Modulator of Transcription ». In *Advances in Pharmacology*, édité par Helmut Sies, 38:79-101. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(08\)60980-1](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(08)60980-1).
- Packer, Lester, Hans J Tritschler, et Klaus Wessel. 1997. « Neuroprotection by the Metabolic Antioxidant Alpha Lipoic Acid ». *Free Radical Biology & Medicine* 22 (1/2): 359-378.
- Packer, Lester, Eric H. Witt, et Hans Jürgen Tritschler. 1995. « Alpha-Lipoic Acid as a Biological Antioxidant ». *Free Radical Biology and Medicine* 19 (2): 227-50. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)00017-R](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)00017-R).
- Padayatty, Sebastian J., Arie Katz, Yaohui Wang, Peter Eck, Oran Kwon, Je-Hyuk Lee, Shenglin Chen, et al. 2003. « Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention ». *Journal of the American College of Nutrition* 22 (1): 18-35. <https://doi.org/10.1080/07315724.2003.10719272>.

- Palma, Elena, Xiaowen Ma, Antonio Riva, Valeria Iansante, Anil Dhawan, Shaogui Wang, Hong-Min Ni, et al. 2019. « Dynamin-1-Like Protein Inhibition Drives Megamitochondria Formation as an Adaptive Response in Alcohol-Induced Hepatotoxicity ». *The American Journal of Pathology* 189 (3): 580-89. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2018.11.008>.
- Paquette, G., D. B. Kupranycz, et F. R. van de Voort. 1985. « The Mechanisms of Lipid Autoxidation I. Primary Oxidation Products ». *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 18 (2): 112-18. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(85\)71767-1](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(85)71767-1).
- Paquot, N. 2019. « The metabolism of alcohol ». *Revue Medicale De Liege* 74 (5-6): 265-67.
- Pari, L., et P. Murugavel. 2004. « Protective Effect of α -Lipoic Acid against Chloroquine-Induced Hepatotoxicity in Rats ». *Journal of Applied Toxicology* 24 (1): 21-26. <https://doi.org/10.1002/jat.940>.
- Park, Min-Kyung. 1990. *Effets de l'éthanol sur la peroxydation des lipide et les antioxydants (vitaamine E et vitamine C) au niveau hépatique et cérébelleux : actions de l'allopurinol*.
- Patel, Mulchand S., et Lester Packer, éd. 2008. *Lipoic Acid: Energy Production, Antioxidant Activity and Health Effects*. 1st éd. California: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420045390>.
- Petersen Shay, Kate, Régis F. Moreau, Eric J. Smith, et Tory M. Hagen. 2008. « Is α -Lipoic Acid a Scavenger of Reactive Oxygen Species in Vivo? Evidence for Its Initiation of Stress Signaling Pathways That Promote Endogenous Antioxidant Capacity ». *IUBMB Life* 60 (6): 362-67. <https://doi.org/10.1002/iub.40>.
- Pinzi, Luca, et Giulio Rastelli. 2019. « Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (18): 23. <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>.
- Pisoschi, Aurelia Magdalena, et Aneta Pop. 2015. « The Role of Antioxidants in the Chemistry of Oxidative Stress: A Review ». *European Journal of Medicinal Chemistry* 97 (juin): 55-74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>.
- Reed, L. J., B. G. DeBusk, I. C. Gunsalus, et C. S. Hornberger. 1951. « Crystalline α -Lipoic Acid: A Catalytic Agent Associated with Pyruvate Dehydrogenase ». *Science* 114 (2952): 93-94. <https://doi.org/10.1126/science.114.2952.93>.

