الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement Supérieure et de la

Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

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

Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département : Biologie

Thème

Évaluation de l'effet neuroprotecteur de la Spiruiline contre un produit chimique inducteur de la neurotoxicité chez un organisme model, *Drosophila melanogaster* : Aspect biochimique

Présenté par :

- **KECHITI Amel**
- **MERAI Ikhlas**

Devant le jury composé de :

Présidente :	**Mme. LAAYADA Samiha**	**M.A.B.**	**Université de Guelma**
Examinatrice :	**Mme. ROUAIGUIA Meriem**	**M.C.B.**	**Université de Guelma**
Encadreur :	**Mme. ELBAH Djamila**	**M.C.B.**	**Université de Guelma**

Session Juin 2024

Remerciement

Au terme de ce travail, nous remercions Dieu tout-puissant de nous avoir donné la santé et la volonté de commencer et d'achever notre travail.

Nous tenons à remercier ***Dr. Laayada Samiha*** *d'avoir accepté de diriger de présider le jury de la soutenance. Nous remercions également le professeur* ***Dr. Rouaiguia Meriem*** *d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

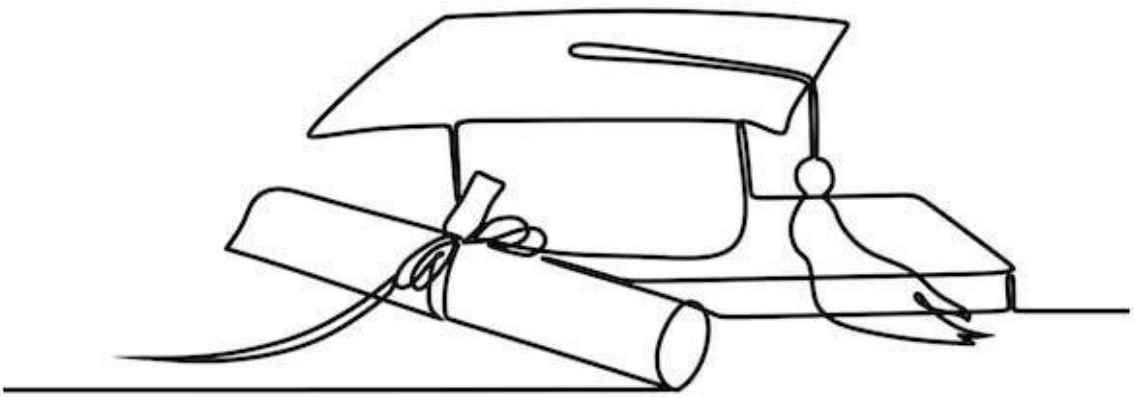
Nous sommes honorés et ravis d'exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre superviseur, ***Dr. Elbah Djamila*** *pour son aide inestimable, ses conseils et le temps qu'elle nous a accordé pour superviser notre travail.*

Nous tenons également à remercier tous les membres du laboratoire de notre université, 8 mai 1945, Guelma.

Nous remerciements les plus sincères et les plus profonds à tout le personnel du laboratoire et à tout le personnel de l'université.

Un grand merci aux enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, pour la richesse et la qualité de leur enseignement tout au long de l'année.

Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.



Dédicace

Après une carrière scolaire pleine de fatigue et de joie, me voici aujourd'hui à l'aube de mon diplôme, alors remercions Dieu pour l'opportunité des commencements et la réalisation des fins

Je dédie mon succès à celui dont je porte le nom avec fierté, à celui qui s'est efforcé tout au long de sa vie d'être meilleur que lui, à celui qui m'a soutenu sans limites et m'a donné sans baisser, ***"mon cher père"***

À celle qui m'a soutenu et inspiré pour poursuivre mon voyage, et qui a facilité mes difficultés par ses prières, à la lampe qui a éclairé mon chemin, ***"ma chère mère"***

Que Dieu la protège

À ceux qui m'ont soutenu et inspiré pour poursuivre mon voyage ; à ceux qui m'ont comblé d'amour et de conseils ; à ceux qui ont toujours été l'ombre de ce succès, mes sœurs et mon frère ***" Alaa, Amani et Mohammed Sadr Aldin"***

À ma collègue ***Ikhlas****, qui a partagé les moments de fatigue et de joie tout au long du parcours de ce travail*

À mes amis proches, ***"Fatima Zahra, Kawthar et Nourhane"***

À ceux qui m'ont donné de la force et des conseils, qui ont cru en moi et m'ont soutenu dans les moments difficiles pour arriver là où je suis aujourd'hui, vous êtes mon soutien pour la vie, ***" ma chère famille"***

Amel

Dédicace

Après une carrière scolaire pleine de fatigue et de joie, me voici aujourd'hui à l'aube de mon diplôme, alors remercions Dieu pour l'opportunité des commencements et la réalisation des fins

Je dédie mon succès à celui dont je porte le nom avec fierté, à celui qui s'est efforcé tout au long de sa vie d'être meilleur que lui, à celui qui m'a soutenu sans limites et m'a donné sans baisser, ***"mon cher père"***

À celle qui m'a soutenu et inspiré pour poursuivre mon voyage, et qui a facilité mes difficultés par ses prières, à la lampe qui a éclairé mon chemin, ***"ma chère mère"*** *que Dieu la protège*

A ceux qui m'ont soutenue et inspirée pour continuer mon voyage, à ceux qui m'ont comblée d'amour et de conseils, à ceux qui ont été mon ombre dans cette réussite, mes sœurs et mes frères ***" Saousane, Hanane, Racha, Mourade, Abdesalame, et Lotfi"***

Sans oublier mon cher frère « ***Riyad »*** *Que Dieu ait son âme*

À ma collègue ***Amel****, qui a partagé les moments de fatigue et de joie tout au long du parcours de ce travail*

À ceux qui m'ont donné de la force et des conseils, qui ont cru en moi et m'ont soutenu dans les moments difficiles pour arriver là où je suis aujourd'hui, vous êtes mon soutien pour la vie, ma chère famille

Ikhlas

Table des matières

Remerciements

Table des matières

Liste tableaux

Liste des figures

Liste d'abréviation

Résumé

Introduction : 1

Chapitre I : Neurodégénération, Oxydation & Molécules neuroprotectrices

1. Neurotoxicité 4

2. Maladies neurodégénératives (MND) 4

3. Stress oxydatif 5

3.1. Introduction 5

3.2. Stress oxydatif au niveau cellulaire 6

3.3. Stress oxydatif au niveau neurologique 7

4. Neuroprotection 10

5. Antioxydants végétaux 11

5.1. Introduction 11

5.2. Mécanisme antioxydant 13

5.2.1. Transfert d'atome d'hydrogène 13

5.2.2. Transfert mono-électronique d'électron 14

5.2.3. Chélation des métaux de transition 14

Chapitre II : la spiruline

1. Définition 16

2. Morphologie 17

3. Cycle biologique de reproduction 17

4. Classification taxonomique 18

5. Composition de la spiruline 19

5.1. Protéines 19

5.2. Glucides 20

5.3. Lipides 20

5.4. Minéraux 21

5.5. Vitamines 21

5.6. Enzymes 22

5.7. Pigment 22

5.7.1. Chlorophylle 22

5.7.2. Phycocyanine 22

5.7.3. Béta-carotène 22

6. Principales applications de la spiruline 23

6.1. En alimentation humaine 23

.6 2.En alimentation animale 23

6.3. En cosmétique 24

6.4. En thérapeutique 24

Chapitre III : l'Acrylamide

1. Définition et structure de l'acrylamide 26

2. Propriétés physico-chimiques de l'acrylamide 28

2.1. Propriétés chimiques 28

2.2. Propriétés physiques 28

3. L'acrylamide dans les aliments 29

4. Voies de formation de l'acrylamide 30

4.1. La réaction de Maillard 30

4.1.1 Les différentes étapes de la réaction 30

4.1.2. Les produits de Maillard indésirables dans les aliments 31

4.1.3. Impact santé des produits de Maillard alimentaires..... 31

5. La toxicité de l'ACR..... 32

5.1. Toxicité expérimentale..... 32

5.1.1. Toxicité aiguë..... 32

5.1.2. Toxicité sub-chronique et chronique 32

5.2. Toxicité sur l'homme..... 34

5.2.1. Toxicité aigüe 34

5.2.2. Toxicité chronique..... 34

Matériels et méthodes

1. Préparation des extraits de la spiruline..... 37

1.1. Extrait aqueux 37

1.2. Extrait hydro-méthanolique..... 38

2. Quantification des polyphénols, flavonoïdes et phyco-cyanines 39

2.1. Dosage des composés phénoliques totaux..... 39

2.1.1. Principe 39

2.1.2. Mode opératoire 39

2.2. Dosage des flavonoïdes..... 40

2.2.1 Principe 40

2.2.2. Mode opératoire 40

2.3. Dosage des phycocyanines (Extraction par sonification)..... 41

3. L'évaluation de l'activité anti-oxydante de la spiruline ¨in Vitro¨ 43

3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle)..... 43

3.1.1. Principe 43

3.1.2. Mode opératoire 43

4. L'évaluation de l'activité neuro-protectrice de la spiruline ¨in Vivo¨ 45

4.1. Présentation de model d'insecte utilisé..... 45

4.1.1. Description de la drosophile ¨Drosophila melanogaster¨ 45

4.1.2. Position systématique 45

4.1.3. Caractéristiques 46

4.1.4. Cycle de vie de D. melanogaster 47

4.1.5. Technique d'élevage 48

4.2. Étude toxicologique de l'Acrylamyde 49

4.3. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) 51

4.3.1. Mode opératoire 51

4.4. Dosage de protéine 52

4.4.1. Mode opératoire 52

5- Comportement locomotoire : 53

6. Analyses statistiques des données 53

6.1. Tests de toxicité 54

Résultats et discussion

1. Dosage des principes actifs de la Spiruline 56

1.1. Dosage des composés phénoliques totaux 56

1.2. Dosage des Flavonoïdes 56

1.3. Dosage de Phycocyanine 58

2. Évaluation de l'activité antioxydante de la Spiruline (In vitro) 59

2.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1pierylhydrazyl) 59

3. Évaluation de l'activité neuroprotectrice de la Spiruline (*In vivo*) 60

3.1. Toxicité aiguë in vivo de l'Acrylamide 60

3.2. Effet de la Spiruline sur l'activité spécifique d'Acéthylcholinesterase 63

3.3. Comportement locomotoire 65

Conclusion 67

Références bibliographiques 69

Liste des figures

Figure 1. Facteurs affectant la neurodégénérésense dans les troubles neurologiques (Farooqui, 2010)..... 5
Figure 2. Les ROS cellulaires constitués d'espèces oxygénées radicalaires et non radicalaires (Ye et al., 2015)..... 7
Figure 3. La susceptibilité des neurones au stress oxydatif (Cobley et al., 2018). 8
Figure 4. Stress oxydatif au niveau des biomolécules (Sivandzade et al., 2019)..... 10
Figure 5 . Les antioxydants fréquemment rencontrés (He et al., 2012). 12
Figure 6. Structure des principales sous-classes de flavonoïdes (Bakoyiannis et al., 2019)... 13
Figure 7. Mécanisme de chélation des métaux de transition par la Quercétine (Leopoldini et al., 2011)..... 14
Figure 8 : Spirulines observées au microscope : Spiruline platensis (a) et Spirulina maxima (b) (Ahounou, 2018)..... 16
Figure 9 : Les différents aspects de la spiruline. (A) spiralés, (B) ondulée, (C) droite. (Goulamabasse, 2018)..... 17
Figure 10 : Cycle de vie de la spiruline (Balloni et al., 1980 in Charpy, 2008). 18
Figure 11 : Positionnement de la Spiruline par rapports à d'autres aliments (Site. 01)..... 19
Figure 12 : Formule chimique de l'acrylamide en 2D et 3D (Belhadj, 2018). 26
Figure 13 : Réactivité de l'ACR (Klein, 2007). 28
Figure 14: Spirulina platensis en poudre..... 37
Figure 15 : Préparation de l'extrait aqueux de la spiruline 38
Figure 16 : Préparation d l'extrait hyméthanolique de la spiruline..... 38
Figure 17 : Protocole expérimental de dosage des polyphénols totaux. 40
Figure 18 : Protocole expérimental de dosage des flavonoïdes. 41
Figure 19: Sonification de la spiruline. 42
Figure 20 : pH mètre 42
Figure 21 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• (entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH). (Molyneux, 2004). 43
Figure 22 : Protocole expérimental de Piégeage du DPPH..... 44
Figure 23 : Adulte de D. melanogaster (site3). 45
Figure 24 : Organes sexuels des drosophiles. (Talbi & Doghbal, 2016). 46
Figure 25 : Peignes sexuels chez les drosophiles mâles. (Talbi & Doghbal, 2016). 47
Figure 26 : Cycle de vie de D. melanogaster. (Kennaz, 2022). 48

Figure 27 : Élevage de D. melanogaster au laboratoire. 49
Figure 28: Traitement des adultes de D. melanogaster par l'acrylamide à différentes concentrations (photo originale)..... 50
Figure 29 : Traitement des adultes de D. melanogaster par la spiruline à différentes concentrations (photos originales) 50
Figure 30 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique. 56
Figure 31 : Droite d'étalonnage de l'acide quercetine 57
Figure 32 : Cinétique d'activité anti-radicalaire des extraits de S. platensis sur le radical DPPH..... 59
Figure 33 : Courbe de surviee chez les adultes de D. melanogaster traités par l'Acrylamide et les deux extraits de la Spiruline..... 60
Figure 34 : Mortalité corrigée chez les larves de D. melanogasters traités par l'Acrylamide 61
Figure 35 : Droite d'étalonnage de l'Albumine 63
Figure 36 : Dosage des protéines chez les adultes de D. melanogaster traités à l'Acrylamide et aux extraits de la Spiruline 64
Figure 37 : Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) chez les adultes de D. melanogaster traités à l'Acrylamide et aux extraits de la Spiruline. 64
Figure 38 : Activité d'escalade chez les adultes de D. melanogaster traités à l'Acrylamide et aux extraits de la Spiruline 65

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Teneur en acides aminés de la spiruline (Site. 01)..... 20
Tableau 2: La teneur moyenne et les principales fonctions des minéraux et oligo-éléments de spiruline (Manet, 2016). 21
Tableau 3: L'identité de la substance : Acrylamide (Reggad & Safir, 2019) 27
Tableau 4: Niveaux d'ACR dans différents aliments (Tessier & Niquet, 2007)..... 29
Tableau 5: Systématique de D. melanogaster 46
Tableau 6: Préparation des tubes à lire 52
Tableau 7: Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage..... 53
Tableau 8: Teneur en polyphénols totaux des deux extraits de la Spiruline..... 56
Tableau 9: Teneur en flavonoïdes des deux extraits de la Spiruline..... 57
Tableau 10 : Concentration et pourcentage de pureté des phycocyanines extraites de la Spiruline par sonification 58
Tableau 11 : Valeur d'IC_{50} pour les extraits de S. platensis et de l'acide ascorbique. 59
Tableau 12 : Paramètres toxicologiques de l'Acrylamide 62

Liste des abréviations :

ACR : acrylamide

H3PW12O40 : Acide phosphotungstique.

H3PMO12O40 : Acide phosphomolybdique.

$Alcl_3$: Trichlorure d'aluminium.

DPPH : α,α-diphényl-β-picrylhydrazyl, C18H12N5O6.

Abs contrôle : Absorbance du contrôle.

Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon.

PC : phycocyanine.

NaH2PO4 : dihydrogénophosphate de sodium.

Na2HPO4 : hydrogénophpsphate de sodium.

TCA : Acide trichloracétique.

BBC : le bleu brillant de coomassie.

BSA : Albumine de Sérum Bovin.

TBS : Solution saline tamponnée au Tris.

NaCl: Chlorure de sodium.

DTNB : (Réactif d'Ellman) (acide 5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoïque).

AChE : acétyle cholinestérase.

Résumé :

L'objectif de notre travail est l'étude de l'activité biologique neuroprotectrice et aussi antioxydante de l'espèce microalgal, la Spiruline, contre l'Acrylamide, un produit chimique très réputé de sa neuro toxicité.

Dans un premier temps, le dosage de certains composés bioactifs a été déterminé ; des valeurs maximales des polyphénols et flavonoïdes (35,41 ± 0,43 et 9,46 ± 0,15 µg EAG/mg) ont été enregistrés à l'extraits hydrométhanolique en comparant avec l'aqueux. La teneur en Phycoyanines a été estimés à 0,06 (mg/ml) avec un ratio de pureté égal à 0,15%.

L'activité antioxydante *''in vitro''* de la spiruline a été évaluée par le test DPPH. L'extrait aqueux a montré une activité de piégeage radicalaire modeste (101.02 µg/ml). En revanche, l'extrait hydrométhanolique semble être le plus puissant à 37.50 µg/ml. En comparant avec l'acide ascorbique.

Nous avons étudié l'impact toxicologique de l'Acrylamide sur un organisme model, il s'agit de *D. melanogaster*. Ce dernier provoque une mortalité importante chez les adultes en fonction de la concentration et du temps d'exposition.

L'objet principal de cette étude consiste à évaluer les effets différés d'une concentration sublétale CL_{50} sur l'activité spécifique de l'AChE. Le taux de ce dernier augmente significativement chez les séries traitées à l'Acrylamide (allant de 0.0075 jusqu'à 0.0171 µM/min/mg de protéines), par rapport aux témoins. Cependant, la Spiruline montre clairement un effet réducteur dans les sériés ou elle est combinée à ce produit chimique.

Grâce à un test de comportement locomotoire, nous avons pu montrer que l'Acrylamide avait un fort impact sur la performance, ce qui signifie qu'il est un perturbateur d'information agit sur le système nerveux et les muscles de l'insecte.

Mots clés : Spiruline, Acrylamide, *D. melanogaster*, molécules bioactives, neurotoxicité, neuroprotection, activité anti-oxydante, l'AChE.

Abstract:

The objective of our work is the study of the neuroprotective and also antioxidant biological activity of the microalgal species, Spirulina, against Acrylamide, a chemical product very renowned for its neurotoxicity.

Firstly, the dosage of certain bioactive compounds was determined; Maximum values of polyphenols and flavonoids (35.41 ± 0.43 and 9.46 ± 0.15 µg EAG/mg) were recorded in the hydromethanolic extracts by comparing with the aqueous. The content of Phycoyanines was estimated at 0.06 (mg/ml) with a purity ratio equal to 0.15%.

The "in vitro" antioxidant activity of spirulina was evaluated by the DPPH test. The aqueous extract showed modest radical scavenging activity (101.02 µg/ml). On the other hand, the hydromethanolic extract seems to be the most powerful at 37.50 µg/ml. Comparing with ascorbic acid.

We studied the toxicological impact of Acrylamide on a model organism, D. melanogaster. The latter causes significant mortality in adults depending on the concentration and exposure time.

The main purpose of this study is to evaluate the delayed effects of a sublethal LC50 concentration on the specific activity of AChE. The rate of the latter increases significantly in the series treated with Acrylamide (ranging from 0.0075 to 0.0171 µM/min/mg of proteins), compared to the controls. However, Spirulina clearly shows a reducing effect in series where it is combined with this chemical.

Thanks to a locomotory behavior test, we were able to show that Acrylamide had a strong impact on performance, which means that it is an information disruptor that acts on the nervous system and muscles of the insect.

Key words: Spirulina, Acrylamide, D. melanogaster, bioactive molecules, neurotoxicity, neuroprotection, antioxidant activity, AChE.

ملخص:

الهدف من عملنا هو دراسة النشاط البيولوجي الوقائي للأعصاب ومضاد للأكسدة أيضًا لأنواع الطحالب الدقيقة، سبيرولينا، ضد مادة الأكريلاميد، وهو منتج كيميائي مشهور جدًا بسميته العصبية.

أولاً، تم تحديد جرعة بعض المركبات النشطة بيولوجياً؛ تم تسجيل القيم القصوى للبوليفينول والفلافونويد (35.41 ± 0.43 و9.46 ± 0.15 ميكروغرام EAG / mg) في المستخلصات الهيدروميثانولية بالمقارنة مع المستخلص المائي. تم تقدير محتوى Phycoyanines بـ 0.06 (ملجم / مل) بنسبة نقاء تساوي 0.15٪.

تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة "في المختبر" للسبيرولينا عن طريق اختبار DPPH. أظهر المستخلص المائي نشاطًا متواضعًا في إزالة الجذور (101.02 ميكروغرام / مل). من ناحية أخرى، يبدو أن المستخلص الهيدروميثانولي هو الأقوى بنسبة 37.50 ميكروغرام/مل. مقارنة مع حمض الاسكوربيك.

قمنا بدراسة التأثير السمي لمادة الأكريلاميد على الكائن الحي النموذجي، D. melanogaster. هذا الأخير يسبب وفيات كبيرة لدى البالغين اعتمادا على التركيز ووقت التعرض.

الغرض الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم التأثيرات المتأخرة لتركيز LC50 دون المميت على النشاط المحدد لـ AChE. يزيد معدل الأخير بشكل ملحوظ في السلسلة المعالجة بالأكريلاميد (يتراوح من 0.0075 إلى 0.0171 ميكرومتر / دقيقة / ملغ من البروتينات)، مقارنة بعناصر التحكم. ومع ذلك، تظهر سبيرولينا بوضوح تأثيرًا مخفضًا في السلسلة حيث يتم دمجها مع هذه المادة الكيميائية.

وبفضل اختبار السلوك الحركي، تمكنا من إثبات أن مادة الأكريلاميد لها تأثير قوي على الأداء، مما يعني أنها معطلة للمعلومات وتعمل على الجهاز العصبي وعضلات الحشرة.

الكلمات المفتاحية: سبيرولينا، أكريلاميد، د. ميلانوجاستر، الجزيئات النشطة بيولوجيا، السمية العصبية، الحماية العصبية، نشاط مضادات الأكسدة، أستيلكولين ايستيراز.

Introduction

Introduction :

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant, appuyé par un grand nombre d'études expérimentales et épidémiologiques sur les effets bénéfiques de certains produits alimentaires d'usage courant dans la prévention de diverses affections pathologiques liées à l'âge allant du cancer aux maladies neurodégénératives **(Graini & Boulguergour, 2022)**.

Les maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer représentent un problème croissant lié aux pathologies du vieillissement cérébral avec l'âge **(Saiidi, 2019)**, qui se caractérisent par une perte progressive et irréversible des fonctions mentales **(Djeha *et al.*, 2008)**. L'accumulation d'un peptide anormal, le peptide bêta-amyloïde, sous forme de plaques et/ou de fibrilles amyloïdes serait l'une des principales causes de ces maladies **(Yankner, 1996)**.

Ainsi, la découverte de molécules capables de prévenir l'agrégation du peptide bêta-amyloïde pourrait mener à une voie thérapeutique potentielle. En effet, l'action des molécules bioactives plantes et des algues sur la protection des cellules du cerveau est maintenant reconnue et confirmée par plusieurs études **(Djeha *et al.*, 2008)**. Les polyphénols et les flavonoïdes sont connus pour leur capacité à interagir avec les protéines **(Haslam, 1974)**. Ils constituent encore une fois des agents bénéfiques éliminant les excès de radicaux d'oxygène pouvant attaquer les membranes cellulaires et ainsi provoquer la mort des cellules. De plus, les polyphénols et les flavonoïdes ont pour effet d'inhiber une enzyme, soit l'acétylcholinestérase, responsable de la dégradation de l'acétylcholine, un des facteurs de ces maladies **(Beaudoin & Latour, 2005)**.

Les algues englobent un groupe diversifié d'organismes, qui possèdent tous de la chlorophylle, ce qui les rapproche des plantes. Ces organismes prospèrent dans les habitats aquatiques ou les zones humides. Dans le domaine des algues, nous rencontrons des formes de vie plus avancées, notamment des eucaryotes unicellulaires et multicellulaires, ainsi que des cyanobactéries, également appelées algues bleu-vert **(Jean *et al.*, 2010)**.