- Renvez, Guillaume. 2010. « Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking ». Doctorat, France: Université Toulouse III - Paul Sabatier.
- Robinson, Mary A., James E. Baumgardner, et Cynthia M. Otto. 2011. « Oxygen-Dependent Regulation of Nitric Oxide Production by Inducible Nitric Oxide Synthase ». *Free Radical Biology & Medicine* 51 (11): 1952-65. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.034>.
- Rochette, Luc, Steliana Ghibu, Adriana Muresan, et Catherine Vergely. 2015. « Alpha-Lipoic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential in Diabetes ». *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 93 (12): 1021-27. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2014-0353>.
- Rochette, Luc, Stéliciana Ghibu, Carole Richard, Marianne Zeller, Yves Cottin, et Catherine Vergely. 2013. « Direct and Indirect Antioxidant Properties of α -Lipoic Acid and Therapeutic Potential ». *Molecular Nutrition & Food Research* 57 (1): 114-25. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200608>.
- Rodrigo, Ramon, et Toro Joaquin. 2009. « Oxidative Stress: Basic Overview ». In *Oxidative Stress and Antioxidants: Their Role in Human Disease*, édité par Ramon Rodrigo, 1^{re} éd., 1-24. New York: Nova Science Publishers.
- Rohnavaz, Fatemeh, Toba Mirzapour, Abolfazl Bayrami, et Maria Zahiri. 2016. « Antioxidant Effects of Alpha-Tocopherol (Vitamine E) on Testis Regeneration in Busulfan-Treated Mice ». *ISMJ* 19 (4): 511-25. <https://doi.org/10.18869/acadpub.ismj.19.4.511>.
- Ruch, R. J., S. J. Cheng, et J. E. Klaunig. 1989. « Prevention of Cytotoxicity and Inhibition of Intercellular Communication by Antioxidant Catechins Isolated from Chinese Green Tea ». *Carcinogenesis* 10 (6): 1003-8. <https://doi.org/10.1093/carcin/10.6.1003>.
- Sahu, Ram Kumar, et Saket Singh Chandel. 2017. « Protective effect of dietary inclusion of Aegle marmelos fruit on gentamicin-induced hepatotoxicity in rats ». *International Journal of Green Pharmacy* 3 (11): 597-603. <https://doi.org/10.22377/ijgp.v11i03.1180>.
- Salinthoné, Sonemany, Robynn V. Schillace, Catherine Tsang, John W. Regan, Dennis N. Bourdette, et Daniel W. Carr. 2011. « Lipoic acid stimulates cAMP production via G

- protein coupled receptor dependent and independent mechanisms ». *The Journal of nutritional biochemistry* 22 (7): 681-90. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.05.008>.
- Schupke, Hubert, Roland Hempel, Gernot Peter, Robert Hermann, Klaus Wessel, Jürgen Engel, et Thomas Kronbach. 2001. « New Metabolic Pathways of α -Lipoic Acid ». *Drug Metabolism and Disposition* 29 (6): 855-62.
- Seeram, Navindra P., Susanne M. Henning, Yantao Niu, Rupo Lee, H. Samuel Scheuller, et David Heber. 2006. « Catechin and Caffeine Content of Green Tea Dietary Supplements and Correlation with Antioxidant Capacity ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (5): 1599-1603. <https://doi.org/10.1021/jf052857r>.
- Seifar, Fatemeh, Mohammad Khalili, Habib Khaledyan, Shirin Amiri Moghadam, Azimeh Izadi, Amirreza Azimi, et Seied Kazem Shakouri. 2019. « α -Lipoic Acid, Functional Fatty Acid, as a Novel Therapeutic Alternative for Central Nervous System Diseases: A Review ». *Nutritional Neuroscience* 22 (5): 306-16. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2017.1386755>.
- Seitz, Helmut K., Ramon Bataller, Helena Cortez-Pinto, Bin Gao, Antoni Gual, Carolin Lackner, Philippe Mathurin, Sebastian Mueller, Gyongyi Szabo, et Hidekazu Tsukamoto. 2018. « Alcoholic Liver Disease ». *Nature Reviews Disease Primers* 4 (1): 16. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0014-7>.
- Semchyshyn, Halyna M., et Volodymyr I. Lushchak. 2012. « Interplay Between Oxidative and Carbonyl Stresses: Molecular Mechanisms, Biological Effects and Therapeutic Strategies of Protection ». In *Oxidative Stress - Molecular Mechanisms and Biological Effects*, édité par Volodymyr I. Lushchak, 15-46. Europe: InTech. <https://www.intechopen.com/books/oxidative-stress-molecular-mechanisms-and-biological-effects/interplay-between-oxidative-and-carbonyl-stresses-molecular-mechanisms-biological-effects-and-ther>.
- Sena, Cristina Maria, Maria Augusta Cipriano, Maria Filomena Botelho, et Raquel Maria Seica. 2018. « Lipoic Acid Prevents High-Fat Diet-Induced Hepatic Steatosis in Goto Kakizaki Rats by Reducing Oxidative Stress Through Nrf2 Activation ». *International Journal of Molecular Sciences* 19 (9). <https://doi.org/10.3390/ijms19092706>.