La spiruline, également *Spirulina platensis*, est considérée comme une source alimentaire de haute qualité nutritive, cette micro-algue a été le sujet de nombreuses études dans plusieurs pays **(Saxena, 1982)**. Outre son intérêt nutritionnel, la spiruline présente des propriétés thérapeutiques. Elle renferme plusieurs molécules ayant fait l'objet d'études pour leurs activités biologiques **(Sirnoval, 1993)**. Les résultats des travaux récents menés sur

l'animal puis chez l'homme laissent supposer des propriétés thérapeutiques intéressantes (stimulatrice du système immunitaire, anticancéreuse, antioxydante et antiradicalaire...) qui conviendrait d'approfondir et de confirmer dans les années à venir **(Cruchot, 2008)**. Ainsi de nombreux travaux ont montré que la spiruline est douée d'une activité thérapeutique importante contre certaines infections d'origine microbienne et la mal nutrition protéino-énergétique **(Fox, 1994)**.

L'Acrylamide, est un contaminant alimentaire, appartient à une classe large des toxiques chimiques structurellement similaires, alcènes de type-2, dont les humains sont fortement exposés. De plus, l'exposition occupationnelle à l'Acrylamide a reçu de l'attention ces dernières décennies. Il a été classé comme neurotoxique et il y a trois hypothèse importantes considérant sa neurotoxicité : inhibition du transport axonal rapide de kinase-based, altération des niveaux des neurotransmetteurs, et une inhibition directe de la neurotransmission **(Erkekoglu & Baydar, 2014)**.

C'est dans ce contexte que nous avons voulu évaluer l'effet neuroprotecteur de la Spiruline contre l'Acrylamide, provoquant la neurotoxicité, chez un organisme modèle *Drosophila melanogaster*. Notre étude s'articule sur deux axe : un dosage des principes actifs de la Spiruline : les polyphénols, les flavonoïdes et les phycocyanines et leur activité antioxydante ''in vitro''. D'autre part, on s'est intéressé à son effet neuroprotecteur, évaluant l'activité de l'acétylcholine estérase et l'activité locomotoire chez les adultes de *D. melanogaster*, après un traitement à l'Acrylamide.

En effet, ce travail est structuré en deux parties :

- La première partie consiste en une synthèse bibliographique sur
  - ✓ La neurodégénration, l'oxydation et les molécules neuroprotectrices ;
  - ✓ La Spiruline;
  - ✓ L'Acrylamide.
- Dans la deuxième partie est expérimentale, qui résume le matériel et méthodes utilisés, les différents résultats obtenus, interprétation et discussion et enfin, les principales conclusions tirées lors de cette étude.

Chapitre I : Neurodégénérati-on, Oxydation & Molécules neuroprotectrices

1. Neurotoxicité

Le cerveau humain reste généralement sain sur le plan structurel et fonctionnel pendant plusieurs décennies, malgré le caractère post-mitotique et non régénérateur des neurones. Cela témoigne de la capacité profonde du cerveau à l'homéostasie : les neurones et la glie possèdent des mécanismes intégrés qui leur permettent de mettre en place des réponses adaptatives ou protectrices à des situations potentiellement difficiles, garantissant ainsi le maintien de la viabilité et de la fonctionnalité cellulaires. Cependant certaines substances, dites neurotoxiques, ont la capacité de perturber cet équilibre **(Baxter & Hardingham, 2016)**.

La cytotoxicité est la propriété qu'a un agent chimique ou biologique de provoquer des altérations cellulaires en aboutissant à leur destruction **(Dausset, 1976)**. Les facteurs neurotoxiques sont principalement impliqués dans la perte progressive de neurones **(Sowndhararajan *et al.*, 2018)**. Leur mécanisme d'action implique une perturbation de la membrane cellulaire provoquant une fuite du contenu cellulaire ou bien l'inhibition des fonctions vitales comme le transport d'ion ou la transduction du signal **(Xu *et al.*, 2004)**.

2. Maladies neurodégénératives (MND)

Une maladie neurodégénérative est définie comme une détérioration, souvent irréversible, des facultés intellectuelles et cognitives, elle est généralement associée au vieillissement **(Iriti *et al.*, 2010)**. La cognition fait référence aux processus mentaux liés à l'obtention et à l'utilisation des informations afin de guider les comportements tels que l'apprentissage, la mémoire, l'attention, le langage, la motricité, la perception et la fonction exécutive **(Bakoyiannis *et al.*, 2015)**.

Des troubles cognitifs ont été décrits dans divers troubles neurologiques et neuropsychiatriques, notamment la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et autres types de démence, la schizophrénie, le trouble bipolaire et la dépression **(Froestl *et al.*, 2013)**. Au sens strict, une maladie neurodégénérative est une condition pathologique affectant les neurones en les condamnant à une mort certaine **(Burg, 2017)**. Selon **Sowndhararajan *et al.* (2018)**, les dommages causés aux cellules neuronales constituent le facteur le plus important de nombreux troubles neurodégénératifs. Les symptômes typiques de ces maladies sont l'anxiété, la dépression, le dysfonctionnement moteur, la perte de mémoire et la détérioration cognitive **(Sowndhararajan *et al.*, 2018)**. Ils sont des pathologies multifactorielles induites par des facteurs endogènes et exogènes **(Fig. 1)**.

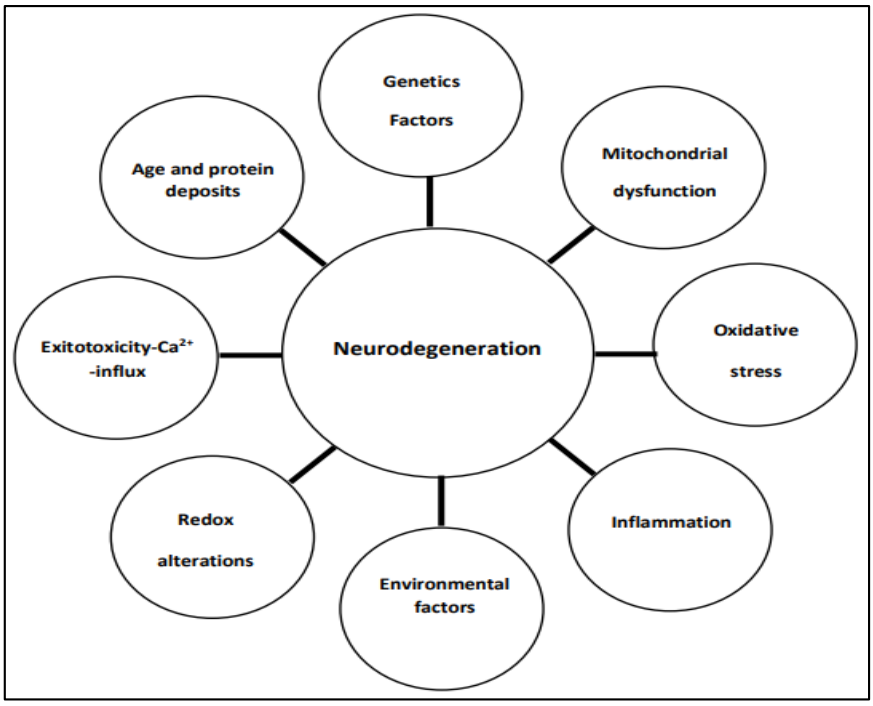


Figure 1. Facteurs affectant la neurodégénérésense dans les troubles neurologiques **(Farooqui, 2010).**

3. Stress oxydatif

3.1. Introduction

Les radicaux libres sont des molécules avec un ou plusieurs électrons non appariés dans leurs dernières orbitales qui en font des molécules instables à la recherche d'électrons des molécules voisines **(Picón-Pagès *et al.*, 2019)**. La production physiologique des espèces réactives oxygénées (ROS) à très basse concentration régule l'activité mitochondriale, les facteurs de transcription, la régulation de la potentialisation à long terme (LTP) et même le tonus vasculaire par la NADPH oxydase (NOX) **(Li & Pagano, 2017)**. Les ROS / RNS sont des messagers de signalisation importants pour la prolifération, la différenciation et d'autres événements critiques au cours du développement **(Ye *et al.*, 2015)**. Ils peuvent également être produits lors de la régulation des fonctions cellulaires létales telles que la mort cellulaire programmée et la réponse immunitaire **(Valko *et al.*, 2006)**.

Les cellules génèrent en permanence des oxydants et produisent des antioxydants **(Holmstrom & Finkel, 2014)**. Malgré leurs tentatives pour atteindre un équilibre sain entre les deux, les organismes rencontrent de nombreuses situations dans lesquelles les niveaux d'oxydant ne sont plus synchroniser avec les systèmes de détoxification de la cellule, générant une condition potentiellement mortelle appelée stress oxydatif **(Reichmann *et al.*, 2018)**.

3.2. Stress oxydatif au niveau cellulaire

Les ROS sont l'anion superoxyde O_2-, le radical hydroxyl ($OH^{\cdot}$), le radical alkoxyl ($RO^{\cdot}$), le radical peroxyl ($ROO^{\cdot}$), le radical hydro-peroxyl ($HO^{\cdot}$) et ceux capable de générer des espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les aldéhydes (HCOR), l'acide chlorhydrique (HCL), les peroxydes organiques (ROOH), l'oxygène singulet ($1O_2$), l'ozone (O_3) et l'oxyde d'azote (NO) **(Picón-Pagès *et al.*, 2019)**.

Les ROS les plus pertinents physiologiquement sont les anions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) et les peroxydes d'hydrogène (H_2O_2). Ils sont constamment produits en tant que sous-produits de la respiration dans la chaine de transport d'électrons mitochondriale (ETC) **(Angelova & Abramov, 2018)** et lors du repliement oxydatif des protéines dans le réticulum endoplasmique, ainsi que par des membres de la famille des NADPH oxydases (NOX) et du cytochrome p_{450} **(Ye *et al.*, 2015) (Fig. 2)**. L'anion superoxyde est facilement converti en peroxyde d'hydrogène par la superoxyde dismutase. Le peroxyde d'hydrogène est ensuite détoxifié par les catalases et les peroxydases **(Holmstrom & Finkel, 2014)** ou transformé en radicaux hydroxyles ($OH^{\cdot}$) lors de la réaction avec des métaux de transition, en particulier les ions Fe^{2}+ et Cu^{2}+ (réaction de Fenton et d'Haber Weiss) **(Jomova & Valko, 2011)**. Les radicaux hydroxyles sont considérés comme l'uns des ROS les plus réactifs, responsables de la plupart des dommages oxydatifs **(Reichmann *et al.*, 2018)**.

Les organismes avaient développé une multitude de systèmes de défense antioxydants pour contrer la production des ROS et pour réparer les dommages oxydatifs. En plus des enzymes de détoxification des ROS tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion S-transférase (GST) et des antioxydants non enzymatiques tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes et les flavonoïdes **(Marengo *et al.*, 2016)**, les cellules utilisent divers systèmes de réparation comme la méthionine sulfoxyde réductase, la thiorédoxine (Trx), la glutarédoxine (Grx), le glutathion (GSH) et le NADPH pour inverser les modifications oxydatives et restaurer l'homéostasie redox **(Nemmiche, 2017) (fig. 2)**.

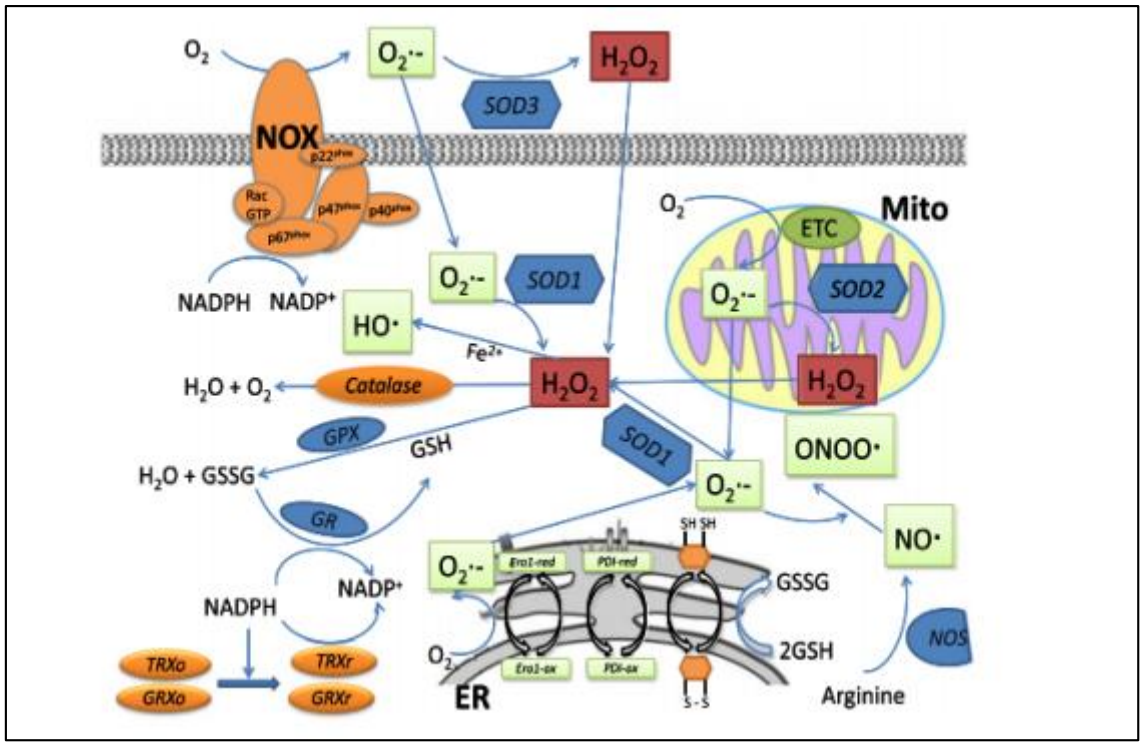


Figure 2. Les ROS cellulaires constitués d'espèces oxygénées radicalaires et non radicalaires **(Ye et al., 2015)**

3.3. Stress oxydatif au niveau neurologique

L'accumulation des ROS est considérée depuis longtemps comme un facteur important du vieillissement et des maladies liées à l'âge **(Haq & Al Amro, 2019)**. D'après Ir**iti *et al.* (2010)**, le stress oxydatif et la neuro-inflammation sont des facteurs clés dans l'étiopathogénie des maladies neurodégénératives et neurologiques. Il est impliqué dans plusieurs pathologies du système nerveux telles que la maladie d'Alzheimer, de Parkinson et de Huntington **(Butterfield, 2014)**.

Les ROS sont produites via la chaîne de transport d'électrons mitochondriale, la plus grande source d'O2.- et d'H2O2 (**Angelova & Abramov, 2018**). L'efficacité de la chaîne de transport d'électrons diminue avec l'âge, ce qui signifie une production accrue de ces deux radicaux libres **(Eckmann *et al.*, 2013)**. Les conséquences physiopathologiques de ce phénomène sont la peroxydation lipidique dans le cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer, de Parkinson, du corps de Lewy, et dans le liquide céphalorachidien des patients atteints de la maladie de Huntington et la sclérose en plaques (**Picón-Pagès *et al.*, 2019)**. En outre, des dommages oxydatifs des protéines, de l'ARN et de l'ADN sont présents dans le cerveau des patients atteints de maladies neurodégénératives **(Blasco *et al.*, 2017)**. Les autres sources pertinentes de ROS sont les NADPH oxydases (NOX), les peroxysomes, les oxydases

neuronales telles que les monoaminoxydases (MAO), la xanthine oxydase, et les lipo-cyclooxygénase pro-inflammatoires. Toutes ces sources alternatives de ROS sont également impliquées dans les processus neurodégénératifs associés au vieillissement **(Picón-Pagès *et al.*, 2019)**. Ainsi, il a été rapporté que les NOX de la microglie et des astrocytes contribuent à la mort neuronale dans la maladie d'Alzheimer **(Chay *et al.*, 2017)**. Des résultats similaires ont été obtenus dans les neurones dopaminergiques contribuant à l'apparition de la maladie de Parkinson **(Zawada *et al.*, 2015)** ou dans l'implication de cellules microgliales dans la progression de la sclérose latérale amyotrophique (SLA) **(Jaronen *et al.*, 2013)**.

Le rôle potentiel des espèces réactives azotées, en particulier le peroxynitrite, dans la physiopathologie des maladies neurodégénératives est pertinent car ses précurseurs l'oxyde nitrique et l'anion superoxyde sont co-localisés dans le tissu cérébral **(Picón-Pagès *et al.*, 2019)**. Les taux de 3-nitrotyrosine, un biomarqueur pour les espèces réactives de l'azote, sont élevés dans les maladies neurodégénératives **(Smith *et al.*, 1997)**.

Le cerveau est l'un des principaux organes susceptibles aux effets néfastes du stress oxydatif par la génération excessive d'espèces réactives à l'oxygène (ROS) **(Cobley *et al.*, 2018) (Fig. 3)**. Il a une capacité limitée à détoxifier les ROS en raison de son faible pouvoir de production de glutathion par les cellules neuronales, son taux métabolique élevé, son taux élevé en ions métalliques, la composition plus riche des neurones en acide gras polyinsaturés sensibles à l'oxydation et surtout de sa capacité limitée de régénération et de réparation par rapport à d'autres organes **(Burg, 2017)**.

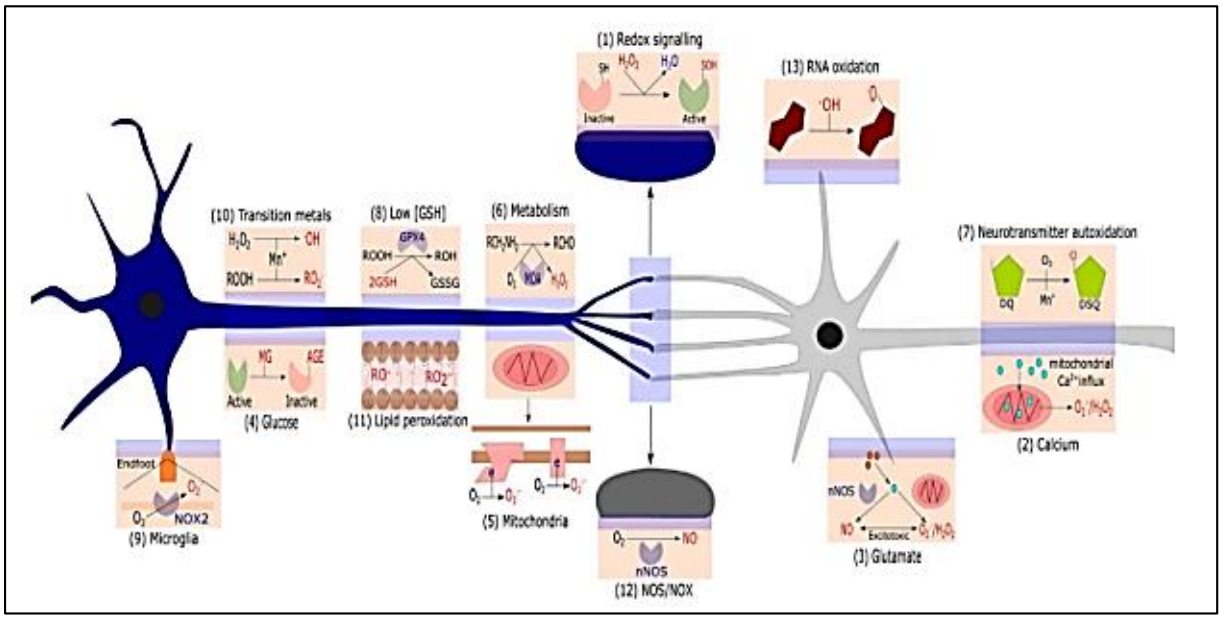


Figure 3. La susceptibilité des neurones au stress oxydatif **(Cobley et al., 2018).**

Selon **Cobley *et al.* (2018),** bien que pesant à peine 1400 g, le cerveau humain consomme environ 20% du budget total en oxygène de base pour alimenter ses quelque 86 milliards de neurones et leur réseau de connexion complexe couvrant des milliards de synapses et environ 250 à 300 billards de cellules gliales. Dans les MND, le système de protection est débordé et n'arrive plus à contrer la production de ROS qui s'accumulent dans les neurones et les conduisent lentement vers leur mort, notamment par le mécanisme d'apoptose **(Reichmann *et al.*, 2018)**. L'accumulation de molécules endommagées et non réparées dans les compartiments cellulaires entraînera une perturbation de l'homéostasie **(Le Bourg, 2001)**. Plusieurs marqueurs du stress oxydant ont notamment été retrouvés dans certaines MND **(Sivandzade *et al.*, 2019) (Fig. 4).** Les dommages au niveau de l'ADN sont clairement apparents dans le cas de la maladie de Parkinson et d'Alzheimer **(Emerit *et al.*, 2004)**. Une présence accrue de fragments protéiques carbonylés indiquant des dommages protéiques a également été rapportée dans tous les troubles neurodégénératifs **(Cheignon *et al.*, 2018)**. De plus, la quantité élevée d'acides gras polyinsaturés (AGPI) présents dans les membranes neuronales rend les tissus cérébraux particulièrement sensibles aux réactions de peroxydation lipidique, entraînant la formation d'aldéhydes cytotoxiques, tels que le malondialdehyde (MDA) et le 4-hydroxynonénal (HNE) **(Haq & Al Amro, 2019)**. Le stress oxydatif pourrait être responsable d'une perturbation de l'intégrité de la membrane. La peroxydation lipidique pourrait être impliquée dans la perte d'asymétrie phospholipidique dans les membranes synaptosomales **(Castegna *et al.*, 2004)**. L'oxydation des lipides dans les systèmes biologiques est responsable d'une multitude d'effets nocifs sur la santé humaine tels que la carcinogenèse, l'inflammation, l'atériosclérose et le vieillissement **(Stocker & Keaney, 2004)**. Elle peut détruire les neurones cholinergiques dans la maladie d'Alzheimer et les neurones dopaminergiques dans la maladie de parkinson **(Khazdair *et al.*, 2018)**.

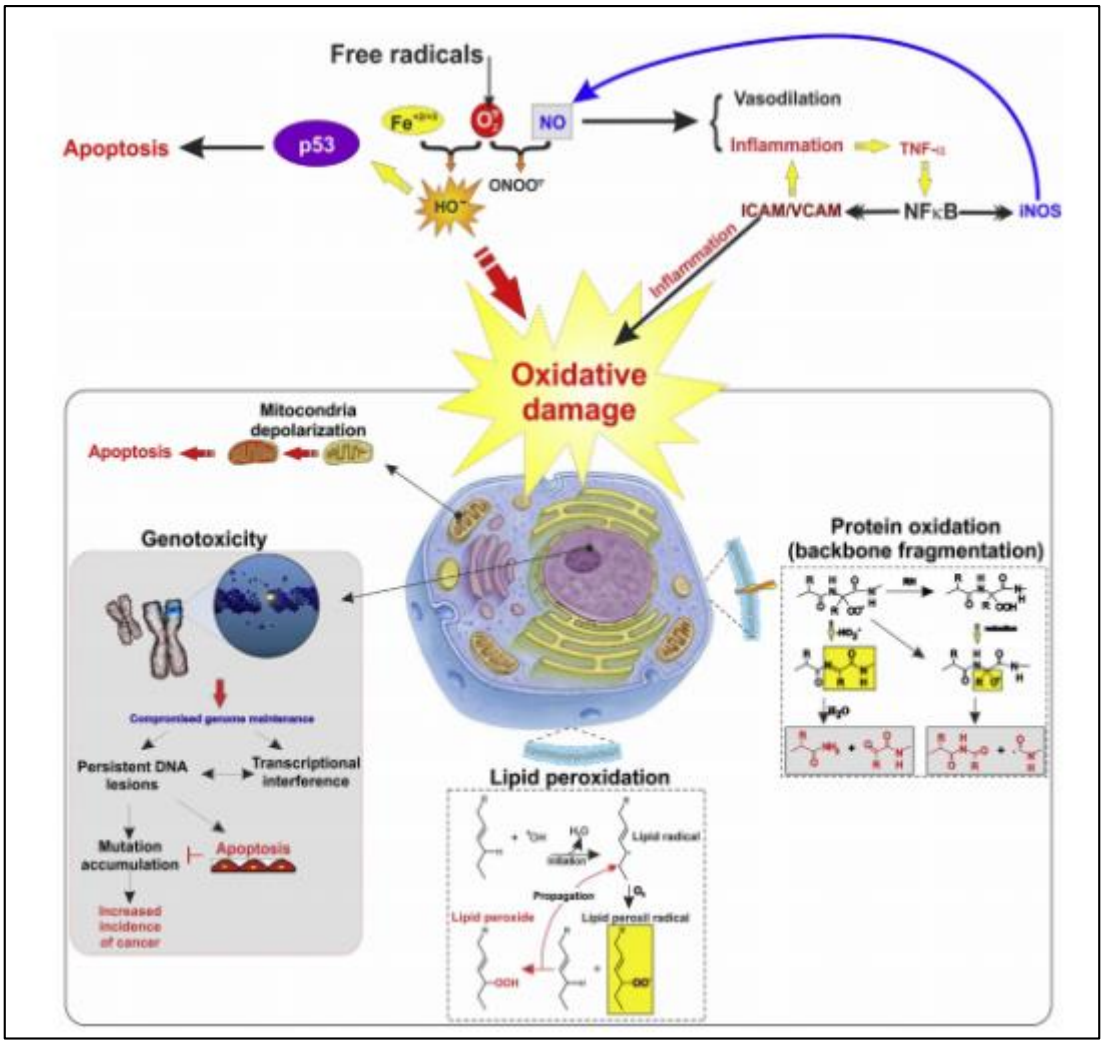


Figure 4. Stress oxydatif au niveau des biomolécules **(Sivandzade et al., 2019).**

4. Neuroprotection

La neuroprotection désigne les stratégies et les mécanismes relatifs capables de défendre le système nerveux central (SNC) contre une lésion neuronale due à des troubles aigus tels que l'accident vasculaire cérébral ou le traumatisme et des troubles chroniques comme l'Alzheimer et la maladie de Parkinson **(Yahiaoui, 2018)**.

Parmi ces stratégies, la phytothérapie peut représenter une précieuse ressource dans la prévention plutôt que dans la thérapie de certaines maladies du SNC **(Iriti *et al.*, 2010)**. Un neuroprotecteur est généralement défini comme un agent qui prévient la mort neuronale en inhibant une ou plusieurs des étapes pathophysiologiques dans les processus qui suivent une lésion du système nerveux, une ischémie ou l'application de neurotoxines. La définition inclut des interventions qui ralentissent ou stoppent la progression de la dégénérescence neuronale **(Abuhamdah, 2014)**.

Les dommages et la mort des cellules neuronales sont principalement responsables de nombreux troubles neurodégénératifs **(Chen *et al.*, 2016)**. À cet égard, la principale cible des agents neuroprotecteurs est de protéger le système nerveux central contre les dommages causés aux cellules neuronales par les lésions cérébrales aiguës ainsi que les maladies neurodégénératives chroniques **(Pak *et al.*, 2016)**.

En médecine traditionnelle, un grand nombre de plantes et algues neuroprotectrices ont été utilisées pour soigner des maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (MA) et d'autres troubles liés à la mémoire **(Yahiaoui, 2018)**.

5. Antioxydants végétaux

5.1. Introduction

Tout composé capable de neutraliser les ROS, sans subir lui-même la conversion en une espèce radicalaire destructrice, peut être considéré comme un antioxydant. D'après **He *et al.* (2012)**, un antioxydant est une substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celles de substrats oxydables, retarde ou inhibe considérablement l'oxydation de ce substrat.

Les polyphénols comprennent une grande classe d'antioxydants **(Fig. 5)** tels que les flavonoïdes, les anthocyanines, les acides phénoliques, les tanins, les lignanes et les stilbènes. Ils ont suscité un intérêt croissant de la part des scientifiques, consommateurs et des fabricants au cours des dernières décennies en raison de nombreux avantages pour la santé tels que leurs propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires, antiallergiques, hépatoprotectrices, antithrombotiques, antivirales, anticancéreuses et vasodilatatrices **(Rodrigo *et al.*, 2011)**.

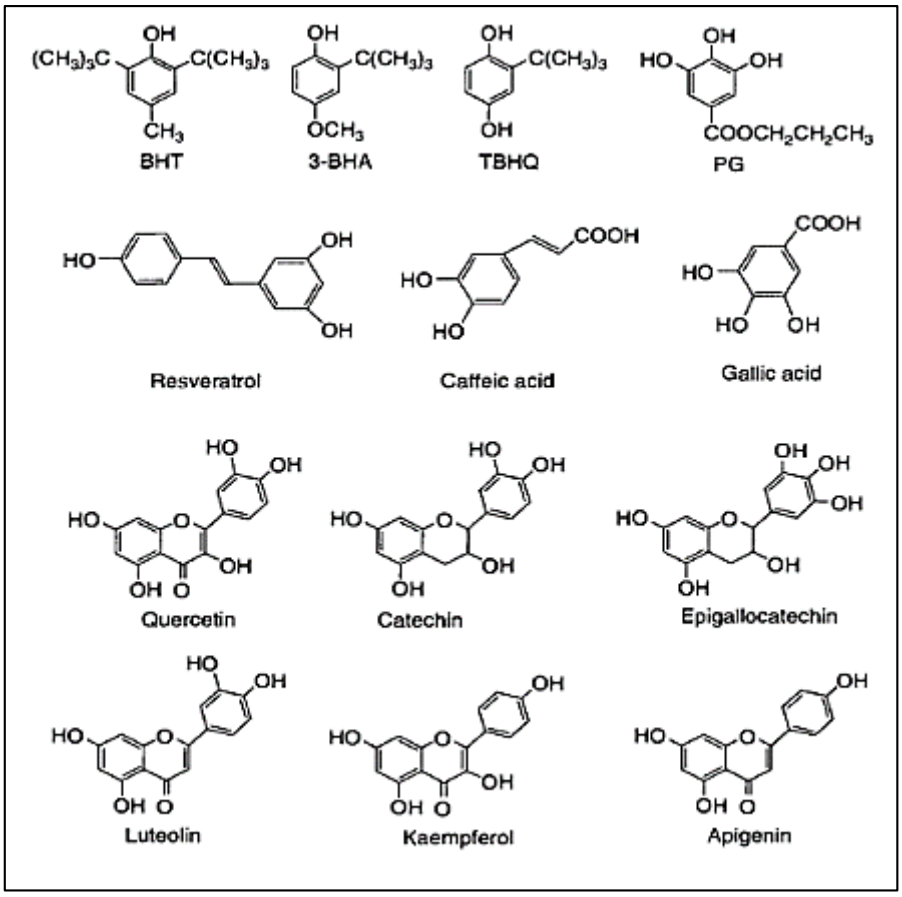


Figure 5 . Les antioxydants fréquemment rencontrés (**He et al., 2012**).

Les flavonoïdes sont de puissants antioxydants **(Bakoyiannis *et al.*, 2019)**. Le squelette flavonoïde est composé de deux cycles carbonés aromatiques : A et C (cycles benzopyrane) et B (cycle benzène**) (Bakoyiannis *et al.*, 2019)**. Leur classification est corrélée au degré d'oxydation du cycle C, au schéma d'hydroxylation de la structure du cycle et à la substitution en 3 positions. Ainsi, la diversité du nombre et de la disposition des groupes hydroxyle, combinée à leur glycosylation et / ou alkylation, conduit à la dis-similarité entre les catégories (**Ververidis *et al.*, 2007) (Fig. 6)**.

Les acides phénoliques sont divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque comme l'acide gallique ou vanillique et les dérivés de l'acide cinnamique comme l'acide caféique, coumarique, sinapique et férulique. Ces derniers ont une bonne activité antioxydante **(Kochetova *et al.*, 2007)**.

Les tanins sont des polyphénols de structure complexe, avec une activité antioxydante très puissante due au piégeage de l'O_2^-. Les deux familles les plus importantes sont les gallotanins et les ellagitanins **(Anderson *et al.*, 1995)**.

Les stilbènes sont des polyphénols présents dans de nombreuses familles de plantes supérieures. Le resvératrol par exemple est un bon antioxydant contre l'oxydation des LDL **(Wu & Hsieh, 2011)**.

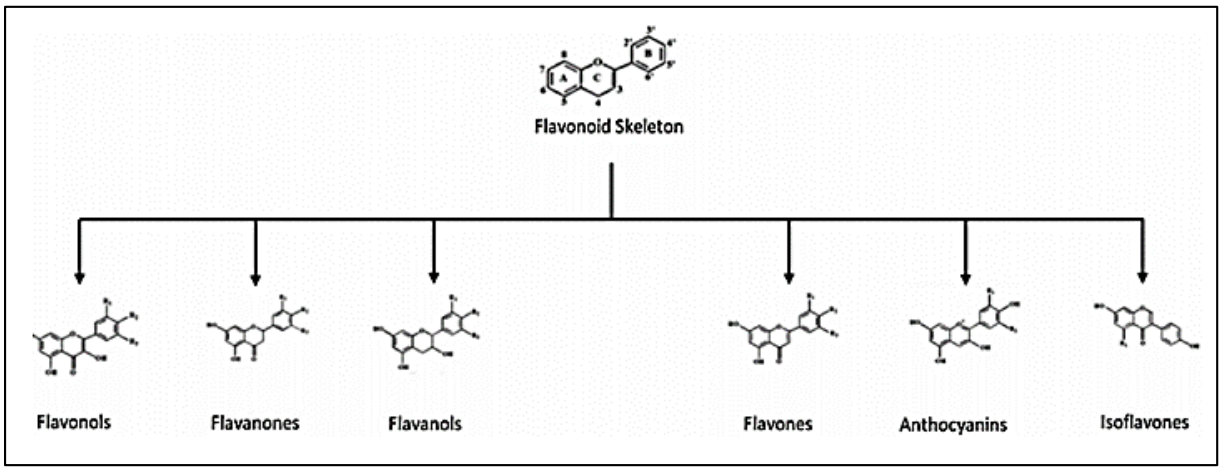


Figure 6. Structure des principales sous-classes de flavonoïdes **(Bakoyiannis et al., 2019).**

Les alcaloïdes sont l'uns des antioxydants majeurs dans les produits naturels, et leurs activités antioxydantes avaient été démontré dans plusieurs études antérieures **(Gan *et al.*, 2017).**

5.2. Mécanisme antioxydant

Les principaux oxydants dans les milieux biologiques sont les radicaux libres et les métaux de transition. Les antioxydants, principalement les polyphénols, désactivent les radicaux libres via trois mécanismes :

5.2.1. Transfert d'atome d'hydrogène

L'antioxydant phénolique agit avec le radical libre par transfert d'un atome d'hydrogène via la rupture homolytique de la liaison O-H

Les produits de cette réaction sont la forme réduite (RH) du radical néfaste, et le radical ArO• (forme oxydée de l'antioxydant). Bien que cette réaction donne naissance à un autre radical libre, celui-ci est moins réactif **(Leopoldini *et al.*, 2011)**.

5.2.2. Transfert mono-électronique d'électron

Dans ce mécanisme, un électron est transféré au radical libre $R^{\bullet}$. L'anion R^{-} et le cation radical $ArOH^{+\bullet}$ ainsi formé sont généralement des entités stables.

Le potentiel d'ionisation est le facteur déterminant du pouvoir piégeur d'électrons. Un potentiel bas implique un arrachement facile d'électron et en conséquence une réaction avec le radical libre **(Leopoldini *et al*., 2011)**.

5.2.3. Chélation des métaux de transition

Le dommage oxydatif est un processus multiphasique impliquant des étapes d'initiation et de propagation de la chaîne radicalaire. Un mécanisme important de l'action antioxydante est la chélation des métaux de transition, empêchant ainsi la catalyse de la décomposition du peroxyde d'hydrogène via la réaction de type Fenton **(Bush, 2003)**. D'après **Leopoldini *et al*. (2011)**, il y a trois sites potentiels pour que le métal se lie à la Quercétine **(Fig. 7)**

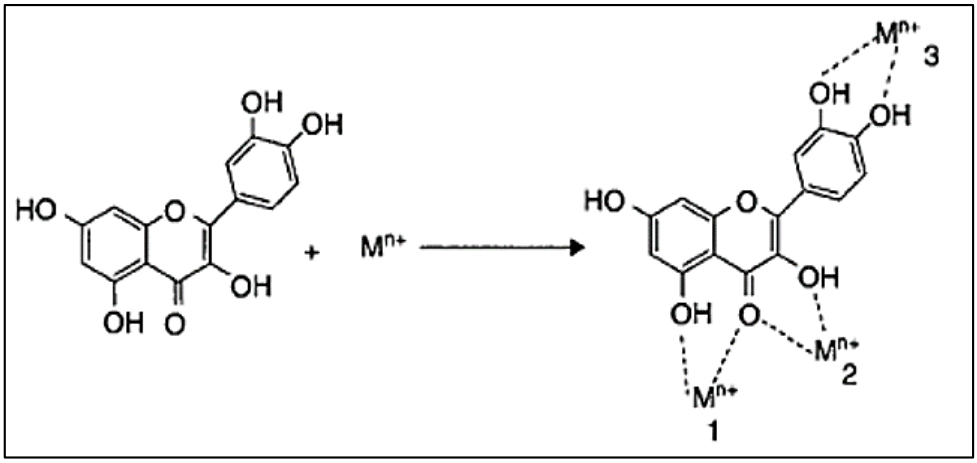


Figure 7. Mécanisme de chélation des métaux de transition par la Quercétine **(Leopoldini et al., 2011).**

Chapitre II : La Spiruline

1. Définition

La spiruline est une micro algue bleu-vert photosynthétique, filamenteuse et multicellulaire qui pousse dans une large gamme d'eau douce, marine et saumâtre il pousse bien dans un environnement hautement alcalin de pH 10-12 **(Marrezl *et al*., 2018)**.

Ces derniers forment la plupart des bactéries capables de photosynthèse et de production d'oxygène. Ils peuvent être unicellulaires ou multicellulaires ; dans ce dernier cas, leurs cellules s'organisent en amas de type colonie ou, plus communément, en filaments constitués de cellules alignées. Ces filaments sont appelés trichomes **(Toudert & Bouzidi, 2020)**.

Il existe deux principaux types de spiruline :

- *Spirulina platensis* du Tchad : la plus connue et la plus cultivée. Elle a un jusqu'à 350microns de longueur et entre 6 et 12,45 microns de diamètre ;
- Spiruline Géante du Mexique : elle se caractérise par des trichomes de 70 à 80 µm de long, 7-9 µm de diamètre, légèrement effilé aux extrémités **(Arbaoui & Bourdjiba, 2022)**.

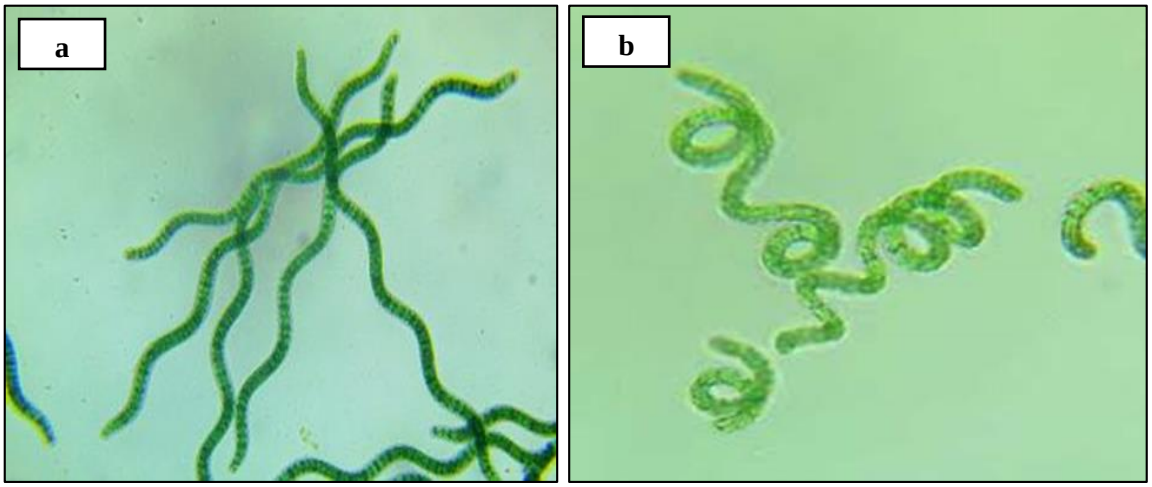


Figure 8 : Spirulines observées au microscope : Spiruline platensis (a) et Spirulina maxima (b) **(Ahounou, 2018)**

2. Morphologie

La spiruline a une morphologie très variable, selon la souche et les conditions de milieu de culture. Elle se compose de cellules végétatives qui présentent des parois facilement visibles, empilées bout à bout, appelées filaments ou trichomes **(Charpy *et al*., 2008)**.

La principale caractéristique morphologique du genre est l'arrangement de ces trichomes. Ces derniers, enveloppés d'une gaine très fine, présentent des réductions plus ou moins prononcées aux parois, non ramifier, avec un diamètre d'environ 10 à 12 µm et une longueur moyenne de 250 µm quand elle possède sept spires, flottent librement et présentent une motilité glissante **(Charpy *et al*., 2008)**.

Les facteurs environnementaux, principalement la température, les conditions physiques et le milieu de culture, peuvent affecter la géométrie de l'hélice, par conséquence, cette cyanobactérie montre une grande variété morphologique :

- Spiralées : désigne les souches dont les filaments on la forme du ressort **(Fig. 9-A)**.
- Ondulées : désigne les souches dont les filaments sont en spirale étirée **(Fig. 9-B)**.
- Droites : désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'ils donnent l'impression d'être presque rectiligne **(Fig. 9-C)**.

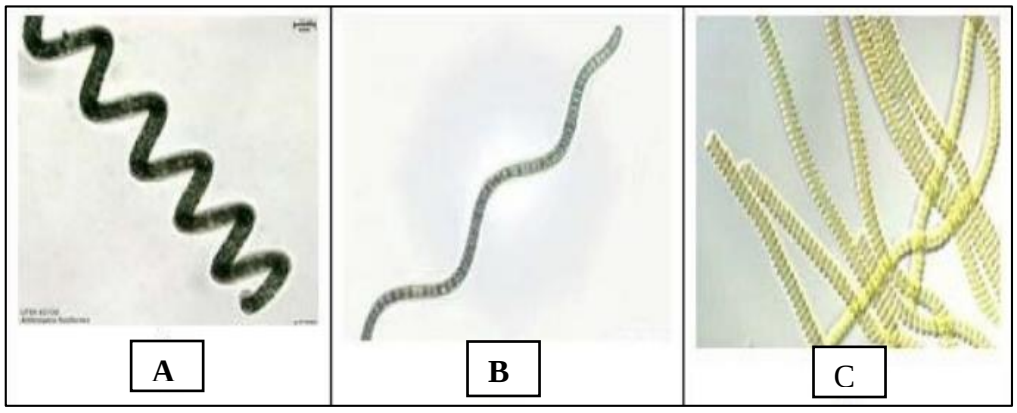


Figure 9 : Les différents aspects de la spiruline. (A) spiralés, (B) ondulée, (C) droite. ***(Goulamabasse, 2018)***

3. Cycle biologique de reproduction

À la maturité, la spiruline se reproduit suivant un mode végétatif asexué, la multiplication ne se produit que par fragmentation ; le trichome forme des cellules spéciales appelées nécridies assimilées à des disques de séparation agirent comme des cellules spécialisées uniques, permettant la rupture du trichome, au niveau desquelles le trichome est

divisé en plusieurs parties pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelées *Hormogonies.*

Les cellules d'hormogonie subissent des processus d'agrandissement et de maturation chaque individu va donner deux individus par scissiparité, qui lui sont identiques génétiquement et plus ou moins morphologiquement **(Théodore, 2017)**. Ils prennent la forme typique hélicoïdale, suivant un cycle de développement décrit dans la **Figure 10**.

Il convient de noter que la spiruline a une grande capacité de reproduction, dès que le

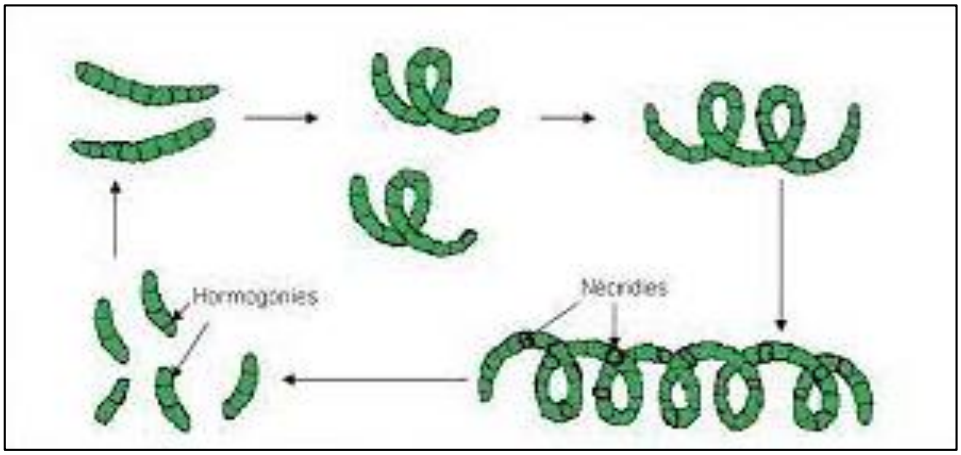


Figure 10 : Cycle de vie de la spiruline **(Balloni et al., 1980 in Charpy, 2008)**.

4. Classification taxonomique

La spiruline est une cyanobactérie (précédemment désignée par le terme « algue bleu » puis cyanophycées). Par conséquent, il appartient au domaine des bactéries (bactéries) et est classés comme bactéries gram-négatives. Les cyanobactéries constituent la majorité des bactéries capable de photosynthèse avec production d'oxygène et peut être unicellulaire ou multicellulaire **(Charp *et al.*, 2018)**.

Selon **Fox (1999)**, la position systématique est placée comme suit :

- Règne : Monera
- Sous règne : Procaryote
- Embranchement : Cyanophyta
- Classe : Cyanophyceae
- Ordre : Nostocalles
- Genre : Oscillatoria
- Sous-genre : *Spirulina platensi*

5. Composition de la spiruline

5.1. Protéines

La teneur en protéines de la spiruline est élevée. Elle représente 60% à 70% de sa matière sèche et possède la plupart des acides aminés dont les acides aminés essentiels **(Huget von der Weid, 2011)**.

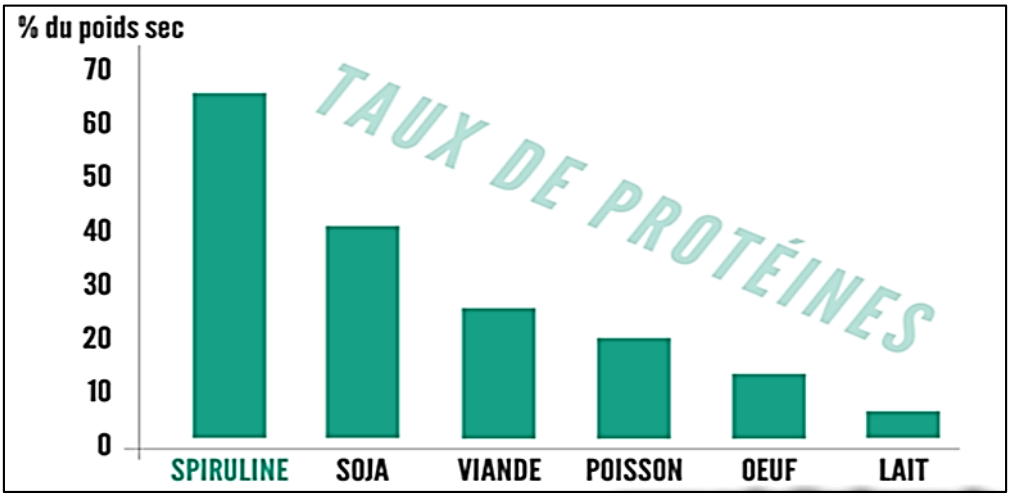


Figure 11 : Positionnement de la Spiruline par rapports à d'autres aliments (Site. 01)

La spiruline est utile dans l'alimentation humaine, en raison de la haute qualité et de la quantité de ses protéines. La valeur nutritive d'une protéine est liée à la qualité des acides aminés, au coefficient de digestibilité, ainsi qu'à sa valeur biologique acide aminé indispensable qui ne peut être synthétisé de novo par l'organisme et doit donc être fourni par l'alimentation **(Charpy, 2008)**.