- Serairi, R., N. Msilini, S. Jameleddine, et R. Ksouri. 2014. « Effets préventifs et curatifs du Curcuma Longa sur l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone chez le rat ». *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 12es Journées Francophones de Nutrition, JFN 2014 - Centre des Congrès Le Square, Bruxelles - 10-12 décembre 2014, 28 (décembre): S121. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(14\)70744-7](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(14)70744-7).
- Serdar, Zehra, Kemal Aslan, Melahat Dirican, Emre Sarandöl, Dilek Yeşilbursa, et Akýn Serdar. 2006. « Lipid and Protein Oxidation and Antioxidant Status in Patients with Angiographically Proven Coronary Artery Disease ». *Clinical Biochemistry* 39 (8): 794-803. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2006.02.004>.
- Sergent, O., B. Griffon, P. Cillard, et J. Cillard. 2001. « Alcool et stress oxydatif ». *Pathologie Biologie* 49 (9): 689-95. [https://doi.org/10.1016/S0369-8114\(01\)00244-9](https://doi.org/10.1016/S0369-8114(01)00244-9).
- Sergent, Odile, Normand Podechard, Fatiha Aliche-Djoudi, et Dominique Lagadic-Gossmann. 2014. « Acides gras polyinsaturés oméga 3 et toxicité hépatique de l'éthanol : rôle du remodelage membranaire ». *Nutrition Clinique et Métabolisme* 28 (1): 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2013.10.003>.
- Shay, Kate Petersen, Régis F. Moreau, Eric J. Smith, Anthony R. Smith, et Tory M. Hagen. 2009. « Alpha-Lipoic Acid as a Dietary Supplement: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1790 (10): 1149-60. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.07.026>.
- Sies, Helmut. 1985. *Oxidative stress*. London: Orlando : Academic Press.
- Sies, Helmut. 2014. « Role of Metabolic H₂O₂ Generation - REDOX SIGNALING AND OXIDATIVE STRESS* ». *Journal of Biological Chemistry* 289 (13): 8735-41. <https://doi.org/10.1074/jbc.R113.544635>.
- Silvain, C., et C. Chagneau-Derrode. 2006. « Métabolisme de l'éthanol ». *EMC - Hépatologie* 1 (1): 1-8. [https://doi.org/10.1016/S1155-1976\(06\)31589-6](https://doi.org/10.1016/S1155-1976(06)31589-6).
- Simunkova, Miriama, Saleh H. Alwasel, Ibrahim M. Alhazza, Klaudia Jomova, Vojtech Kollar, Miroslav Rusko, et Marian Valko. 2019. « Management of Oxidative Stress and Other Pathologies in Alzheimer's Disease ». *Archives of Toxicology* 93 (9): 2491-2513. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02538-y>.