Tableau 1 : *Teneur en acides aminés de la spiruline (Site. 01)*

Acides Aminés (AA)	Teneur moyenne dans 10g de spiruline	Principales fonctions
AA essentiels		
Isoleucine	350 mg (50% des AJR)	Indispensable dans le processus de croissance
Leucine	540 mg (49% des AJR)	Stimule les fonctions cérébrales
Lysine	290 mg (36% des AJR)	Production d'Anti corps, d'enzymes, d'hormones
Méthionine	140 mg (23% des AJR)	Antioxydant puissant
Phénylalanine	280 mg (140% des AJR)	Indispensable à la thyroïde
Thréonine	320 mg (64% des AJR)	Améliore la fonction digestive et intestinale
Tryptophane	100 mg (48% des AJR)	Contribue à la synthèse de sérotonine
Valine	400 mg (44% des AJR)	Stimule les capacités mentales et physiques
AA non essentiels		
Alanine	470 mg	Participe au métabolisme du glucose
Arginine	430 mg	Participe à la sécrétion de l'hormone de croissance
Acide aspartique	610 mg	Participe à la synthèse de plusieurs acides aminés
Cystine	60 mg	Indispensable pour l'utilisation de la vitamine B6
Acide glutamique	910 mg	Indispensable dans le métabolisme azoté
Glycine	320 mg	Intervient dans la production de l'ADN et l'ARN
Histidine	100 mg	Indispensable dans le processus de croissance
Proline	270 mg	Indispensable dans la production de collagène
Tyrosine	300 mg	Précurseurs de la dopamine, production thyroxine
Sérine	320 mg	Indispensable à la formation des membranes des cellules, protection des nerfs et synthèse de créatine

*AA : Acides Aminés, AJR : Apports Journaliers Recommandés.

5.2. Glucides

Les glucides représentent environ 15% à 25% de la matière sèche de la spiruline **(Hug & Vonder Weid, 2011**), et sont principalement fourni sous forme de glycogène et de rhamnose. Le glucose, le fructose, le saccharose et certains polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol ne sont présents qu'en très faible quantité **(Niangoran, 2017**).

5.3. Lipides

Les lipides représentent généralement de 6 à 8% du poids sec de la Spiruline mais ce pourcentage peut atteindre 11%. La composition en lipides totaux se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés (AGPI). Elle se subdivise en deux fractions : une fraction saponifiable « ou acides gras » (83%) et une fraction insaponifiable (17%) **(Charpy *et al*., 2008)**.

5.4. Minéraux

Les minéraux particulièrement intéressants de la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium **(Tableau 04)**.

Tableau 2: La teneur moyenne et les principales fonctions des minéraux et oligo-éléments de spiruline (Manet, 2016).

Minéraux et Oligoéléments	Teneur moy/10g de spiruline	Principales fonctions
Calcium	130mg (10% des AJR)	-Édification et renouvellement du squelette -Rythme cardiaque, système nerveux
Phosphore	67mg (8% des AJR)	-Masse minérale du squelette osseux -Réactions biochimiques de l'organisme
Fer	18-7mg (50)à 100% des AJR)	-Fabrication et fonctionnement de l'hémoglobine -Constitution de myoglobine
Zinc	0.4mg (4% des AJR)	-Activation de plus de 200 enzymes
Magnésium	50-25mg (9 à 25% des AJR)	-Masse minérale du squelette osseux -Métabolisme glucidique et lipidique (muscle، cœur، axe nerveux)
Potassium	100-200mg (5-10% des AJR)	-perméabilité des membranes - régulation du rythme cardiaque
Sodium	0.09mg	-Régulation pression osmotique -Maintien de l'équilibre hydro-électrolytique et de la masse hydrique
Sélénium	0.1-2.55 mg (20-100% des AJR)	Cofacteur des enzymes anti oxydantes -Stimulant de l'immunité
Cuivre	0.1mg (5% des AJR)	-Cofacteur de nombreuses enzymes -Anti-inflammatoire, antioxydant
Manganèse	0.4mg (12% des AJR)	-Formations des os et des enzymes -Métabolisme protéines، lipides، glucides -Stabilise taux de glucose sanguin
Chrome	0.25-0.03mg (16% des AJR)	-Métabolisme glucides، lipides، acides nucléiques، cholestérol

5.5. Vitamines

La spiruline offre de nombreuses vitamines qui contribuent au bon fonctionnement de notre organisme : des vitamines du groupe B (en particulier, vitamines B1, B2 et B12) qui participent au métabolisme énergétique et au fonctionnement du système nerveux et la β carotène, précurseur de la vitamine A, qui joue un rôle essentiel dans la vision, la reproduction des cellules et le fonctionnement normal du système immunitaire **(Miranda, 1998)**.

La vitamine B12, la plus fortement représentée dans la spiruline, est de loin la plus difficile à obtenir dans un régime sans viande, car aucun végétal courant n'en contient (La spiruline est 4 fois plus riche que le foie cru, longtemps considérée comme meilleure source de vitamine B12) **(Jourdan, 2006)**.

5.6. Enzymes

De nombreuses enzymes entrent aussi dans la composition de la spiruline, sortes « facilitateurs » biologiques, dont l'exceptionnel SOD (superoxyde dismutase), qui représente une arme majeure contre l'oxydation ou le vieillissement cellulaire **(Ahounou, 2018)**.

5.7. Pigment

Les trois principaux pigments contenus dans la spiruline, responsables de sa couleur, sont la chlorophylle, la phycocyanine et la β caroténe **(Sguera, 2008)**.

5.7.1. Chlorophylle

Le taux de chlorophylle contenu dans la spiruline est d'environ 1%, l'un des plus élevés que l'on puisse trouver dons la nature **(Ahounou, 2018)**.

Sa structure étroitement apparentée à celle de l'hémoglobine des mammifères lui confère parfois l'appellation de "sang vert". C'est à ce pigment photosynthétique que la spiruline doit sa couleur verte : bien que ce ne soit pas le pigment le plus important en quantité, son fort pouvoir colorant l'emporte sur les autres. Ce pigment aide à rétablir l'équilibre acido-basique, améliore la fonction cardiaque, régule le transit intestinal augmente le nombre de globules rouges et favorise la guérison interne et externe **(Cacal, 2019)**.

5.7.2. Phycocyanine

La phycocyanine, quant à lui, est le plus exceptionnel pigment faisant partie de la composition de la spiruline **(Sguera, 2008)**. Responsable de sa couleur bleutée, c'est le plus puissant antioxydant et anti-radicalaire que l'on puisse trouver. Véritable booster de nos défenses naturelles, il stimule la formation des globules rouges, favorise l'activité musculaire, inhibe la croissance des cellules cancéreuses et détoxifie l'organisme de tous produits chimiques nuisibles à note corps **(Shmitz, 2014)**.

5.7.3. Béta-carotène

La béta–carotène, pigment orange, précurseur de la vitamine A, aussi présent dans la spiruline en grande quantité, joue un rôle important dans le renouvellement des cellules et dans

les défenses immunitaires **(Charpy *et al.*, 2008)**. Possédant de nombreuses propriétés anti-antioxydants pour lutter contre le vieillissement des cellules, il permet aussi de réduire les risques de cancer, de favoriser la cicatrisation des plaies et de protéger la peau des agressions extérieures **(Perrault, 2017)**.

6. Principales applications de la spiruline

6.1. En alimentation humaine

Grâce à son excellent profil nutritionnel, la spiruline présente plusieurs avantages :

- Utilisée par les nutritionnistes et les médecins sous forme de poudre et mélangée avec des céréales et de l'eau pour aider les enfants souffrant de malnutrition sévère **(Fox, 1999)**.

- Pour les sportifs, sa consommation facilite l'effort et permet une meilleure récupération ; Par sa composition, la spiruline convient très bien aux enfants et adolescents ainsi qu'aux bébés en âge de consommer des protéines. Son apport en éléments essentiels de qualité, ainsi que sa haute assimilabilité, sont idéaux pour les organismes en développement. Trois à cinq grammes par jour suffisent pour éviter les carences et éliminer les toxines liées à la restauration rapide adorée des ador. Elle apporte également un plus sur la qualité de la peau **(Vidalo, 2015)**.

- Sous la loupe de la diététique, la spiruline est utilisée comme complément protéique bénéfique pour la santé. Agissant comme un produit coupe faim, elle réduit l'appétit et optimise l'apport énergétique **(Tremblin & Moreau, 2017)**.

- En agroalimentaire, elle est utilisée comme colorant naturel (la phycocyanine est un des rares pigments naturels de coleur bleue) dans les chewing-gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées. Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles, etc. En Suisse et Japon, il existe depuis longtemps du pain à la spiruline **(Boudaoud, 2016)**.

. 6 2.En alimentation animale

Comme pour l'homme, la spiruline renforce aussi les défenses naturelles de l'animal. Elle joue un grand rôle dans le maintien de son système immunitaire, lui permet de lutter contre certaines maladies et agit contre son vieillissement et sa fatigue. Les chiens, les chats, les poissons et les chevaux sont les animaux pour lesquels la spiruline et couramment utilisée. Chez les chevaux, sa consommation est très courante pendant la phase de croissance, de compétition ou convalescence. Notons aussi que les bons éleveurs de poules n'hésitent pas à ajouter de la

spiruline à leur alimentation. C'est une pratique de connaisseur qui participe à la ponte d'œuf d'une qualité nettement supérieure **(Casal, 2019)**.

6.3. En cosmétique

En cosmétique, la spiruline est utilisée dans les masques cryogéniques et les crèmes anti-âge, grâce à ses effets régénérant cellulaires et tenseurs tissulaires. Elle est également utilisée en combinaison avec d'autres algues, comme agent cicatrisant et antiseptique **(Charpy *et al.*, 2008)**.

6.4. En thérapeutique

La spiruline s'avère être un trésor de vertus thérapeutiques grâce au potentiel de la phycocyanine induit dans la lutte anti-cancer, SIDA, diabète et propriétés anti-inflammatoires et hépatoprotectrices.

- Le traitement des carences nutritionnelles (malnutrition protéino-énergétique, anémie ferriprive et hypovitaminose) ;
- Le renforcement des défenses immunitaires (une opportunité pour lutter contre les maladies opportunistes) ;
- Le traitement de certaines affections dermatologiques ;
- Elle constitue également un partenaire efficace pour calmer les douleurs rhumatismales et l'arthrose ;

Toutes ces applications nutritionnelles et les avantages thérapeutiques de la spiruline ont permis aujourd'hui sa vente et sa consommation comme complément protéique ou aliment « nutraceutique » **(Khouas, 2013)**.

Chapitre III : L'Acrylamide

1. Définition et structure de l'acrylamide

L'acrylamide **(Fig. 12)** est une molécule produite lors de la cuisson à haute Température des aliments. Il est également connu sous les noms de 2-propénamide, amide Acrylique, amide de vinyle et acrylamide monomère. C'est une molécule très polaire avec un Poids moléculaire de 71 g/mol, un point de fusion de 84,5 ± 0,3°c et un point d'ébullition Elevé de 136°c à 3,3 kipas **(Weisshorn, 2004)**.

L'arylamine est très soluble dans l'eau (215,5 g/100 ml à 30 °c) et dans de nombreux Solvants organiques comme les alcools, l'acétone, l'acétonitrile, légèrement soluble dans L'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, l'éther d'éthylique. Il est insoluble dans l'hexane et D'autres alcanes et alcènes ; sa volatilité est faible. Il n'a pas d'absorption UV significative au-dessus de 220 nm.

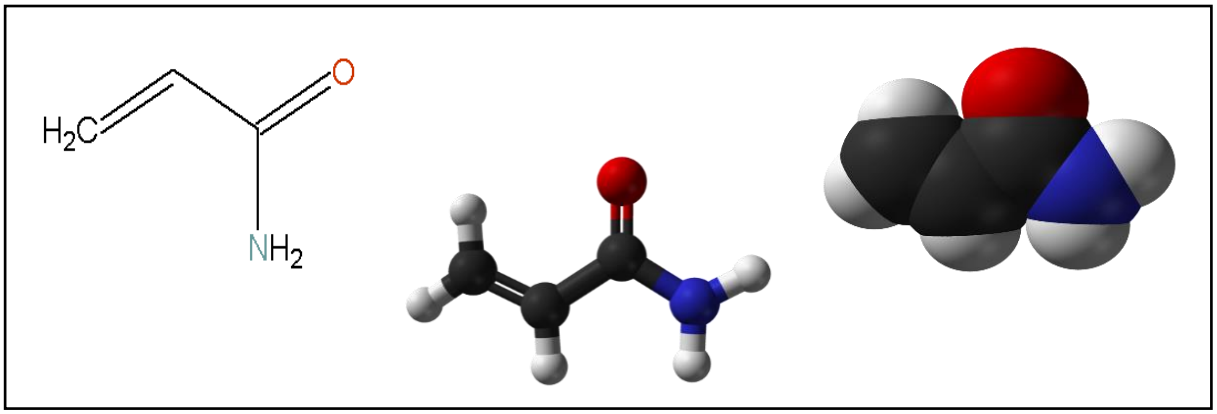
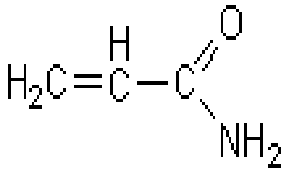
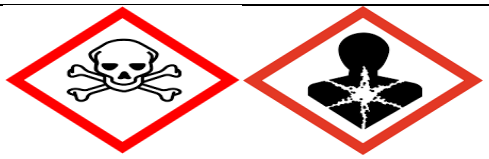


Figure 12 : Formule chimique de l'acrylamide en 2D et 3D **(Belhadj, 2018).**

L'acrylamide contient une double liaison électrophile réactive et un groupe amide réactif. Il présente de faibles propriétés acides et à la fois basiques **(Friedman, 2003)**. L'acrylamide peut être produit industriellement pour la synthèse du polyacrylamide et utilisé dans le traitement des eaux usées en tant que floculant, la stabilisation des sols, dans les cosmétiques, le papier et le textile **(Friedman, 2003)**. L'acrylamide est décrit comme une neurotoxine, endotoxine et est probablement cancérigène pour l'homme **(Friedman, 2003)**.

Tableau 3: L'identité de la substance : Acrylamide (Reggad & Safir, 2019)

No CAS	79-06-1	**ATC, 2002** **INRS, 2007** **INRS, 2010** **ATSDR, 2012** **INERIS, 2019**
Nom dans la LIS	2-propénamide	**NCI, 2008**
Noms dans les NCI	Acrylamide (allemand) (EINECS, SWISS) Acrylamide (espagnol) (EINECS) Acrylamide (anglais, français) (LIS, EINECS, ENCS, ECL, PICCS) 2-propénamide (AICS, ASIA-PAC, DSL, ECL, Nico, PICCS, SWISS, TSCA)	**NCI, 2008** **INRS, 2007** **INRS, 2010**
Autres noms	Acrylamide monomère ; Acide/ Amide Acrylique ; Bio Acrylamide 50 ; Éthylène carbétamide ; carbétamide ; 2- Propène amide ; Amide vinylique	**NCI, 2008** **INRS, 2007** **INRS, 2010**
Groupe /Sous-groupe chimiques	Produits chimiques organiques /Acrylamide et amide ; Amide insaturé	**INRS, 2007** **INRS, 2010** **NCI, 2008**
Formule chimique brute	$C_3 H_5 NO$	**INRS, 2007** **INRS, 2010** **INERIS, 2019**
Formule chimique semi développée		**INRS, 2007**
Danger et identification du risque	 H301 - Toxique en cas d'ingestion H312 - Nocif par contact cutané H315 - Provoque une irritation cutanée H317 - Peut provoquer une allergie cutanée H319 - Provoque une sévère irritation des yeux H332 - Nocif par inhalation H340- Peut induire des anomalies génétiques H350 - Peut provoquer le cancer H361f - Susceptible de nuire à la fertilité H372 - Risque avéré d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.	**INRS, 2007** **INRS, 2019**

2. Propriétés physico-chimiques de l'acrylamide

2.1. Propriétés chimiques

L'ACR possède les propriétés chimiques de la fonction vinyle et de la fonction amide **(Fig. 13)**.

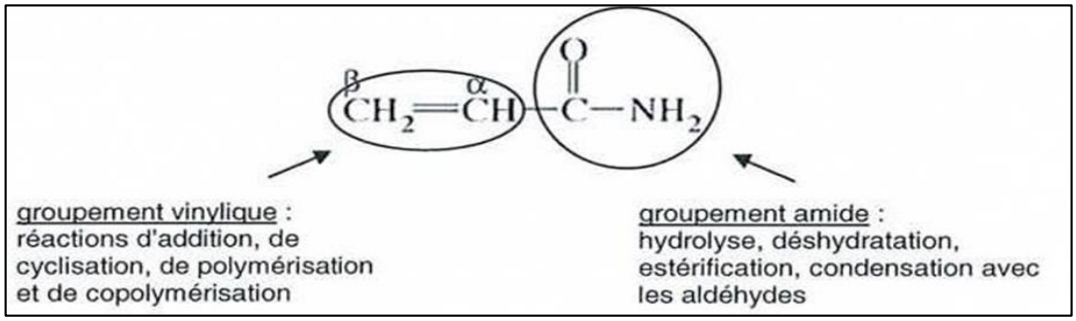


Figure 13 : Réactivité de l'ACR **(Klein, 2007).**

L'ACR contient une double liaison électrophile réactive et un groupe amide réactif. Il présente de faibles propriétés acides et à la fois basiques **(Friedman, 2003)**. Elle peut également réagir avec les agents oxydants forts ainsi que les bases fortes. Sa décomposition thermique donne lieu à un dégagement de fumées acides et d'oxydes d'azote **(INRS, 2007)**.

2.2. Propriétés physiques

L'ACR est un composé qui se présente sous forme de poudre cristalline blanche inodore. C'est **u**ne molécule très polaire avec un poids moléculaire de 71 g/mol, un point de fusion de 84,5 ± 0,3°C et un point d'ébullition élevé de 136°C à 3,3 kPa R **(Weisshaar & gutsche, 2002)**.

L'ACR se sublime lentement à température ambiante. Il est très soluble dans l'eau (2155 g/l à 30°C) et soluble dans de nombreux solvants organiques (méthanol à 1555 g/l, éthanol à862g/l, Acétone à 631 g/l, acétate d'éthyle à 126 g/l). Il est également commercialisé sous la forme de Solutions aqueuses à 30 - 60 % d'ACR stabilisé (pH = 5 à 6,5) **(INRS, 2007)**.

Le chauffage, l'humidité ou les radiations UV provoquent sa polymérisation en polyacrylamide. Les solutions commerciales contiennent du cuivre (< 100 ppm) ou d'autres antioxydants pour le stabiliser et éviter qu'il ne se polymérise. Le polyacrylamide peut se dépolymériser en ACR sous l'effet de la température et de la lumière **(Smith *et al.*, 1996)**.

3. L'acrylamide dans les aliments

L'acrylamide a été détecté dans tous les types d'aliments, notamment la viande, le pain **e**t les produits de pommes de terre préparés à des températures élevées **(Tarek *et al.*, 2002)**. Des quantités relativement faibles peuvent être trouvées dans les aliments soumis à des températures allant jusqu'à 260°C **(Morjovice, 2004)**.

Il est présent aussi dans les aliments cuits ou chauffés aux micro-ondes. Les feuilles de Thé et les grains d'orge grillés contiennent aussi de l'acrylamide. Il se forme dans les aliments riches en glucides pendant la friture, la cuisson et la torréfaction. Dans le café moulu il peut y avoir des teneurs relativement élevées d'acrylamide jusqu'à 400 nm/g de poudre. L'acrylamide est une substance très polaire, il n'est pas Surprenant qu'il est également détecté en grandes quantités dans les cafés brassés. Aucune trace d'acrylamide n'a été détectée dans un résidu analysé après une préparation de café, il semble que tout l'acrylamide dans la poudre de café soit transféré à l'eau où il est très stable. Aucune diminution significative de la concentration d'acrylamide n'a été observée même après cinq heures de chauffage **(Andrzejewski *et al.*, 2004)**.

Tableau 4: Niveaux d'ACR dans différents aliments (Tessier & Niquet, 2007).

Aliments	**Intervalle (µg/kg)**
Chips de pomme de terre	269.21-1405.30
Boisson à base de lait	2.6-5.3
Nourriture à base de céréales	11-17
Soupe, purée	14-15
Purée de fruits	5.7-7.3
Plat prêt-à-manger à base de légumes	19-20
Plats cuisinés à base de viande/poisson	14-14
Croustille et toast	10-300
Croûte de pain et craquelin	0.05-500
Chips de pommes de terre	100-10000
Le café torréfié	2-100

4. Voies de formation de l'acrylamide

La voie principale de formation de l'acrylamide dans les aliments est la réaction de Maillard. Selon certains auteurs **(Becalski *et al.*, 2003 ; Stadler *et al.*, 2003)**, il existe d'autres voies de formation, mais elles sont mineures.

4.1. La réaction de Maillard

La réaction de Maillard porte le nom de Louis-Camille Maillard, premier chercheur ayant exploité la réaction de l'acide aminé avec des glucides. Il a ensuite été signalé que les acides aminés en combinaison avec différents hydrates de carbone réagissent à des températures supérieures à 100° C, formant la couleur typique brune foncée et la saveur des aliments cuits **(Stadler et *al.*, 2003).** Grâce à cette réaction extrêmement complexe, non seulement des propriétés souhaitables comme la couleur, l'arôme et le goût sont acquises, mais aussi des composés antioxydants sont formés **(Andrzejewski et *al.*, 2004)**.

4.1.1 Les différentes étapes de la réaction

La réaction de Maillard constitue un ensemble très complexe de réactions encore mal conques. La réaction était décrite comme la succession de trois étapes majeures **(Aragon, 2008)**.

a. L'étape précoce initiée par la condensation entre le sucre réducteur et le composé aminé et Produisant le produit d'Amadora dans le cas où le sucre est un aldose, ou le produit de Heyse, il s'agit d'un cétose.

b. L'étape avancée, correspondant à la formation à partir du produit d'Amadora, de nombreux produits plus stables, de scission et déshydratation (acidocétoses, réductions, furanes, etc.) ou encore de cyclisation et/ou condensation (composés de type pyrazine, Pyrrol et pyrimidine).

c. L'étape finale découlant de la polymérisation de composés formés en étape 2 et produisant les mélano dines brunes.

Cette réaction, à des vitesses très diverses dépendant de la température et des conditions physicochimiques du milieu (pH, teneur en eau, concentration et réactivité des substrats), peut se dérouler dans les aliments, dans les sols et dans les milieux biologiques. Il est cependant admis que les me : anodines ne peuvent se former aux températures physiologiques, parce qu'ils nécessitent une énergie d'activation élevée **(Belhadj Benziane, 2018)**

4.1.2. Les produits de Maillard indésirables dans les aliments

Parmi les multiples molécules formées au cours des différentes étapes de la réaction de Maillard, certaines font aujourd'hui l'objet de recherches intenses du fait du risque possible que leur ingestion peut entraîner sur la santé. Citons les amines hétérocycliques formées essentiellement dans les produits carnés riches en créatinine **(Cheng, 2006)**, l'ACR issu de la réaction de Maillard sur l'asparagine et le furane issu de la décomposition des sucres, vitamine C et AGPI, facilitée par les amines **(Birlouez-Aragon *et al.*, 2010)** Ces trois molécules sont reconnues comme cancérogènes et sont présentes dans de nombreux aliments que nous consommons quotidiennement. De son côté, la carboxyméthyllysine (CML) est un composé très étudié pour trois raisons :

a. C'est un produit avancé de Maillard stable et provient de voies réactionnelles mettant en jeu des substrats initiaux différents (sucres, vitamine C et lipides insaturés **(Fu *et al.*, 1996)**.

b. Il se forme aussi bien dans l'aliment **(Charissou, 2007)** qu'au sein de l'organisme **(Knecht *et al.*, 1991)**.

c. Il est directement impliqué dans les cascades de réactions intracellulaires inflammatoires, du fait d'une reconnaissance de la molécule par les récepteurs RAGE (Receptors for advanced Glycation End Products), eux-mêmes impliqués dans la réponse inflammatoire **(Kislinger *et al.*, 1999)**.

4.1.3. Impact santé des produits de Maillard alimentaires

Nous ne possédons que très peu de données relatives à cette question et celles-ci sont déduites d'études animales, le plus souvent après induction d'un diabète non insulinodépendant ou d'une néphropathie. En effet, le diabète et l'insuffisance rénale constituent des facteurs de risque d'accumulation des produits de Maillard endogènes ou AGEs. Dans le premier cas, celle-ci résulte de l'augmentation moyenne de la glycémie, dans le second cas, elle est liée à une excrétion incomplète de ces produits **(Birlouez-Aragon, 2008)**.

L'administration de produits de Maillard alimentaires à des animaux par différents moyens (aliments autoclavés, supplémentation du régime avec des protéines modifiées par réaction de Maillard) révèle une aggravation des processus dégénératifs, concernant notamment les complications diabétiques, la néphropathie et l'athérosclérose **(Lin, 2003 ; Sandu, 2004)**. Quelques études ont été conduites chez l'Homme, essentiellement chez des patients diabétiques de type II. Les deux études majeures réalisées à ce jour **(Erbersdobler, 2001 ; Negrean, 2007)**. Confirment que l'absorption de PM en forte concentration au travers d'aliments grillés

augmente le taux de cytokines circulantes (notamment CRP, TNF alpha) et le stress oxydant. Les résultats d'une autre étude **(Saavedra *et al*.,2008)** et montrent que la diminution du taux d'ingestion des PM a permis de diminuer significativement le stress oxydant comme en atteste l'élévation conjointe de la vitamine C et E plasmatiques.

5. La toxicité de l'ACR

Le polymère de l'acrylamide est non toxique, mais le monomère est neurotoxique pour l'être humain et les animaux de laboratoire **(Gamboa *et al.*, 2003)**.

5.1. Toxicité expérimentale

5.1.1. Toxicité aiguë

L'ACR est toxique par voie orale chez les animaux de laboratoire (rongeurs, chat, porc, lapin) après administration aiguë. L'ACR a entraîné des phénomènes d'ataxie, de convulsions, de faiblesse musculaire et de perte de poids **(Manson *et al*, 2005)**. Chez les rats la Dose Létale 50 (DL_{50}) se situe autour de 107 à 203 mg/kg **(Svensson *et al*., 2003 ; Sharma *et al*., 2008)**.

5.1.2. Toxicité sub-chronique et chronique

L'acrylamide est essentiellement un agent toxique pour le système nerveux et les testicules **(ECB, 2002 ; INRS, 2007)**.

a. Neurotoxicité

L'exposition des animaux à l'acrylamide par voie orale provoque l'apparition de signes cliniques L'exposition de neurotoxicité (perte de l'usage des membres, tremblements et manque d'équilibre) chez toutes les espèces utilisées (primates, chiens, chats, rongeurs). À l'examen microscopique, des modifications dégénératives (perte de myéline sur les fibres nerveuses des cellules ganglionnaires et axonales) des nerfs périphériques et optiques ont été observées. La dose sans effet est 0,5 mg/kg/j pendant 2 ans chez le rat et 0,3 mg/kg/j pendant 1 an chez le chat. Ces lésions sont réversibles à l'arrêt de l'exposition après 30 semaines chez les primates et après 5 semaines chez les rongeurs. Chez la souris (gavage, 36 mg/kg/j, 2 fois/sem, 8 sem) et le rat (eau de boisson, 20 mg/kg/j, 90 j), en plus des effets neurologiques, une atrophie testiculaire avec diminution du nombre de spermatides, de spermatocytes et de spermatozoïdes et apparition de cellules géantes multinucléées ont été observés **(ECB, 2002 ; INRS, 2007)**.

b. Effets génotoxiques

L'acrylamide et le glycidamide peuvent former des adduits d'hémoglobine mais seul le glycidamide peut former des produits d'addition avec des groupes amino de l'ADN (acide désoxyribonucléique) **(Gamboa *et al.*, 2003)**. Cette fonction du glycidamide implique la génotoxicité. En outre, les niveaux élevés d'acrylamide peuvent causer des mutations génétiques et la transformation cellulaire **(Park *et al.*, 2002)**.

L'acrylamide est clastogène in vitro et in vivo ; il est mutagène pour les cellules germinales des animaux, et induit des lésions génétiques héréditaires. Son métabolite principal, le glycidamide, serait responsable de la génotoxicité **(Yang *et al.*, 2005)**.

- In vitro, l'acrylamide n'est pas mutagène pour les bactéries et est peu ou pas mutagène pour les cellules de mammifère en culture.

- In vivo, l'acrylamide provoque chez la drosophile, une augmentation équivoque du taux des mutations somatiques et provoque chez les rats et souris des mutations et une clastogenèse dans les cellules somatiques et germinales.

Le glycidamide induit l'apparition de micronoyaux dans la moelle osseuse de la souris, en relation avec la dose (12 - 50 mg/kg, ip), et à un taux moindre dans celle du rat (50 – 100 mg/kg, ip) ainsi qu'une synthèse non programmée de l'ADN dans les spermatides du rat. **(Toker *et al.*, 2016 ; Slayne, 2005 ; Eman, 2008 ; Weisshaar, 2002 ; INRS, 2007)**.

c. Effets cancérogènes

L'acrylamide est cancérogène pour de nombreux organes chez le rat et la souris. Il est classé comme probablement cancérogène pour l'homme **(Gamboa *et al.*, 2005**) administré par voie orale, l'acrylamide provoque chez le rat une augmentation, chez le mâle, du taux d'adénomes folliculaires de la thyroïde et de mésothéliomes testiculaires et, chez la femelle, des tumeurs de la glande mammaire, du système nerveux central, de la thyroïde, de la cavité orale, de l'utérus et de la glande clitoridienne. Chez la souris A/J, il induit une augmentation du taux et du nombre d'adénomes pulmonaires. Il a également été montré comme agent initiateur de cancérogenèse cutanée chez la souris après administration orale. Un essai de cancérogenèse à long terme chez la souris, plus sensible que le rat, est en cours pour le National Toxicology Program **(Lyon, 1994 ; INRS, 2007)**.

d. Effets sur la reproduction

L'acrylamide est toxique pour la reproduction : il produit des modifications génétiques dans le sperme du mâle, une baisse de poids des petits et des effets neurologiques à des doses neurotoxiques pour les mères **(Lyon, 1994 ; INRS, 2007)**.

5.2. Toxicité sur l'homme

Chez l'homme, l'exposition à l'ACR par voie orale ou dermique en milieu professionnel a été largement étudiée. On observe des effets comparables à ceux observés chez les animaux de laboratoire, c'est-à-dire principalement des signes de toxicité nerveuse périphérique comme des fourmillements, une incoordination motrice, de toxicité centrale comme des troubles de la mémoire, de la concentration ou du sommeil. De plus, on observe des signes généraux comme de la fatigue ou une perte de poids après quelques jours d'exposition **(Manson, 2005 ; INRS, 2007)**.

5.2.1. Toxicité aigüe

En milieu professionnel, les sujets sont principalement exposés par voies inhalatoire et cutanée **(INRS, 2007).** Des cas d'intoxication aiguë sont rapportés après ingestion volontaire d'acrylamide. Dans un cas, les symptômes sont apparus 5 heures après l'ingestion (d'une dose de l'ordre de 375 mg/kg) associant hallucinations avec hypotension, suivies par des convulsions, puis au 3ème jour par une gêne respiratoire (avec toux), une atteinte neurologique périphérique (persistante 2 mois plus tard) et une atteinte hépatique **(INRS, 2007)**.

Plusieurs cas d'irritation cutanée sont rapportés lors d'expositions professionnelles à l'acrylamide : irritation, un rash cutané, une desquamation palmaire, une sudation et une dermatose de type acnéiforme de la face et des mains. Ces symptômes précèdent pratiquement constamment les signes d'atteinte neurologique **(Nicnas, 2002)**.

Plus récemment un cas d'eczéma des mains, des poignets et de la face est rapporté chez une biochimiste travaillant avec des gels de polyacrylamide depuis 9 mois ; les patchtests avec de l'acrylamide à 1 % dans la vaseline sont positifs et 2 mois plus tard, ils sont toujours positifs même à 0,001 % dans la vaseline **(Aalto-Korte *et al*., 2002)**.

5.2.2. Toxicité chronique

Les études épidémiologiques et les rapports de cas retrouvent dans tous les cas des atteintes neurologiques périphériques lors d'expositions par voies cutanée et/ou inhalatrice à l'acrylamide ; ces mêmes effets sont apparus lors d'expositions répétées par voie orale

(Weideborg *et al.*, 2001). La part de l'absorption cutanée dans l'apparition de ces symptômes ne peut être quantifiée **(INRS, 2007)**.

Le rôle de l'exposition par voie dermale dans l'apparition des symptômes cutanés (érythème, desquamation et hypersudation des mains) ainsi que dans l'apparition des signes systémiques est très probable **(Nicnas, 2002 ; Hagmar, 2001)**. Toutes ces anomalies semblent réversibles 16 mois après arrêt de l'exposition **(Kjuus *et al.*, 2004)**.

Il a été constaté après 2 mois des atteintes neurologiques du bétail notamment, mais aussi des travailleurs **(Hagmar *et al*, 2001)**. Ces études épidémiologiques chez l'homme après des expositions professionnelles, ont suggéré que le système nerveux était le principal site de toxicité chez l'homme **(Lo Pachin, 2004)**.

a. Effets génotoxiques

L'acrylamide et le glycidamide peuvent être décontaminés dans les cellules par combinaison avec le glutathion, ou par hydrolyse **(Gamboa da Costa, 2003)**. En outre, une teneur élevée d'acrylamide dans les produits d'addition d'hémoglobine est détectée chez les fumeurs **(Gamboa *et al*, 2003)** car l'acrylamide se trouve également dans la fumée de tabac à la suite d'une combustion incomplète ou de chauffage de la matière organique **(Tareke *et al.*, 2002)**.

b. Effets cancérogènes

L'acrylamide est un cancérogène probable pour l'être humain **(Gamboa da Costa, 2003 ; Waxman, 2001)**. Les 23 experts scientifiques de la consultation, spécialisés en cancérogenèse, toxicologie, technologies alimentaires, biochimie et chimie analytique, ont retenu un certain nombre de questions importantes à étudier d'urgence. Si l'on sait que l'acrylamide provoque le cancer chez l'animal de laboratoire, il n'y a pas encore eu d'étude sur la relation entre cette molécule et le cancer chez l'être humain **(W. H. Organization, 2002)**.

Matériel & Méthodes

1. Préparation des extraits de la spiruline

Les échantillons de spiruline utilisée dans cette étude ont été achetés sous forme de poudre conditionnée en sac de contenance de 100g (**Fig. 14**).

Figure 14: Spirulina platensis en poudre.

1.1. Extrait aqueux

Une quantité de 20g de poudre de spiruline sont mises à macérer dans 1000ml de l'eau distille pendant 24 heures par agitation à température ambiante, puis le centrifuge (5000t\10min à 4).

Le surnageant de L'extrait aqueux est récupérer après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre pour éliminer tous les débris cellulaires, permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur bleu verdâtre, Stocker l'extrait dans le réfrigérateur à 4°C.

Figure 15 : Préparation de l'extrait aqueux de la spiruline

[(A) Filtration, (B) Produit final]

1.2. Extrait hydro-méthanolique

La méthode utilisée est celle décrite par **Bruneton (1999)**. Elle est basée sur le degré de solubilité des molécules dans les solvants modifiés. 20 g de la poudre de spiruline sont mises à macérer dans 300ml mélangés du méthanol à 85%. L'extraction est réalisée par macération à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 72 heures. Après une double filtration sur un papier filtre, le filtrat sont évaporés sous vide à l'aide d'un rota vapeur (BUCHI – zwitzerbland) à 45°c puis tous les extraits sont conservés à froid jusqu'à leur utilisation.

Figure 16 : Préparation d l'extrait hyméthanolique de la spiruline

[(A) Rota-vapeur, (B) Produit final]

2. Quantification des polyphénols, flavonoïdes et phyco-cyanines

2.1. Dosage des composés phénoliques totaux

2.1.1. Principe

La teneur en composés phénoliques des trois extraits a été estimée par la méthode de Folin-ciocalteu selon (**Li *et al.*, 2007)** cette méthode colorimétrique utilise le réactif de FolinCiocalteu de couleur jaune qui est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($12MoO3H_3PO_4$).

Son principe est basé basée sur la réduction en milieux alcalin de la mixture phosphotungstique phosphomolybdique de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon **(Georgé *et al.*, 2005)**.

2.1.2. Mode opératoire

Nous avons ajouté 1 ml de réactif Folin (dilué 10 fois) à 200 µl d'échantillon ou d'étalon (préparé dans du méthanol) avec les dilutions appropriées, et après 4 minutes, nous avons ajouté 800 µl de solution de carbonate de sodium (0,75 %) à la réaction de mode. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, on mesure l'absorbance à 765 nm. La concentration en polyphénols totaux est calculée à partir d'une ligne d'étalonnage générée à l'aide d'acide gallique (0-100 µg/mL) et exprimée en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

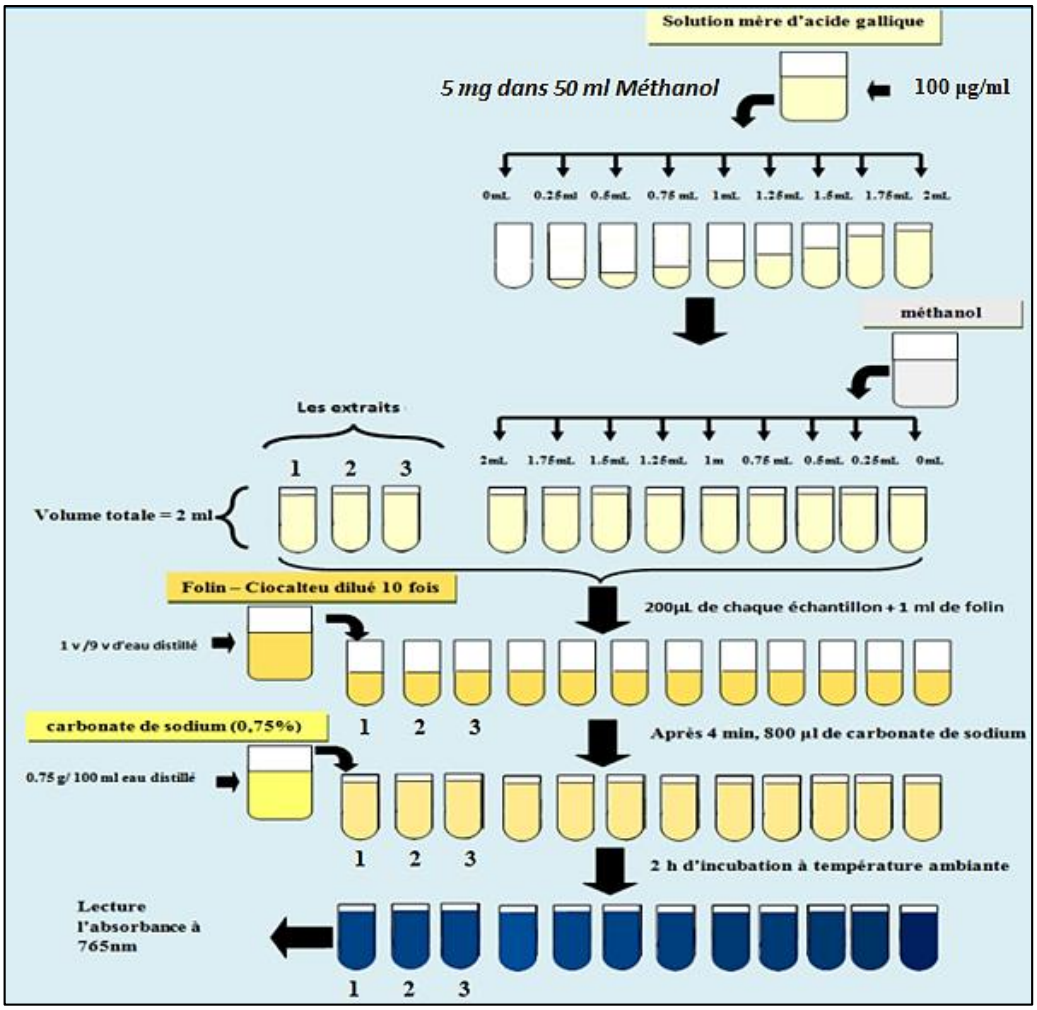


Figure 17 : Protocole expérimental de dosage des polyphénols totaux.

2.2. Dosage des flavonoïdes

2.2.1 Principe

L'évaluation quantitative des flavonoïdes dans les extraits a été réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Ce réactif forme un complexe flavonoïdes- Aluminium ayant un maximum d'absorption à 430 nm **(Bahorun *et al.*, 1996)**.

2.2.2. Mode opératoire

Nous avons ajouté 1 ml de chaque échantillon (dilué dans du méthanol) à 1 ml de solution d'$AlCl_3$ (2% dans du méthanol). Dix minutes après le début de la réaction, on lit l'absorbance à 430 nm. Une plage standard est générée séparément à l'aide de quercétine (200 µg/mL) pour calculer la concentration en flavonoïdes dans chaque extrait. Les résultats des tests sont exprimés en équivalents milligrammes de quercétine par gramme de lyophilisat.

Pour préparer une solution mère de quercétine, dissoudre 5 mg dans 50 ml ou 10 mg dans 100 ml pour obtenir une concentration de 200 µg/ml.

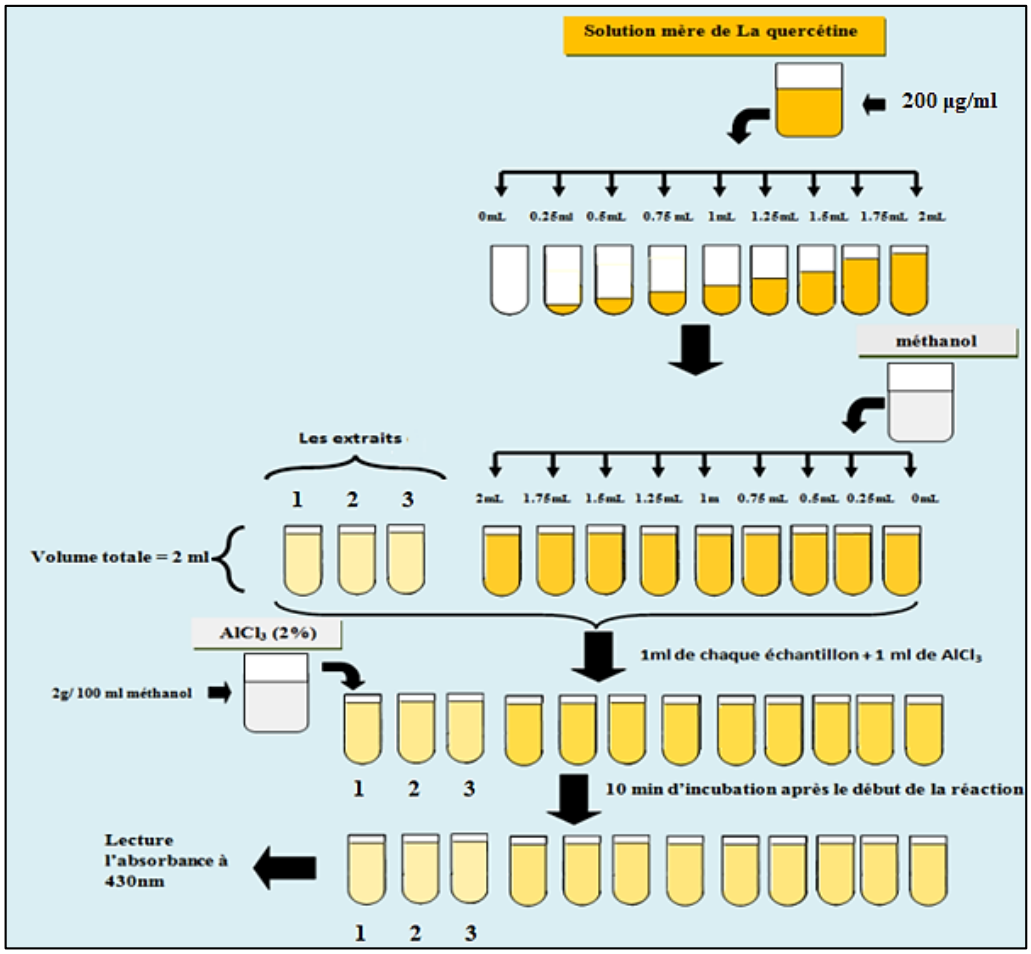


Figure 18 : Protocole expérimental de dosage des flavonoïdes.

2.3. Dosage des phycocyanines (Extraction par sonification)

Nous mettons 10 mg de spiruline en suspension dans 100 ml de tampon, la solution est mise sous l'action de l'ultrason pendant 5 min. Après une centrifugation (9000 tours/15min à 4°C).

Nous prélevons le surnageant et nous ajoutons de nouveau au culot 100 ml de tampon puis nous le remettons à l'action de l'ultrason pendant 2 à 3 min. Une centrifugation ultime est réalisée afin de prélever le surnageant et le mélanger avec le premier et mesurer les DO a 615, 652 ,620 et 280 nm. Enfin, le calcul du pourcentage en phycocyanine est fait par la formule **(Bennett & Bogorad, 1973)**.

$$PC = [Abs_{615} - 0,474 \times Abs_{652}] / 5,34$$

La pureté de phycocyanine est déduite selon la forrmule : Ab_{620}/Ab_{280}

Avec : - Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine.

- Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines.

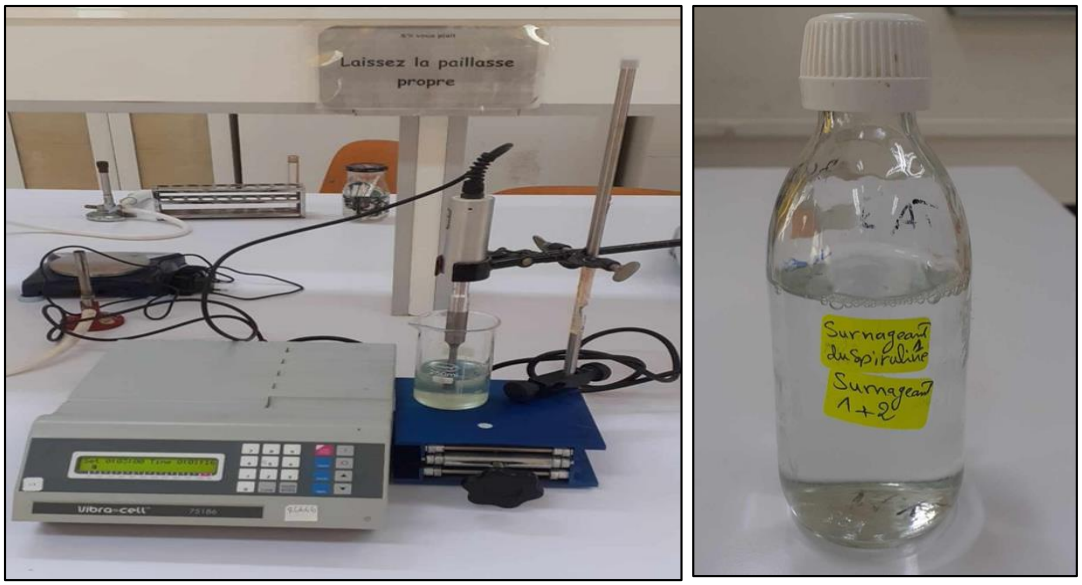


Figure 19: Sonification de la spiruline.