- Sivaprasad, Rajagopalan, Manickam Nagaraj, et Palaninathan Varalakshmi. 2002. « Lipoic acid in combination with a chelator ameliorates lead-induced peroxidative damages in rat kidney ». *Archives of Toxicology* 76 (8): 437-41. <https://doi.org/10.1007/s00204-002-0350-x>.
- Slepneva, I.A., S.V. Sergeeva, et V.V. Khramtsov. 1995. « Reversible Inhibition of NADPH-Cytochrome P450 Reductase by α -Lipoic Acid ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 214 (3): 1246-53. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2420>.
- Song, Zhenyuan, Ion Deaciuc, Ming Song, David Y.-W. Lee, Yanze Liu, Xiaosheng Ji, et Craig McClain. 2006. « Silymarin Protects Against Acute Ethanol-Induced Hepatotoxicity in Mice ». *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 30 (3): 407-13. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00063.x>.
- Srinivas Reddy, A., Sunil Kumar, et Rajni Garg. 2010. « Hybrid-Genetic Algorithm based Descriptor Optimization and QSAR Models for Predicting the Biological Activity of Tipranavir Analogs for HIV Protease Inhibition ». *Journal of molecular graphics & modelling* 28 (8): 852-62. <https://doi.org/10.1016/j.jmkgm.2010.03.005>.
- Stone, William L., Tram Pham, et Shamim S. Mohiuddin. 2020. « Biochemistry, Antioxidants ». In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541064/>.
- Suzuki, Yuichiro J., Masahiko Tsuchiya, et Lester Packer. 1994. « [45] Determination of Structure-Antioxidant Activity Relationships of Dihydrolipoic Acid ». In *Methods in Enzymology*, 234:454-61. Oxygen Radicals in Biological Systems Part D. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)34116-8](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)34116-8).
- Taburet, A.M., et V. Furlan. 2000. « Le système des cytochromes P450 : définition, rôle et implication dans la pharmacocinétique des anti-infectieux ». *La Lettre de l'Infectiologue*, La Lettre de l'Infectiologue, Tome XV- (1): 12-17.
- Talbi, H., Awatif Boumaza, KARYM EL-Mostafa, Jalal Talbi, et Abderraouf Hilali. 2015. « Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.) ». *Journal of Materials and Environmental Science* 6 (janvier): 1111-17.

- Tebani, Meriem. 2014. « L'apport du sélénium et de la vitamine E dans la toxicité du nickel chez le rat Wistar Albinos ». Doctorat LMD (3ème Cycle), Annaba: Université Badji Mokhtar.
- Teichert, Jens, Robert Hermann, Peter Ruus, et Rainer Preiss. 2003. « Plasma Kinetics, Metabolism, and Urinary Excretion of Alpha-Lipoic Acid Following Oral Administration in Healthy Volunteers ». *The Journal of Clinical Pharmacology* 43 (11): 1257-67. <https://doi.org/10.1177/0091270003258654>.
- Teixeira-Clerc, Fatima. 2015. « Effets hépatiques de l'alcool ». *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 50 (2): 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2014.12.002>.
- Tejero, Ismael, Angels González-Lafont, José M. Lluch, et Leif A. Eriksson. 2004. « Photo-Oxidation of Lipids by Singlet Oxygen: A Theoretical Study ». *Chemical Physics Letters* 398 (4): 336-42. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2004.09.093>.
- Tessier, F, et P Marconnet. 1995. « Radicaux libres, systkmes antioxydants et exercice » 10 (1-13).
- Thirunavukkarasu, V., et C. V. Anuradha. 2004. « Influence of Alpha-Lipoic Acid on Lipid Peroxidation and Antioxidant Defence System in Blood of Insulin-Resistant Rats ». *Diabetes, Obesity & Metabolism* 6 (3): 200-207. <https://doi.org/10.1111/j.1462-8902.2004.00332.x>.
- Thomsen, René, et Mikael H. Christensen. 2006. « MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking ». *Journal of Medicinal Chemistry* 49 (11): 3315-21. <https://doi.org/10.1021/jm051197e>.
- Tisdall, James D. 2002. *Introduction à Perl pour la bioinformatique*. O'Reilly Media, Inc.
- Topsakal, Senay, Ozlem Ozmen, Fatma Nihan Cankara, Sukriye Yesilot, Dilek Bayram, Nilüfer Genç Özdamar, et Sümeyra Kayan. 2016. « Alpha Lipoic Acid Attenuates High-Fructose-Induced Pancreatic Toxicity ». *Pancreatology* 16 (3): 347-52. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2016.03.001>.
- Torres, Pedro H. M., Ana C. R. Soderó, Paula Jofily, et Floriano P. Silva-Jr. 2019. « Key Topics in Molecular Docking for Drug Design ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (18). <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>.