Tampon phosphates (0,1 M, ph 7,4) :

Solution A : Nous avons dissous 5,37 g de Na2HPO4 dans 150 ml d'eau distillée,

Solution B : Nous avons dissous 1,35 g de NaH2PO4 dans 100 ml d'eau distillée,

Puis nous avons mélangé 109,62 ml de solution A avec 15,37 ml de solution B et ajusté le pH. à 7.4 En ajoutant la solution A ou la solution B.

Figure 20 : pH mètre

3. L'évaluation de l'activité anti-oxydante de la spiruline ¨in Vitro¨

3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle)

3.1.1. Principe

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des trois extraits, nous avons opté pour la méthode de DPPH (α,α-diphényl-β-picrylhydrazyl, $C_{18}H_{12}N_5O_6$). Le test est basé sur la mesure de la capacité de piégeage des antioxydants. L'électron impair de l'atome d'azote dans le DPPH est réduit en recevant un atome d'hydrogène des antioxydants pour former l'hydrazine correspondante **(Kedare & Singh, 2011)**.

Le DPPH est un composé radicalaire stable qui se présente sous la forme d'une poudre noire. Il peut se dissoudre dans l'éthanol ou le méthanol. Un atome du pont d'azote contient un électron libre sur ce radical. La délocalisation de cet électron est à l'origine de la teinte bleue violette caractéristique du réactif. Lorsque le DPPH réagit avec un antioxydant, un atome d'hydrogène est attaché au radical. Ce fait entraîne une perte de couleur. Cette perte de couleur est mesurée spectrophotométriquement à 515-518 nm **(El Babili *et al.*, 2020)**.

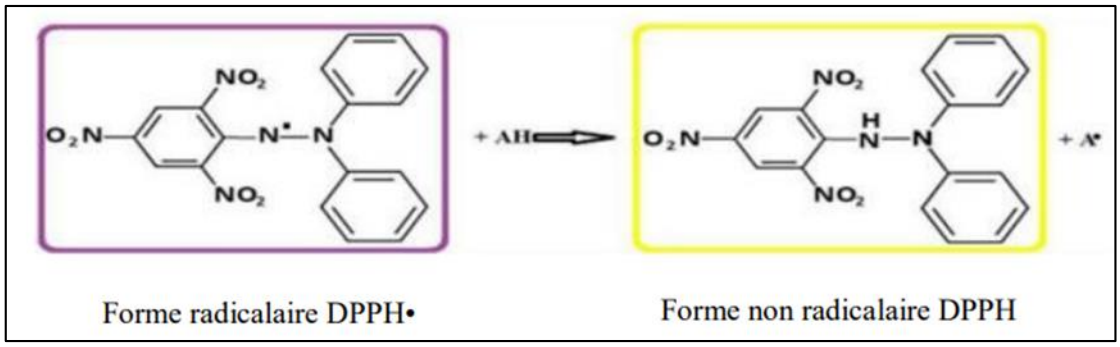


Figure 21 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• (entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH). ***(Molyneux, 2004)***.

3.1.2. Mode opératoire

Selon la méthode écrite par **(Mansouri *et al.*, 2005)**, on prépare une solution de DPPH en dissolvant 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (6x10-5 M). On ajoute ensuite 25 µL de l'extrait ou de la solution étalon (acide ascorbique) à 975 µL de DPPH, on laisse le mélange dans l'obscurité pendant 30 minutes, puis on mesure le changement de couleur par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et le méthanol à une longueur d'onde de 517 nm.

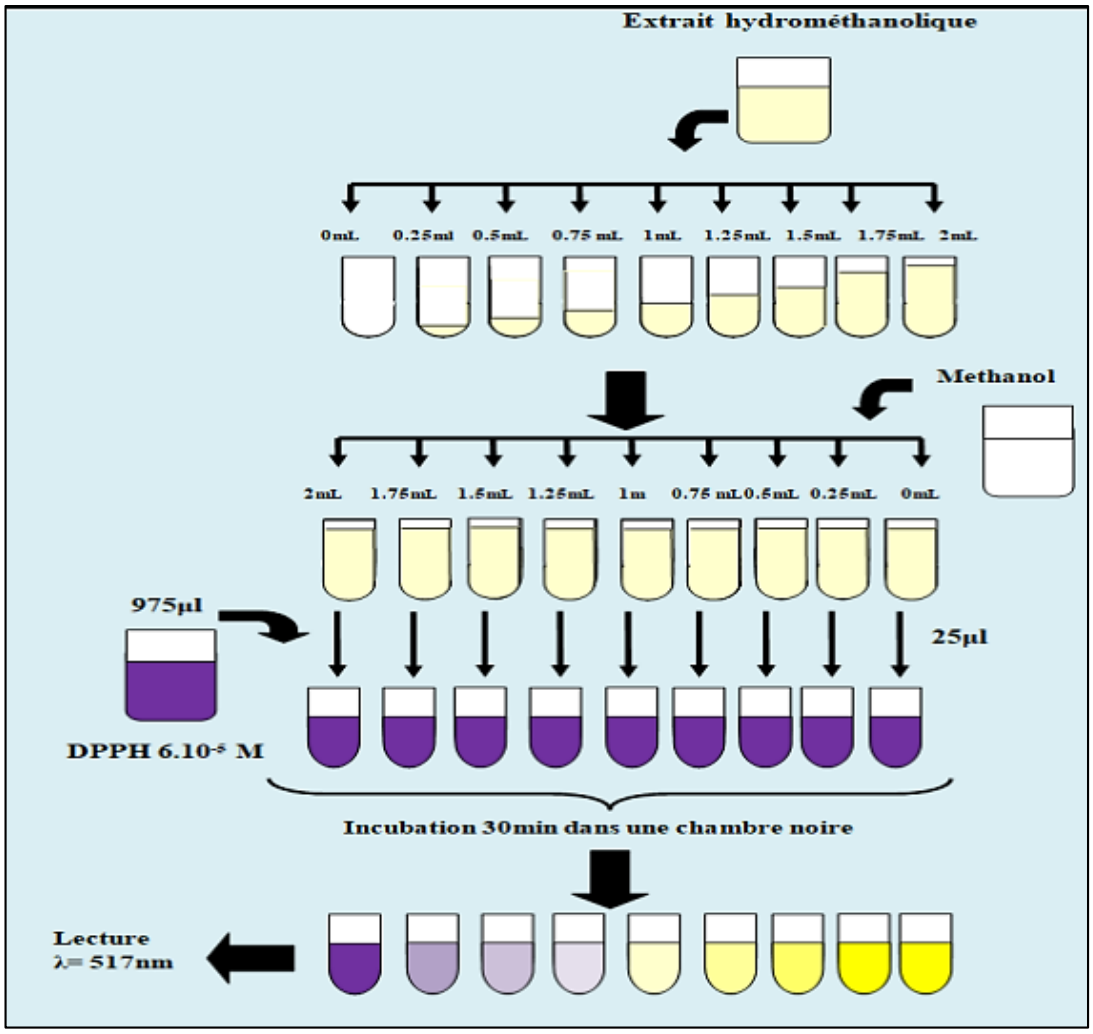


Figure 22 : Protocole expérimental de Piégeage du DPPH.

L'activité anti radicalaire est estimée, en calculant le pourcentage d'intuition :

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ échantillon) / Abs\ contrôle] \times 100$$

Abs contrôle : Absorbance du con7trôle négatif à 517 nm.

Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon à 517 nm.

Pour évaluer cette activité, une gamme des dilutions a été préparée pour l'acide ascorbique et les extraits allant de 0 à 2 mg/ml.

Calcul des IC50

La concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH est appelée IC_{50} (concentration inhibitrice de 50%), également connue sous le nom d'EC50 (Efficient concentration50). L'IC_{50} est calculée graphiquement en utilisant les pourcentages

d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés **(Torres, 2006)**. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

4. L'évaluation de l'activité neuro-protectrice de la spiruline ¨in Vivo¨

4.1. Présentation de model d'insecte utilisé

4.1.1. Description de la drosophile ¨Drosophila melanogaster¨

D. melanogaster, organisme modèle, est aussi appelée mouche du vinaigre **(Fig. 23)**. C'est un insecte hygrophile, et holométabole à métamorphose complète. Ces mouches, aux yeux rouge vif, sont de couleur brun jaunâtre, avec des anneaux transversaux noirs au travers de l'abdomen. Les adultes de *D. melanogaster* ont un poids moyen de 0.54 mg et une longévité de 30 jours à une température de 29° C. Un dimorphisme sexuel est présent ; en effet, les femelles mesurent environ 3 à 4 millimètres de long mais les mâles, un peu plus petits (3 millimètres) ont la partie arrière de leur corps plus foncée **(Fig. 23).** *D. melanogaster* présente un potentiel reproducteur important (les femelles peuvent pondre jusqu'à 500 œufs en dix jours **(Bouharmont *et al.*, 2007)**.

Figure 23*:* Adulte de *D. melanogaster* (site3).

4.1.2. Position systématique

La position systématique de *D. melanogaster* est la suivante :

Tableau 5: Systématique de D. melanogaster

Règne	Animale
Embranchement :	Arthropoda
Sous embranchement :	Hexapoda
Classe :	Insecta
Sous-classe :	Pteryogota
Infra-classe :	Neoptera
Ordre :	Diptera
Sous-ordre :	Brachycera
Infra-ordre :	Muscomrpha
Famille :	Drosophilidae
Sous-famille :	Drosophilinae
Genre :	*Drosophila*
Espèce :	*D. Melanogaster* **(Meigen, 1830)**

4.1.3. Caractéristiques

D. melanogaster est caractérisée par une reproduction très rapide ; cet insecte élevé au laboratoire, se reproduit toute l'année, sans interruption, avec une nouvelle génération tous les 10 jours à une température de 25 °C donnant ainsi plus de 30 générations par ans **(Bouali & Ben merzouk, 2014)**.

- ***Organes sexuels :*** Lorsque la mouche est sur le dos (**Fig. 24)**. On peut observer chez le mâle le pénis très coloré situé à l'extrémité de l'abdomen alors que la plaque vaginale située au même endroit chez la femelle n'est pas colorée **(Bouali & Ben merzouk, 2014)**.

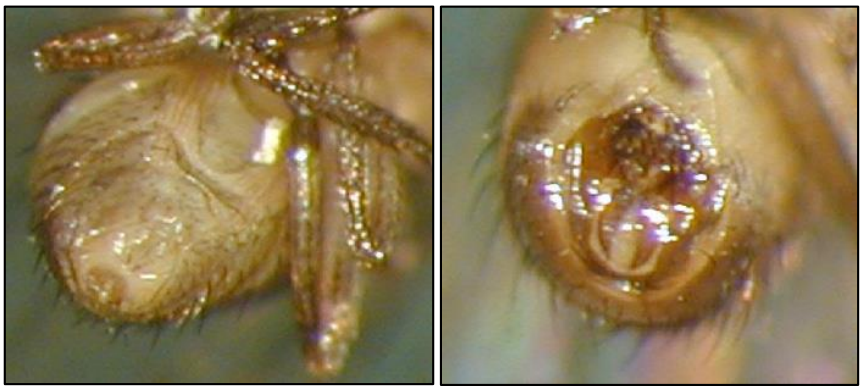


Figure 24 : Organes sexuels des drosophiles. ***(Talbi & Doghbal, 2016)***.

[(A) pénis Mâle et (B) plaque vaginale Femelle]

- ***Peignes sexuels :*** C'est une petite touffe de soies noires (**Fig. 25)**, située au niveau du premier article du tarse de la patte antérieure et qui n'existe que chez les mâles **(Bouali & Ben merzouk, 2014)**.

Figure 25 : Peignes sexuels chez les drosophiles mâles. ***(Talbi & Doghbal, 2016)***.

[(A) Patte antérieure femelle et (B) Male]

4.1.4. Cycle de vie de D. melanogaster

Le cycle de vie complet de la *D.melanogaster* est relativement rapide et ne prend qu'environ 10 à 12 jours à température ambiante. La drosophile le développement est divisée en plusieurs stades : embryon, larve, pupe et adulte **(Ong *et al.*, 2015)**.

- **Embryon :** Les œufs sont pondus sur la nourriture et l'embryogenèse a lieu à l'intérieur de l'œuf. En moins de 24 h, la larve du premier stade éclot et commence à se nourrir **(Ong *et al.*, 2015)**.
- **Larve :** Cette phase d'alimentation et de croissance durera quatre jours. Une augmentation d'environ 200 fois du poids de la larve est attendue pendant la phase de croissance et est en grande partie due à l'endoréplication des tissus larvaires. Cependant, les tissus larvaires ne seront pas la partie de la mouche adulte car ces tissus sont cassés vers le bas pendant la métamorphose au stade de pupe. L'imaginal disque, qui est constitués de cellules diploïdes de l'épithélium, contribuera éventuellement au développement de l'adulte structures de vol **(Ong *et al.*, 2015)**.
- **Pupe :** A la fin du troisième stade, les larves s'arrêtent se nourrir et laisser la nourriture à la recherche d'une zone de pupaison. Au stade nymphal, la métamorphose se produit pendant quatre jours, après quoi les mouches adultes éclosent **(Ong *et al.*, 2015)**.

- **Adulte :** Les femelles sont prêtes à s'accoupler en moins de 24 h après éclosion et peut pondre jusqu'à 100 œufs par jour. Les mouches adultes vivent environ deux mois aprè l'éclosion **(Ong *et al.*, 2015)**.

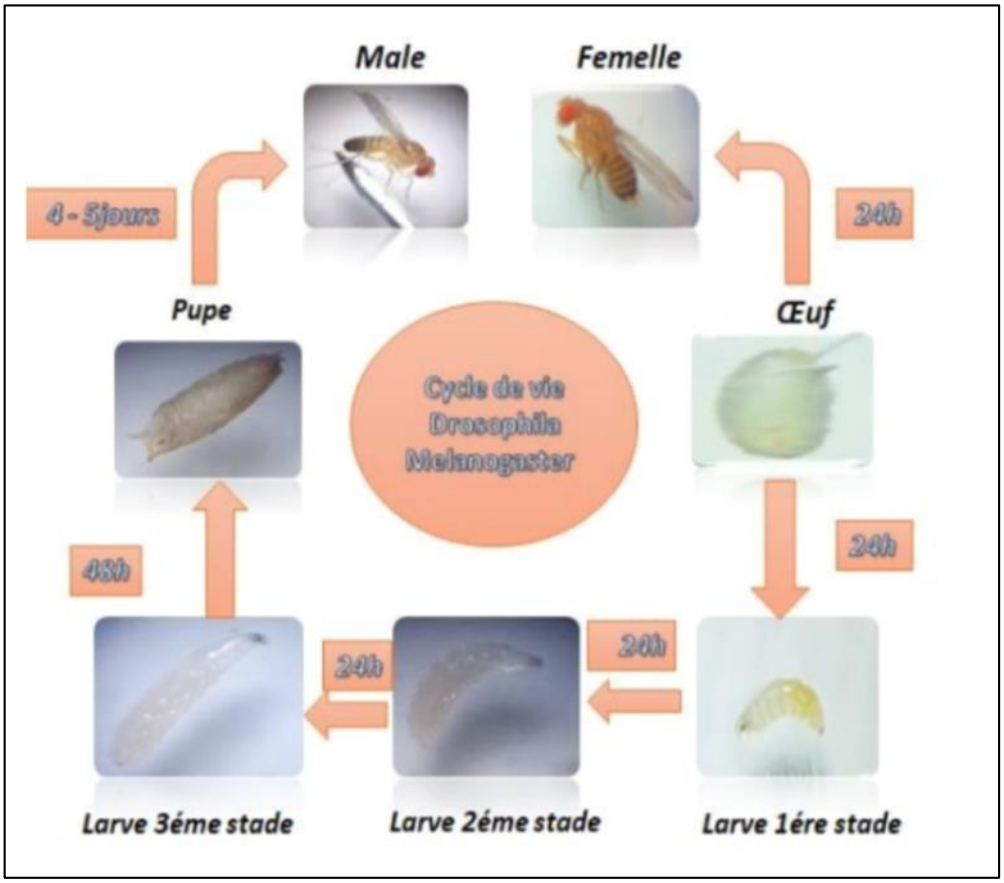


Figure 26 : Cycle de vie de *D. melanogaster*. ***(Kennaz, 2022).***

4.1.5. Technique d'élevage

Les drosophiles sont élevées sur un milieu de culture standard contenant de la farine de maïs, de la levure, un fongicide et de l'eau **(Bourdet, 2014)**. Maintenu à 25 ± 2 ° C et une humidité relative de 65 ± 5% sous une photopériode de 12 h de lumière : 12 h d'obscurité **(Kissoum & Soltani, 2016 ; Elbah, 2017)**. Elles sont élevées dans des tubes en verres et des flacons. Environ 80 adultes pondeurs sont transférés tous les 3 à 4 j sur un nouveau milieu et renouvelés tous les 15 ou 21 j **(Bourdet, 2014)**.

Figure 27 : Élevage de D. *melanogaster* au laboratoire.

4.2. Étude toxicologique de l'Acrylamyde

Le test de toxicité consiste à exposer ou à administrer (par ingestion) de différentes concentrations l'Acrylamyde aux adultes âgées (de 03 à 05 jours) de la drosophile, dans des conditions bien contrôlées du laboratoire.

Sept cent microlitres de chaque concentration à tester (0,25, 1, 2,5 et 5 g/L), sont rajoutées à 10 g de milieu de culture, qui sont ensuite déposées dans des tubes. Dans chaque tube, 30 adultes prélevés au hasard dans l'élevage de masse. En revanche, nous avons réalisé un traitement à la spiruline en utilisant différentes concentrations d'extrait aqueux et hydro-méthalonique (5g/L, 10g/L, 20g/L) dans le but de déterminer sa capacité protectrice et améliorative contre l'Acrylamyde (n=30). Trente autres adultes sont mis dans un autre tube ne contenant que la nourriture témoin, il s'agit d'un lot témoin. Toutes les séries de traitement sont répétés trois fois. Le suivi de la mortalité des adultes se fait quotidiennement après 24, 48, 72, 96 et 120 heures.

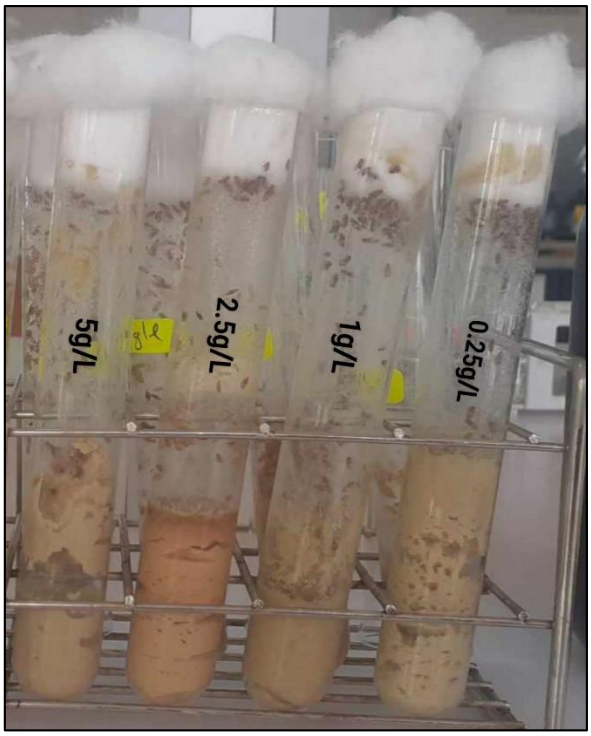


Figure 28: Traitement des adultes de D. melanogaster par l'acrylamide à différentes concentrations (photo originale)

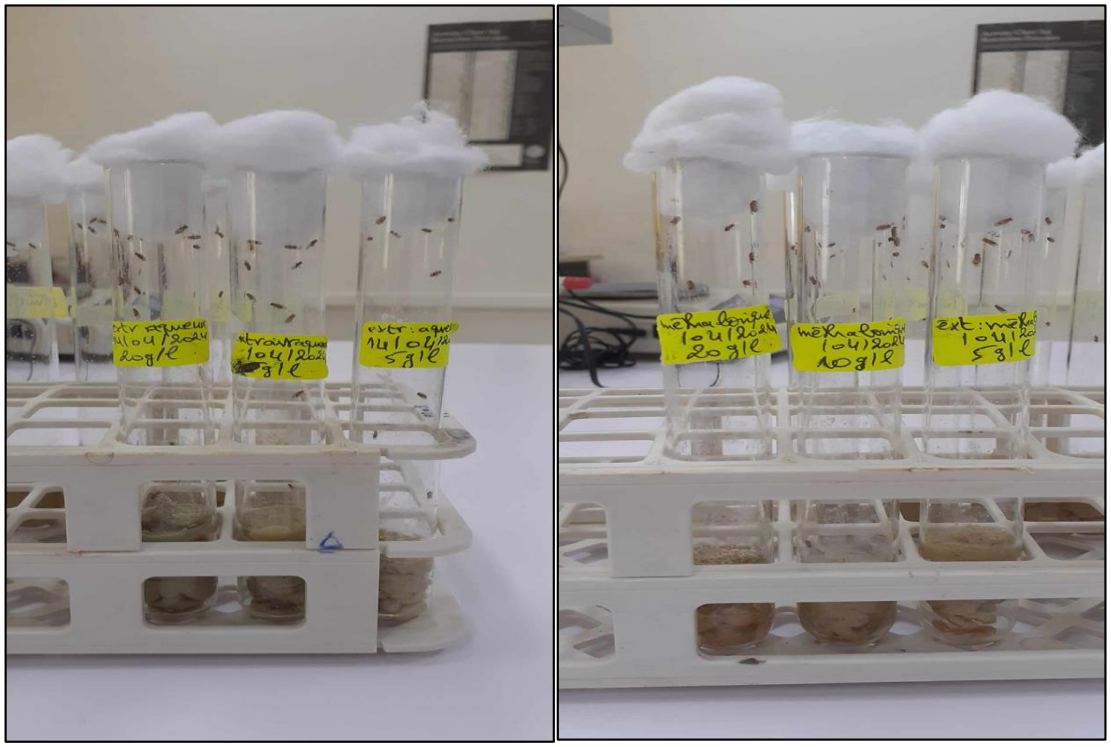


Figure 29 : Traitement des adultes de D. melanogaster par la spiruline à différentes concentrations (photos originales) .

[(A) Extrait aqueux et (B) Extrait hydo-méthanolique]

4.3. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE)

La toxicité subaiguë concerne les effets nocifs dus à la répétition de doses qui ne produisent pas d'effets toxiques immédiats. Des effets tardifs peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans les tissus ou à cause d'autres mécanismes **(OCDE, 1979)**.

C'est dans ce contexte que nous avons voulu évaluer la capacité neuro-protectrice de la spiruline après l'administration d'une concentration sublétale d'acrylamide. Pour le Dosage de AChE, le traitement a été réalisé à la CL_{25}.

4.3.1. Mode opératoire

Le dosage de l'activité de l'AChE a été mené selon la méthode d'**Ellman *et al*. 1961**, qui consiste à fournir à l'enzyme (AChE) un substrat artificiel, l'acétylthiocholine ASCh) qui sera hydrolysé en acide acétique et thiocholine (ASCh). Cette dernière en présence de DTNB2 acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoique) donne un produit jaune le TNB (acide 5-thio-2 nitrobenzoïque) que l'on dose à une longueur d'onde de 412nm.