- Trabut, J.-B., V. Thépot, P. Sogni, et S. Pol. 2012. « Hépatite alcoolique aiguë ». *La Revue de Médecine Interne* 33 (6): 311-17. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2012.02.002>.
- Tsimikas, Sotirios, et Joseph L. Witztum. 2000. « The Oxidative Modification Hypothesis of Atherogenesis ». In *Oxidative Stress and Vascular Disease*, édité par John F. Keaney, 224:361. *Developments in Cardiovascular Medicine*. Boston: Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4649-8>.
- Valko, M., C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, et M. Mazur. 2006. « Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer ». *Chemico-Biological Interactions* 160 (1): 1-40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>.
- Van Ravenzwaay, B, et E Leibold. 2004. « A Comparison between in Vitro Rat and Human and in Vivo Rat Skin Absorption Studies ». *Human & Experimental Toxicology* 23 (9): 421-30. <https://doi.org/10.1191/0960327104ht471oa>.
- Villamena, Frederick A. 2013. « Chemistry of Reactive Species ». In *Molecular Basis of Oxidative Stress: Chemistry, Mechanisms, and Disease Pathogenesis*, 1-48. the United States of America: Wiley.
- Waluga, Marek, et Marek Hartleb. 2003. « Alcoholic liver disease ». *Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)* 56 (1-2): 61-70.
- Wang, Tao, Ping Yang, Yibei Zhan, Lin Xia, Zichun Hua, et Jianfa Zhang. 2013. « Deletion of Circadian Gene Per1 Alleviates Acute Ethanol-Induced Hepatotoxicity in Mice ». *Toxicology* 314 (2-3): 193-201. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2013.09.009>.
- Warling, Odile, A. F. Oger, Anne Lamproye, Violaine Bernard, Audrey Marting, Olivier Detry, Edouard Louis, et Jean Delwaide. 2019. « L'hépatite alcoolique aiguë. » *Revue médicale de Liege* 74 (5-6). <https://orbi.uliege.be/handle/2268/238273>.
- Watson, Ronald Ross. 2017. *Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging*. 1st éd. London ; San Diego: Academic Press Inc.
- Wawro, Karolina, Mateusz Wawro, Magdalena Strzelecka, Maria Czarnek, et Joanna Bereta. 2019. « The Role of NF-KB and Elk-1 in the Regulation of Mouse ADAM17 Expression ». *Biology Open* 8 (2): bio039420. <https://doi.org/10.1242/bio.039420>.

- Winiarska, Katarzyna, Dominika Malinska, Konrad Szymanski, Marta Dudziak, et Jadwiga Bryla. 2008. « Lipoic Acid Ameliorates Oxidative Stress and Renal Injury in Alloxan Diabetic Rabbits ». *Biochimie* 90 (3): 450-59.
- Yan, Sheng-lei, Zhi-hong Wang, Hsiu-fang Yen, Yi-ju Lee, et Mei-chin Yin. 2016. « Reversal of Ethanol-Induced Hepatotoxicity by Cinnamic and Syringic Acids in Mice ». *Food and Chemical Toxicology* 98 (décembre): 119-26.
- Ying, Zhekang, Nisharahmed Kherada, Britten Farrar, Thomas Kampfrath, Yiucho Chung, Orlando Simonetti, Jeffrey Deiuliis, et al. 2010. « Lipoic Acid Effects on Established Atherosclerosis ». *Life Sciences* 86 (3-4): 95-102.
- Young, Andrew J., et Gordon L. Lowe. 2018. « Carotenoids—Antioxidant Properties ». *Antioxidants* 7 (2): 28. <https://doi.org/10.3390/antiox7020028>.
- Young, D. S., D. W. Thomas, R. B. Friedman, et L. C. Pestaner. 1972. « Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests ». *Clinical Chemistry* 18 (10): 1041-1303. <https://doi.org/10.1093/clinchem/18.10.1041>.
- Zhang, Hua, et Rong Tsao. 2016. « Dietary Polyphenols, Oxidative Stress and Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects ». *Current Opinion in Food Science* 8 (avril): 33-42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>.
- Zhang, Wei-Jian, et Balz Frei. 2001. « A-Lipoic Acid Inhibits TNF- α -induced NF- κ B Activation and Adhesion Molecule Expression in Human Aortic Endothelial Cells ». *The FASEB Journal* 15 (13): 2423-32. <https://doi.org/10.1096/fj.01-0260com>.
- Zhao, Feng, et Zai-Qun Liu. 2011. « Comparison of Antioxidant Effectiveness of Lipoic Acid and Dihydrolipoic Acid ». *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 25 (4): 216-23. <https://doi.org/10.1002/jbt.20378>.