Les têtes de *D. melanogaster* (pool de trois têtes) des séries témoins et traitées sont homogénéisées dans 1 ml tampon de TBS (pH 7.4). L'homogénat est centrifugé à une vitesse de 9000 tours/min pendant 10 min. Le surnageant est récupéré pour servir comme source d'enzyme. Le dosage de l'activité de l'AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 µl auquel on ajoute 900 µl de tampon TBS pour obtenir une dilution de 1/10. Ensuite, on ajoute 50 µl de DTNB préparé extemporanément. Après 3 à 5 minutes de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 50 µl de substrat acétylthiocholine (ASCh) sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 minutes pendant 20 minutes à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc de gamme où 50 µl de Tampon phosphate remplacent la source d'enzyme.

Solution TBS : Tris (50mM), NaCl (150mM) et pH 7,4 :
Nous avons dissous 8,775 g de NaCl et 6,057 g de Tris dans 800 ml d'eau distillée avec un pH ajusté à 7,4 pouces. Ensuite, nous avons ajouté de l'acide chlorhydrique (ou de la soude), Nous avons ensuite complété le volume à 1 L avec de l'eau distillée.
Tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4) :
Solution A : Nous avons dissous 5,37 g de Na_2HPO_4 dans 150 ml d'eau distillée.
Solution B : Nous avons dissous 1,35g de NaH_2PO_4 dans 100 ml d'eau distillée.
On mélange 109,62 ml de solution A avec 15,37 ml de solution B et on ajuste le pH à 7,4 en En ajoutant la solution A ou la solution B.
Solution DTNB :
Nous avons dissous 15 mg de bicarbonate de sodium dans 10 ml de solution de phosphate puis on l'ajoute 39,6 mg de DTNB.
Solution ASCh :
Nous avons dissous 65,0655 mg d'ASCh dans 5 ml d'eau distillée.

Tableau 6: Préparation des tubes à lire

Réactifs (µl)	Blanc	1	2	3	4	5	7
Tampon phosphate pH=7.4	1050	1000	1000	1000	1000	1000	1000
DTNB	50	50	50	50	50	50	50
ASCH	50	50	50	50	50	50	50
Homogénat	-	50	50	50	50	50	50

1 Témoin, 2 Acrylamide 1g/l, 3 Spiruline aqueux, 4 Spiruline méthanolique, 5 Acrylamide+Spiruline aqueux, 6 Acrylamide+Spiruline méthanolique.

L'activité spécifique est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{AChE (M/min/mg de protéines)} = \frac{\Delta \text{ DO/mn}}{1{,}36 \times 10^{4}} \times \frac{Vt}{Vs} \; / \; \text{mg de protéines}$$

Δ DO: pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat.

1,36 x 104 (M-1 cm-1) : coefficient d'extinction molaire du DTNB.

Vt : volume total de la cuve : 1,15 ml [0,1 ml homogénat + 0,1 ml DTNB + 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 ml d'acétylthiocholine].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,05 ml.

Mg de protéines : La quantité de protéines totales préalablement déterminée par un dosage selon la technique de Bradford (1976) explicitée dans la partie suivante.

4.4. Dosage de protéine

4.4.1. Mode opératoire

Les protéines ont été extraites à l'aide de **Shibko *et al.* (1966)** à partir des têtes des adultes des séries témoins et traitées de *D. melanogaster*. Ces dernières ont été conservées dans 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20% jusqu'au dosage.

Les échantillons prélevés à différents âges pour chaque stade de développement sont conservés dans 1 ml d'acide trichloracétique (TCA). Tous les dosages ont été effectués sur des fractions aliquotes (100 µl) par série.

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu brillant de coomassie (G250) comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf BSA) comme

standard (1mg/ml**) (Tableau07)** La lecture des absorbances est réalisée à une longueur d'onde de 595 nm.

100 mg de BBC + 50 ml d'éthanol + Agitation pendant deux heures + 100 ml d'acide orthophosphorique à 80% + eau distillée q.s.p. 1000 ml.

Préparation TCA à 20% : Nous avons dissous 20 mg de TCA dans 100 ml l'eau distilée.
Préparation BBC : Nous avons dissous 100 mg de BBC dans 50 ml d'éthanol + agitation pendant deux heures, puis ajouté 100 ml d'acide ortho-phosphorique à 80% + 1 litre d'eau distillée.

Tableau 7: Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage

Tubes	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
BSA (µl)	0	20	40	60	80	0
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

5- Comportement locomotoire :

Le test d'activité locomotrice et d'escalade consiste à traiter les adultes de *D. melanogaster* (de 3 à 5 jours) préalablement par une concentration sublétale CL_{50}.

Les tests comportementaux ont été réalisés selon **Lee *et al.*, 2010 (Hwang *et al.*, 2013 ; Valéria *et al.*, 2014)** avec des modifications mineures. Les mouvements spontanés ont été mesurés au $10^{ème}$ jour. Trente mouches ont été introduites dans des tubes en verre (15 cm de long et 2 cm de diamètre). Les mouches ont été fixées au bas du tube et le nombre de mouches qui ont grimpé jusqu'au sommet a été compté en 60 secondes. Les tubes sont calculés séparément en fonction du nombre total d'ascensions (niveaux d'ascension) plus celles restant sous la marque. Les séries réalisées sont comme suit : Tm, Acr, Acr + Sp.aq, Acr+Sp.méth, Sp.aq, Sp. méth.

6. Analyses statistiques des données

6.1. Tests de toxicité

En ce qui concerne les résultats obtenus pour l'étude toxicologique, nous avons calculé, selon les procédés mathématiques de Finney, les concentrations létales (CL50 et CL90) et les temps létaux (TL50 et TL90) pour chacun des extraits utilisés.

Selon la période d'exposition aux produits, la variable mesurée est le nombre des individus morts quotidiennement chez les deux insectes étudiés. Le taux de mortalité observé est corrigé par la formule d'Abott qui permet de connaître la toxicité réelle des produits. Les différents taux subissent une transformation angulaire d'après les tables de Bliss. Les données sont ainsi normalisées et font l'objet d'une analyse de variance sur XL Stat 2024 ; celles obtenues sont alors transformées en probits, ce qui permet d'établir une droite de régression en fonction des logarithmes décimaux des concentrations utilisées. Le test Chi_2 permet un bon ajustement de la droite **(Finney, 1971)**. À partir de cette droite, on calcule les concentrations létales ou les temps létaux.

Résultat et discussion

1. Dosage des principes actifs de la Spiruline

1.1. Dosage des composés phénoliques totaux

La concentration de phénols totaux dans les deux extraits de la Spiruline est déterminée en mesurant l'intensité d'une couleur bleue, laquelle varie en fonction de la concentration phénolique des extraits de la plante. Les résultats sont exprimés en µg équivalent d'acide gallique par ml des extraits sec (µg GAE/ml), en se basant sur l'équation de régression linéaire obtenue à partir de la courbe d'étalonnage tracée avec de l'acide gallique. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans **(Fig. 30)**

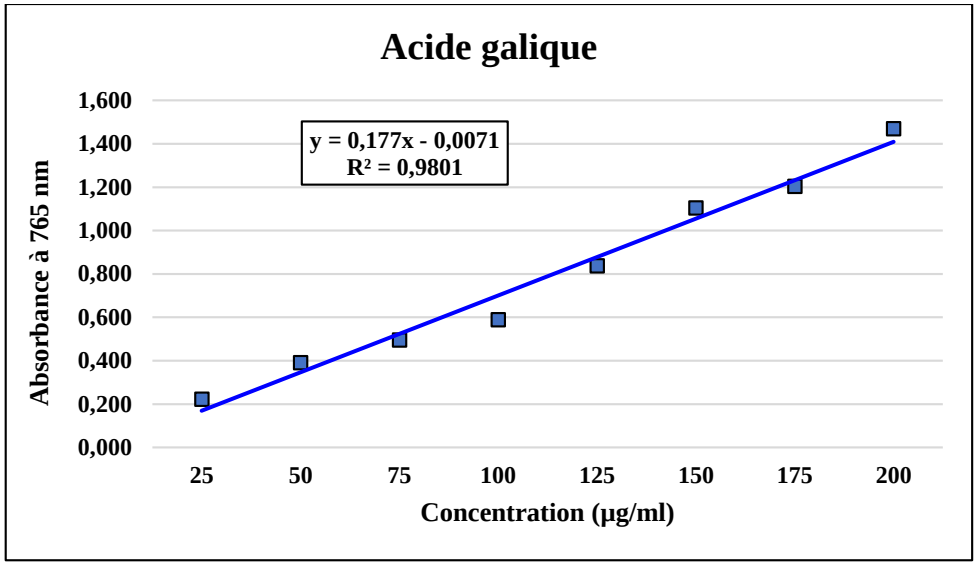


Figure 30 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau 8: Teneur en polyphénols totaux des deux extraits de la Spiruline

	Teneur en polyphénols (µg EQ/g extrait) *(Moyenne ± Écart type)*
Extrait aqueux	27,02 ± 0,72
Extrait hydrométhanolique	35,41 ± 0,43

1.2. Dosage des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium **(Bahorunet *et al.*, 1996)**. On se référant sur l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine dont le coefficient de corrélation R^2= 0.9983 **(Fig. 31)**

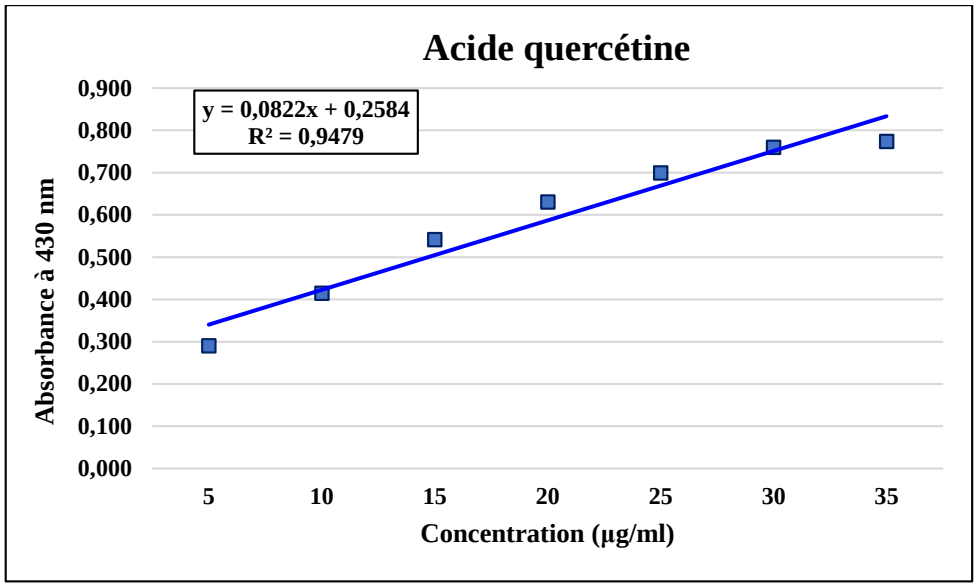


Figure 31 : Droite d'étalonnage de l'acide quercetine

Tableau 9: Teneur en flavonoïdes des deux extraits de la Spiruline

	Teneur en flavonoïdes (µg EQ/g extrait) *(Moyenne ± Écart type)*
Extrait aqueux	4,08 ± 0,07
Extrait hydrométhanolique	9,46 ± 0,15

D'après les résultats de dosage quantitatif des polyphénols de poudre de la Spiruline, nous avons constaté que les deux extraits préparés contiennent des composés phénoliques considérables mais à des concentrations variables. L'extrait hydrométhanolique a présenté la concentration la plus élevée des phénols totaux (27,02 ± 0,72 µg EAG/mg), suivi par l'extrait aqueux avec un taux (35,41 ± 0,43 µg EAG/mg) **(Fig. 31)**. Cette déférence est liée à la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires **(Ghedadba *et al.*, 2014)**.

Dans d'autres études en prenant le méthanol comme solvant, **Kosalec *et al.* (2013)** ont eu une quantité des polyphénols totaux égale à 38,4 ± 1,56 mg EAG/g d'extrait. Ainsi, **Boussahel *et al.* (2013)** ont obtenu 33,65 ± 2,5 mg EAG/g d'extrait. **Elise *et al.* (2022)** ont estimé la quantité de ces derniers 56,4 mg EAG/g.

Nos résultats concernant l'extrait aqueux, sont superieurs à ceux trouvés par **El-Moataaz *et al* (2019)** et **El-Sayed *et al* (2022)** qui ont trouvé ; 363.7 mg/100g et 0.2 et 1.0 $mg.ml^{-1}$, respectivement. Ces différences des teneurs peuvent être provoquées par la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu, c'est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles

des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines **(Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca *et al.*, 2006)**.

De l'autre côté, l'évaluation des flavonoïdes a montré que l'extrait le plus riche en composés flavonoiques est dans l'extrait hydrométhanolique (9,46 ± 0,15 µg EQ/mg), suivi par l'extrait aqueux (4,08 ± 0,07 µg EQ/mg) qui présente un taux plus ou moins modéré. Ces valeurs très proches celle trouvée par **El-Moataaz *et al* (2019)** avec 7.11 µg EQ/mg.

Elise *et al.* (2022) ont montré les valeurs de l'ordre 21,2 mg EQ/g et 13,2 mg EQ/g pour les flavonoïdes et les flavanols, respectivement. En effet, ces variations dépendent d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (environnement et stockage) la période de la récolte et le stade de développement de la plante, ainsi la progression de temps d'extraction qui peuvent également influencer sur l'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes **(Locatelli *et al.*, 2010)**.

1.3. Dosage de Phycocyanine

La concentration en phycocyanine estimée dans la souche de la Spiruline selon la méthode d'extraction par sonification, ainsi le pourcentage de pureté sont présentés dans le tableau (**Tab. 10**)

Tableau 10 : Concentration et pourcentage de pureté des phycocyanines extraites de la Spiruline par sonification

C-PC (mg/ml)	Ratio de Pureté (%)
0,06	0,15

Lafri *et al.*, 2017, ont examiné plusieurs méthodes d'extraction des phycocyanine deux souches de la Spiruline algérienne et tunisienne, et celle par macération avec le glycérol était la puis puissante (0,625 mg/ml et 1,37 de pureté) pour la Spiruline algérienne. De plus, nos résultats s'accordent avec ceux de **Lafri *et al.*, 2017** où l'extraction par sonification a donné des valeurs proches (0,25 mg/ml et 0,25 de pureté). **Agustina *et al.* (2021)** ont enregistré 6.478 µg/ml, seulement avec l'extraction aqueuse.

2. Évaluation de l'activité antioxydante de la Spiruline (In vitro)

2.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1pierylhydrazyl)

Les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH in vitro, nous ont permis de tracer une courbe exponentielle pour chaque extrait **(Fig. 32)**. Le pouvoir antiradicalaire le plus élevé est de l'extrait hydrométhanolique (91.51%) contre (67.74%) pour l'extrait aqueux, mais c'est toujours des taux inférieurs à celui de l'acide ascorbique (95.99%) **(Fig. 32)**. **Lahcini *et al.* (2022)** ont montré des valeurs de DPPH allant de 69.93% et 74.75% pour l'extrait méthanolique et éthanolique, respectivement.

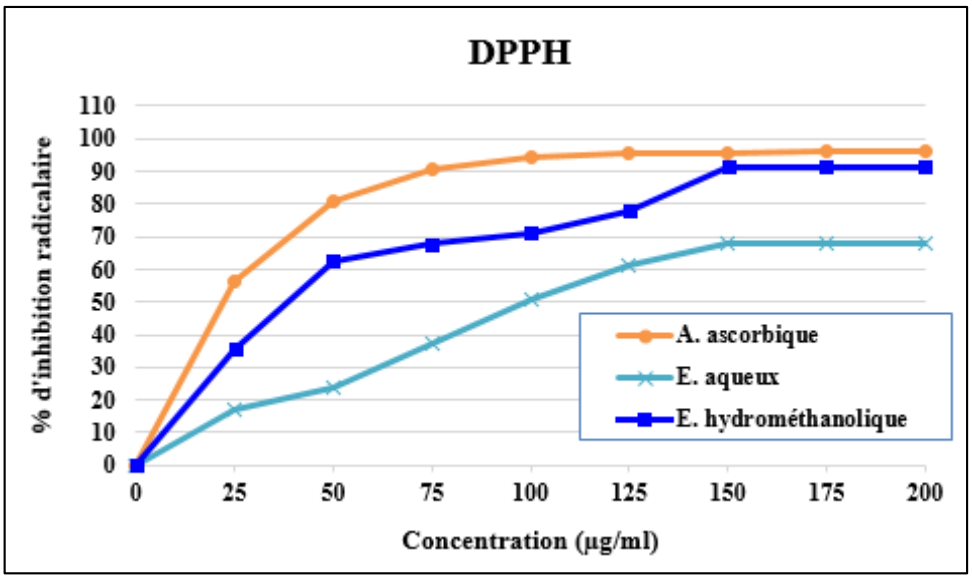


Figure 32 : Cinétique d'activité anti-radicalaire des extraits de S. platensis sur le radical DPPH

À partir de ces courbes du pourcentage d'inhibition obtenues, nous avons pu déterminer la valeur d'IC_{50} de chaque extrait **(Tab. 11)**.

En comparant avec l'acide ascorbique (IC_{50} égale à 24.98 µg/ml), en tant qu'un témoin positif antioxydant, l'extrait aqueux a montré une activité de piégeage radicalaire modeste vers le DPPH (101.02 µg/ml). En revanche, l'extrait hydrométhanolique semble être le plus puissant à 37.50 µg/ml **(Tab. 11)**.

Tableau 11 : Valeur d'IC_{50} pour les extraits de S. platensis et de l'acide ascorbique.

Échantillon	Acide ascorbique	Extrait aqueux	Extrait hydrométhanolique
IC_{50} (µg/ml)	24.98	101.02	37.50

Les travaux de **Agustina *et al.* (2021)**, ont démontrés que les extrait aqueux a une activité antioxydante plus basses que notre extrait, avec une valeur d'CI_{50} de l'ordre de 45.21 mg/mL et 78.87 µg/mL (1 et 3 heures d'extraction).

L'importance de l'activité antioxydante des extraits végétaux et également les algues se concentre sur leur richesse en molécules à haut potentiel antioxydant tel que les acides phénoliques et les flavonoïdes **(Saidi, 2019)**.

3. Évaluation de l'activité neuroprotectrice de la Spiruline (*In vivo*)

3.1. Toxicité aiguë in vivo de l'Acrylamide

Les adultes de *D. Melanogaster* exposés à l'Acrylamide 0.25, 1, 2.5, et 5 g\l pendant 120 h ont exhibité un declin significatif aux percentagex de mouches survivantes. Ces derniers varient entre 15% et 55%, en comparant avec le groue témoins (100%) **(Fig. 33)**.

De l'autre côté, l'extrait aqueux et hydrométhanolique de la Spiruline ont montré une excellente activité protectrice contre l'Acrylamide ; aucune mortalité n'a été où enregistré dans les lots traités.

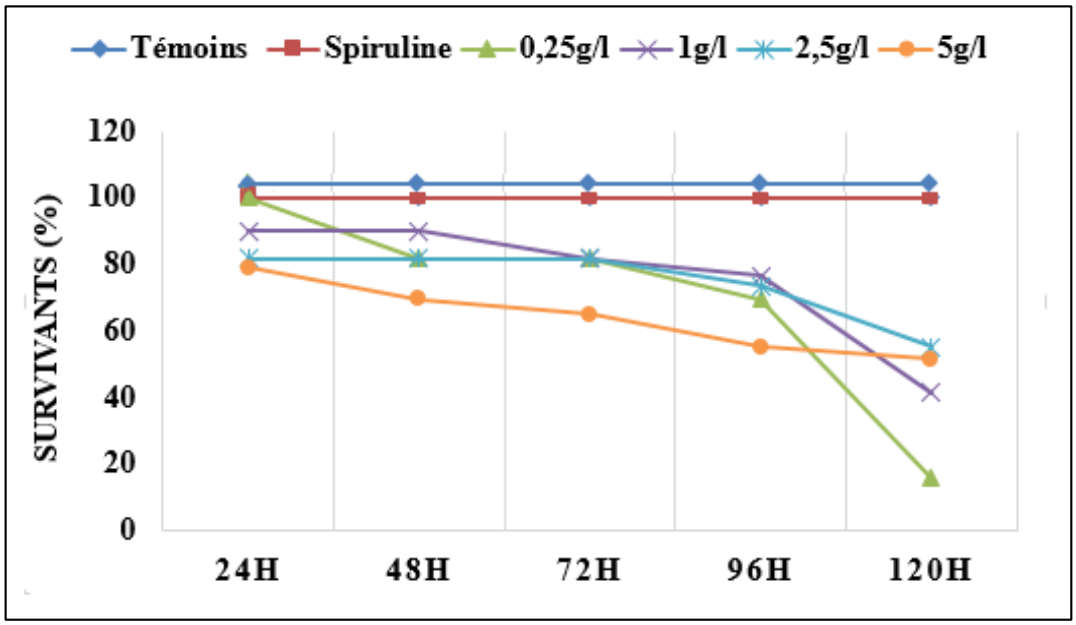


Figure 33 : Courbe de surviee chez les adultes de D. *melanogaster* traités par l'Acrylamide et les deux extraits de la Spiruline

L'histogramme suivant illustre l'évolution de la mortalité en fonction du temps chez *D. melanogaster* traité à l'Acrylamide, à l'égard des adultes **(Fig. 34)**.

À une concentration de 0,25g\l, ce produit n'a pas provoqué de mortalité après 24h (0%), il a ensuite provoqué 18,43% décès a 48h et 72h, augmentant a 30,66% à 96h et 84,26% a 120h.

Pour la concentration 1g\l le taux moyen de mortalité des larves est, respectivement, de 9,97% de mortalité au bout de 24h et 48h, le taux augmente a 18,43% à 72h, de 23,58% à 96h et de 58,69% à 120h **(Fig. 34)**.

À une concentration de 2,5g\l, ce produit provoque 18,43% de mortalité au bout de 24h, ce taux se stabilise jusqu'à la fin du 72h d'exposition, puis il est augmenté à 26,57% à 96h et 45% à 120h **(Fig. 34)**.

La mortalité augmente lorsqu'on utilise la concentration la plus élevée 5g\l ; 21,13% à 24h, 30,66% à 48h, 35,06% à 72h et 45% à 96h. À cette dernière, plus de 48,45% d'insectes meurent au bout de 120h **(Fig. 34)**. Notons qu'aucune mortalité n'a été observée chez les témoins.

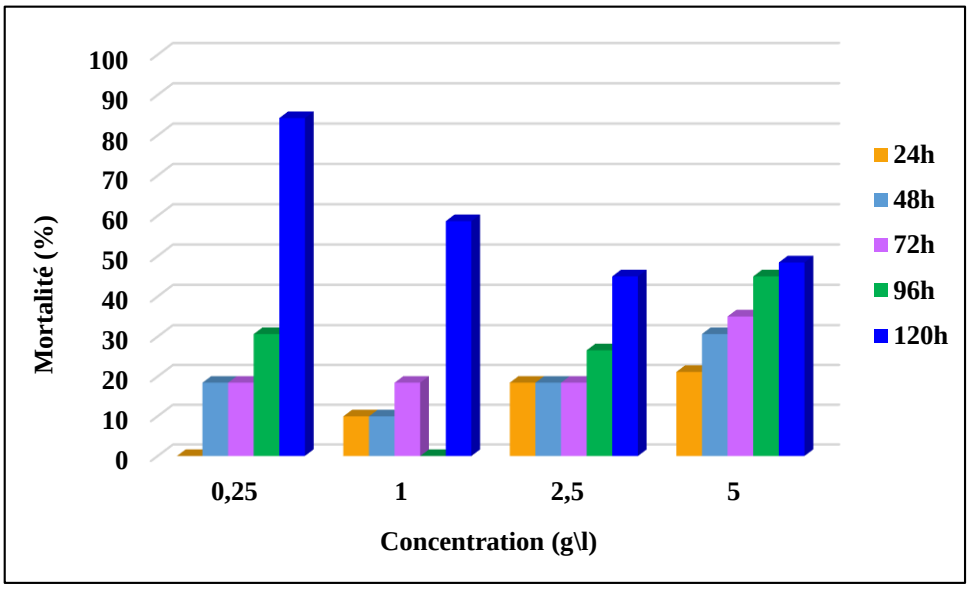


Figure 34 : Mortalité corrigée chez les larves de D. *melanogasters* traités par l'Acrylamide

Détermination de la dose létale DL50 :

Les résultats consignés dans le tableau suivant résument les différents paramètres toxicologiques d'extrait aqueux de l'Acrylamide. Ces derniers montrent qu'il ya une forte corrélation entre le taux de mortalité et le temps d'exposition des mouches à différentes concentrations de produit (le coefficient de corrélation « R^2 » est de 0.829 à 0.973) **(Tab. 12)**.