A decorative rectangular border with calligraphic flourishes at each corner and small curls at the midpoints of each side. The border is composed of thick black lines.

Annexes

Annexe 01 : Réalisation de l'amarrage moléculaire

✓ **Préparation de l'accepteur ;**

1. File > Read Molecule (R) > Select Macromolecule
2. Edit > Hydrogens > Add > Polar Only >OK
3. Edit > Hydrogens > Merge Non Polar
4. Edit > Charges > Add Kolman Charges > Ok
5. Grid > Macromolécule > Choose > R > Select molecule > OK > enregistré > R.pdbqt
6. File > Read Molecule > Select Ligand (L)
7. Edit > Hydrogens > Add > Polar Only >OK
8. Edit > Hydrogens> Merge Non Polar
9. Ligand > input > Choose > L > select molecule
10. Ligand > output > Enregistre L.pdbqt
11. Fermé le AutoDock

✓ **Chargement de récepteur et du ligand ;**

12. Open AutoDock
13. Grid > Macromolecule > Open > R.pdbqt
14. Grid > Set Map Type > Open ligand > L.pdbqt

✓ **Configuration des paramètres de l'AutoGrid ;**

15. Grid > Grid Box > Centre > Centre on ligand
16. Grid > Output > enregistrer 1. GPf

✓ **Exécution de l'AutoGrid**

✓ **Exécution de l'AutoDock**

17. Docking > Macromolecule > set rigide filename > R.pdbqt
18. Docking > ligand > choose > L.pdbqt
19. Docking > Search Parametre > Genetic algorithm
20. Docking > Docking parameter
21. Docking > output > Genetic ALgorithme (4.2) > Save 1.gpf
22. Autodock4.exe -p 1.dpf -l 1.dlg

✓ **Analyse de résultats.**

Annexe 02 : Test RMSD

<i>Numéro</i>	<i>Complexe</i>	<i>Ligands</i>	<i>RMSD</i>
<i>1</i>	1AIM	ZYA	1,17
<i>2</i>	1GEM	HEM	0,62
<i>3</i>	1KXN	HEM	0,29
<i>4</i>	1DIF	A85	2,6
<i>5</i>	6MJM	GOL	0,41
<i>6</i>	5IBY	LPA	0,55
<i>7</i>	6JOM	AQL	1,92
<i>8</i>	1HTP	OSS	2,2
<i>9</i>	2EWN	BTX	1,16
<i>10</i>	4JWL	HRC	0,41
<i>11</i>	1VTH	DM1	0,63
<i>12</i>	2HNI	ACY	1,03
<i>13</i>	5KML	6UH	0,61
<i>14</i>	6RBW	JXB	0,84
<i>15</i>	2BR7	PEE	0,88
<i>16</i>	1VTI	DM1	1,63
<i>17</i>	9JDW	ABA	0,77
<i>18</i>	110d	DM1	1,4
<i>19</i>	6RR2	MTA	0,71
<i>20</i>	3CDU	ACT	0,84