Les concentrations létales obtenues, 24h, 48h, 72h, 96h, 120h après traitement, sont respectivement de 4.26, 2.80, $1.54*10^2$, $6.76*10^1$, et 1.14 g/l pour la CL_{50} et 9.12, $6.3*10^2$, $4.46*10^4$, $2.39*10^5$ et 3.23 g/l pour la CL_{90} **(Tab. 12)**.

Les temps létaux pour les concentrations étaient les suivants les concentrations testées étaient, respectivement de $7.41*10^1$, $1.41*10^2$, $2.75*10^2$ et $1.04*10^2$ heures pour la CL_{50} et $1*10^2$, $3.80*10^2$, $2.04*10^3$ et $5.12*10^2$ heures pour la concentration létale TL 90 **(Tab. 12)**.

Tableau 12 : Paramètres toxicologiques de l'Acrylamide

A : en fonction du temps d'exposition des larves **/ B :** en fonction de la concentration utilisée

A	Co**ncentrations léthales :**		
	Droite de régression	**CL_{50} (g/L)**	**CL_{90} (g/L)**
24h	**Y**= 2.56 **X**+3.87 **R^2**= 0.932	4.26	9.12
48h	**Y**= 3.68+0.47**X** **R^2**=0.286	2.80	6.3^*10^2
72h	**Y**= 3.86+0.52**X** **R^2**=0.466	$1.54*10^2$	$4.46*10^4$
96h	**Y**= 4.34+0.36**X** **R^2**=0.221	$6.76*10^1$	$2.39*10^5$
120h	**Y**= 6.46-2.85**X** **R^2**=0.829	1.14	3.23
B	**Temps léthaux :**		
	Droite de régression	**TL_{50} (heures)**	**TL_{90} (heures)**
0.25g/L	**Y**=-14.17+10.20X **R^2**=0.807	$7.41*10^1$	$1*10^2$
1g/L	**Y**= -1.35+2.95**X** **R^2** =0.635	$1.41*10^2$	$3.80*10^2$
2.5g/L	**Y**= 1.40+1.47 **X** **R^2**=0.519	$2.75*10^2$	$2.04*10^3$
5g/L	**Y**=1.28+1.84 **X** **R^2**=0.973	$1.04*10^2$	$5.12*10^2$

[Y : Probits des taux de mortalités **; X :** Logarithme décimal des concentrations et/ou du temps**]**

Ces résultats indiquent que l'exposition à des concentrations plus élevées d'ACR entraîne une réponse mortelle plus élevée et plus rapide. Les effets neurotoxiques de l'ACR ont également été étudiés. **Pratap *et al*. (2008)** confirme nos résultats, plus de 59% des adultes de *D. melanogaster* ont succombé au traitement seulement au 24 heures. **Zhou *et al*. (2008)** ont découvert que la neuropathie induite par l'ACR était associée à une diminution des taux de glutathion neuronal (GSH).

De plus, **(Motamed Shariati *et al*., 2014)** ont démontré que la rutine, un composé naturel, protège contre la neurotoxicité induite par l'ACR chez la souris. Le mode d'action de l'ACR et ses effets sur divers organismes ont également été étudiés**. (Rooks *et al*., 2000)** ont constaté que la toxicité aiguë de l'ACR varie en fonction du mode d'action de la toxine. Les composés ayant différents modes d'action peuvent affecter différemment les cycles de vie des organismes **(Marinkovic *et al*., 2011)**.

Dans une étude réalisée par **(Al-Balawi *et al*., 2018)**, des embryons de poisson zèbre exposés à l'ACR ont montré une augmentation des niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), une diminution de l'expression des gènes antioxydants et une perte de cellules photoréceptrices. Cependant, lorsque les fœtus étaient exposés simultanément à l'ACR et à l'acide carnosique (CA), un antioxydant naturel, les effets toxiques de l'ACR étaient contrecarrés.

3.2. Effet de la Spiruline sur l'activité spécifique d'Acéthylcholinesterase

Dans cette partie, on s'est intéressé à évaluer l'effet neuroprotecteur de la Spiruline sur l'activité spécifique d'AchE. En effet, le dosage des protéines semblé nécessaire.

On peut noter que l'ACR induit encore un effet réducteur sur le contenu en protéines chez les adultes de la drosophile. Une augmentation significative a été enregistrée chez les lots traités à la Spiruline.

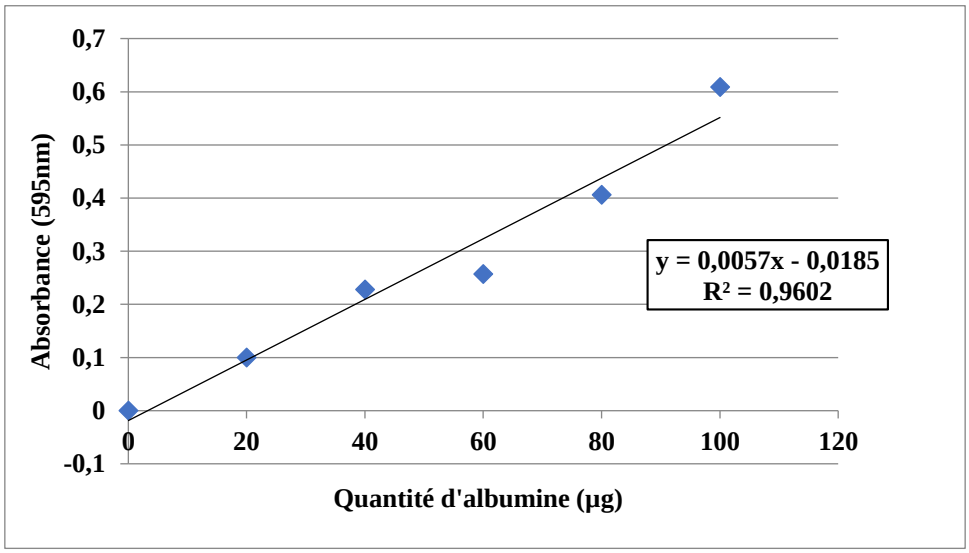


Figure 35 : Droite d'étalonnage de l'Albumine

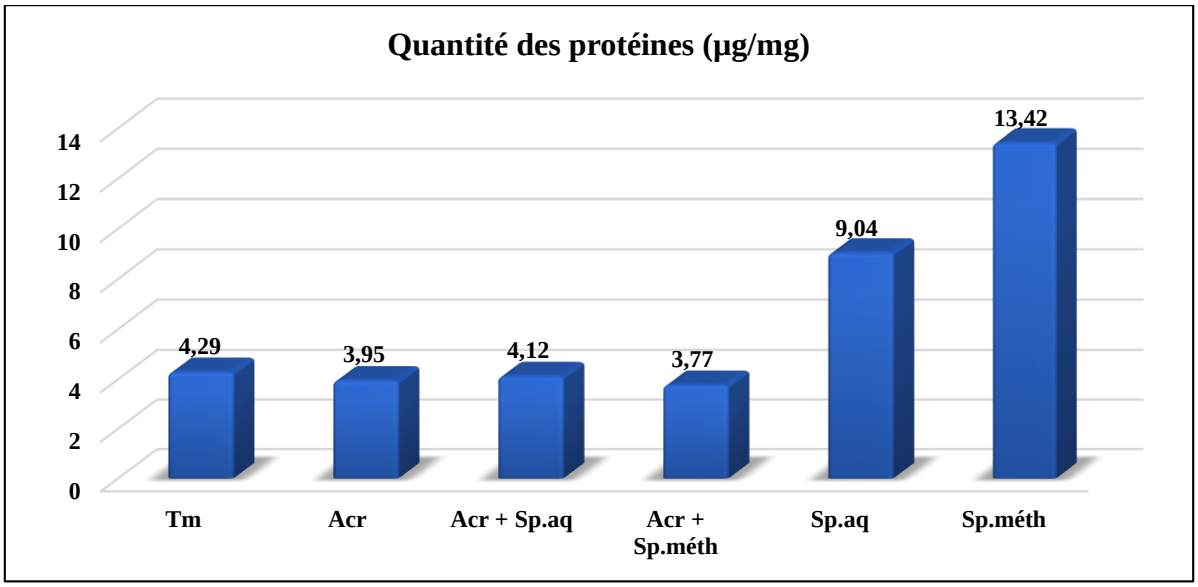


Figure 36 : Dosage des protéines chez les adultes de D. *melanogaster* traités à l'Acrylamide et aux extraits de la Spiruline

Les valeurs de l'activité spécifique de l'AChE chez *D.melanogaster* sont significativement plus hautes chez les séries traitées à l'Acrylamide (allant de 0.0075 jusqu'à 0.0171 µM/min/mg de protéines), par rapport aux témoins. Cependant, la Spiruline montre clairement un effet réducteur dans les sériés ou elle est combinée avec l'Acrylamide.

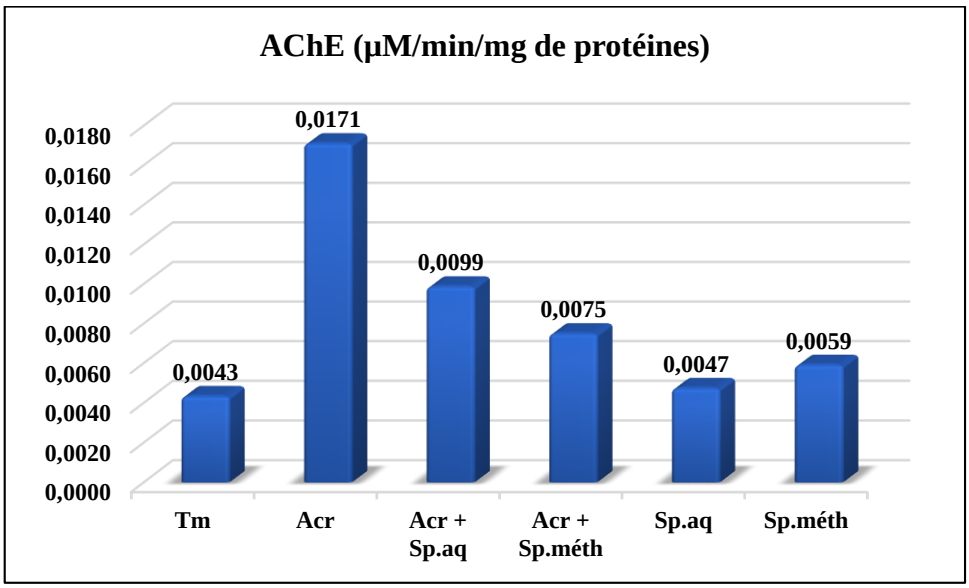


Figure 37 : Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) chez les adultes de D. *melanogaster* traités à l'Acrylamide et aux extraits de la Spiruline.

3.3. Comportement locomotoire

Dans le but de déceler des défiances occasionnées par l'ACR et afin d'examiner la propriété neuroprotectrice de la Spiruline, nous avons testé la performance locomotrice chez les adultes de *D. melanogaster*.

60 secondes après l'inversion des tubes, nous avons observé un pourcentage élevé d'escalade de drosophiles traités l'extrait aqueux hydrométhanolique de la spiruline (93 à 100 %). L'activité diminue quand il s'agit d'un traitement à l'acrylamide 42,86% en comparant avec les témoins. Cependant, le taux augmente en présence la Spiruline **(Fig. 38)**.

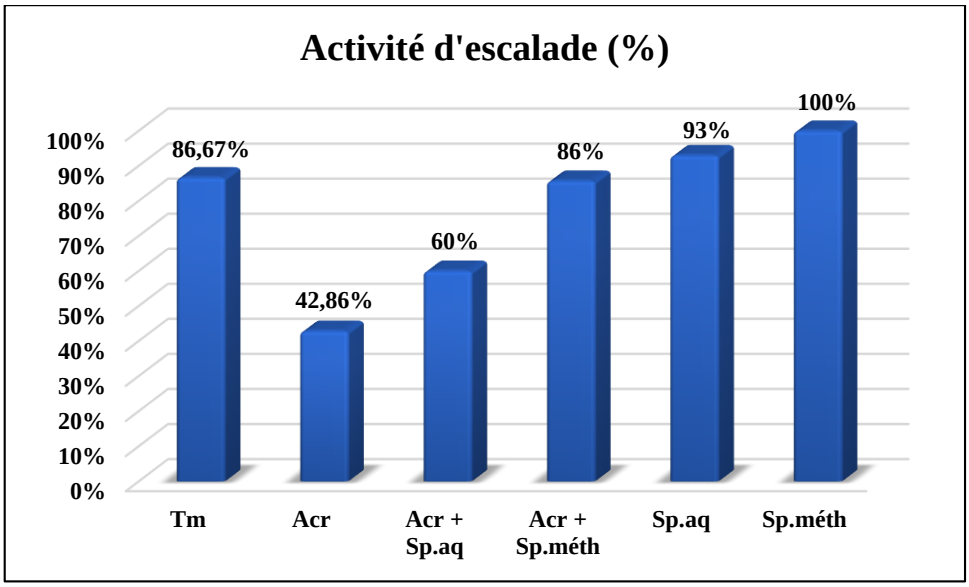


Figure 38 : Activité d'escalade chez les adultes de D. melanogaster traités à l'Acrylamide et aux extraits de la Spiruline

Conclusion :

Conclusion

Cette étude vise à évaluer l'effet neuroprotecteur de la spiruline face à la toxicité d'un produit chimique, spécifiquement l'acrylamide, sur le système nerveux de la mouche des fruits, *D. melanogaster*.

Les extraits de la Spiruline contient une grande quantité de polyphénols, de flavonoïdes et de phycocyanines, et possède une activité antioxydante importante.

La spiruline a un effet positif, protecteur et amélioratif sur le système nerveux des mouches des fruits, contrairement à l'Acrylamide qui l'affecte négativement. Ce dernier a montré une diminution du pourcentage de protéines qui est associée à un besoin accru de lutter contre la toxicité de cette molécule. Il a montré une diminution significative de l'activité spécifique de l'enzyme acétylcholine estérase lié à des déficiences locomotoires.

Enfin, la spiruline est un excellent produit d'un point de vue fonctionnel et nutritionnel. Ces résultats suggèrent que la spiruline, grâce à ses propriétés antioxydantes, pourrait jouer un rôle crucial dans la protection contre les neurotoxines comme l'acrylamide, offrant ainsi une avenue potentielle pour des applications neuroprotectrices dans divers contextes biologiques.

Les références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Aalto-Korte K., Jolanki R., Suuronen K., Estlander T.,(2002). "Biochemist's occupational allergic contact dermatitis from iodoacetamide and acrylamide," Contact Dermatitis, vol. 47, no. 6, pp. 361–364**.**

Abo El-Khair B., El-Sayed., El-Feky A.M., Mounier M., Marwa M., Reda., (2022). C-Phycocyanin, Anticancer Activity and Nutritional Value of MassProduced Spirulina platensis Egypt. J. Chem. Vol. 65, No. 11 pp. 611 – 625.

Abuhamadah R., (2014). Chemical, molecular pharmacology and neuroprotective properties of the essential oil derived from Aloysia citrodora Palau, Durham theses, Durham University. Available at Durham E-Theses Online: http://etheses.dur.ac.uk/10663/.

Ahounou M. N., (2018). La spiruline : Un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. Thèse pour l'obtention d'un Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université de Rouen, UFR de Médecine et de Pharmacie, p 17-27, 40.

Sguera S., (2008). Spirulina platensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. Thèse docteur en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, Faculté de Pharmacie, p 15.

Al-Balawi A., Alhasani R., Biswas L., Reilly J., Akhtar, S., Shu X., (2018). Carnosic acid attenuates acrylamide-induced retinal toxicity in zebrafish embryos. Experimental Eye Research, 175, 103-114.

Alkaloids and Phenols of Maca (Lepidium meyenii). Journal of Food Quality, 1-10.

Anderson J .W., Johnstone B .M., Cook-Newell M .E., (1995). Meta-Analysis of the Effects of Soy Protein Intake on Serum Lipids. N. Engl. J. Med., 333:276-282.

Andrzejewski D., Roach J. A .G., Gay M. L., Musser S.M., (2002). Analysis of coffee for the presence of acrylamide by LC-MS/MS. J. Agric. Food Chem 2004;52:1996**.**

Angelova P.R. & Abramov A.Y., (2018). Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. FEBS Lett., 592 : 692–702.

Arbaoui O. & Bourdjiba R., (2022). Intérêt alimentaire et biotechnologique de la spiruline Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma. 70 pages.

B

Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., Vasseur J., Cazin M., Cazin C., Pinkas M., (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Arzneimittel-Forsching, 46(11): 1086-1089.

Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G.P& in T., Luncky M., Vasseur J. &Cazin M., Cazin C., Pinkas M., (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Arzneimittel-Forsching, 46(11): 1086-1089.

Bakoyiannis I., Daskalopoulou A., Pergialiotis V., Perrea D., (2019). Phytochemicals and cognitive health: Are flavonoids doing the trick? Biomedicine & Pharmacotherapy, 109: 1488–1497.

Bakoyiannis I., Gkioka E., Daskalopoulou A., Korou L.M., Perrea D., Pergialiotis V.,(2015). An explanation of the pathophysiology of adverse neurodevelopmental outcomes in iron deficiency, Rev. Neurosci., 26: 479–488.

Baxter P. S. & Hardingham G. E., (2016). Adaptive regulation of the brain's antioxidant defences by neurons and astrocytes.Free Radical Biology and Medicine 100: 147 -152.

Becalski A., Lau B.P. Y., Lewis D., Seaman S.W., (2003). Acrylamide in foods: occurance, sources, and modeling. J. Agric. Food Chem**,** 51:802-8.

Belhadj benziane A.,(2018). Dosage de l'acrylamidedans dans quelques produits alimentaires et son effet sur les paramètres biochimiques et statut immunochimique des rats wistar. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE DJILLALI LIABES.p152.

Bennett A. & Bogorad L., (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. J. Cell Biol. 58, 419 – 4.

Birlouez-Aragon I., (2008) "La réaction de Maillard dans les aliments: quels enjeux pour la santé humaine?," Cah. Nutr. Diet., vol. 43, no. 6, pp. 289–295.

Blasco H., Garcon G., Patin F., Veyrat-Durebex C et al. (2017). Panel of oxidative stress and inflammatory biomarkers in ALS: a pilot study, Can. J. Neurol. Sci., 44: 90–95.

Bouali M. & Ben merzouk B., (2014). Evaluation des effets d'un biopesticide sur Drosophila mélanogaster. Université Constantine 1. P 824.

Boudaoud S., (2016). Incorporation de la Spiruline sur les Qualités Nutritionnelles, Organoleptiques et Technologiques du Couscous Artisanal, Mémoire de Master en Agronomie, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen. 35p.

Bouhouhou Y. & Chorfi M., (2016). Evaluation Des Effets d'un Biopesticide Sur Drosophila Mélanogaster. Université des Frères Mentouri Constantine. P 44.

Bourdet I., (2014). La Drosophile comme modèle pour l'étude de la maladie d'Alzheimer: rôle de la protéine précurseur Amyloïde dans la mémoire olfactive [En ligne]. Thèse de Doctorat, spécialité de Neurosciences. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, Français. NNT**:** 2014PA066256. 73p

Bruneton J., (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales,

Burg T., (2017). Les maladies neurodégénératives. Planet-Vie. https://planetvie.ens.fr/article/2383/maladies-neurodegeneratives

Butterfield D.A., (2014). The 2013 SFRBM discovery award: selected discoveries from thembutterfield laboratory of oxidative stress and its sequela in brain in cognitive disorders exemplified by Alzheimer disease and chemotherapy induced cognitive impairment, Free Radic. Biol. Med., 74 : 157–174.

C

Casal A., (2019). Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, www.spirulinefrance.fr. consulter le 29/03 a 16 :45.

Castegna A., Lauderback C.M.., Mohmmad-Abdul H., et al., (2004). Modulation of phospholipid asymmetry in synaptosomal membranes by the lipid peroxidation products- , hydroxynonenal and acrolein: implications for Alzheimer's disease. Brain Res., 1004: -193 . 197

Charissou A., Ait-Ameur L., Birlouez-Aragon I.,(2007). "Evaluation of a gas chromatography/mass spectrometry method for the quantification of carboxymethyllysine in food samples," J. Chromatogr. A, vol. 1140, no. 1–2, pp. 189– 194.

Charpy L., Langlade M. J., Alliod R., (2008). La Spiruline peut-elle être un Atout pour la Santé et le Développement en Afrique ? Institut de recherche pour le développement, Marseille.6-16p.

Chay K.O., Nam Koong K.Y., Hwang S., Kim J.K., Bae C.S., (2017). NADPH oxidase mediates β-amyloid peptide-induced neuronal death in mouse cortical cultures, Chonnam Med. J., 53: 196.

Cheignon C., Tomas M., Bonnefont-Rousselot D et al ., (2018). Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. Redox Biology, 14: 450-464.

Chen W.W., Zhang X., Huang W.J., (2016). Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review), Mol. Med. Rep., 13 : 3391–3396.

Cheng K., Chen F., Wang M., (2006). "Heterocyclic amines: chemistry and health," Mol Nutr. Food Res., vol. 50, no. 12, pp. 1150–1170.

Cobley J. N., Fiorello M. L., Bailey D. M., (2018). 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. Redox Biology, 15 : 490–503.

D

Dausset J., (1976). Cytotoxicité à médiation cellulaire. Le Complexe H. L. A. La Nouv. Presse méd., 22 : 1414.

E

ECB., (2002). European Union Risk Assessment Report: Acrylamide.

El Babili F., Nicole L.M., Caroline V., RomainL., Arthur H., (2020). «ICH Validation of DPPH Assay Method: Some Interesting Medicinal Drugs ». Volume 6, Issue 2.

Elbah D., (2017). Etude de deux modèles d'insectes nuisibles coloniaux des milieux urbains: Blattella germanica (L.) et Drosophila melanogaster : Aspect toxicologique et comportemental [En ligne]. Thèse de Doctorat en Neurosciences. Université de Badji Mokhtar Annaba. 1p, 9p.

Elise N., Vicky A., Paule N., Anatole P., Julius O., Carl M., Jeanne N., (2022). Spirulina Platensis de Nomayos : un alicament potentiel pour la prise en charge de l'infection au COVID-19. REVUE DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DU CAMEROUN Vol. 18 Supplément .pp. 520- 529.

Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherstone R.M., (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol. 7: 88-95.

El-Moataaz S., Ismael H., Abo-Rhyem S., (2019). Assessment of Chemical Composition of Spirulina Platensis and its Effect on Fasting Blood Glucose and Lipid Profile in Diabetic Rats. Journal of High Institute of Public Health 49(3):199-211.

Eman B.,Abd El-Mottaleb M., Rashed Y.M .,(2008). "Some Studies On Acrylamide Intoxication In Male Albino Rats," Path. Clin. Path, vol. 21, no. 4, pp. 222–245**.**

ème édition, lavoisier, Paris, 1120 p.*3*

Emerit J., Edeas M., Bricaire F., (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress.Biomedicine & Pharmacotherapy, 58: 39-46.

Erbersdobler H.F. & Faist V., (2001). "Metabolic transit of Amadori products," Mol. Nutr Food Res., vol. 45, no. 3, pp. 177–181**.**

F

Fox., (1999). Spiruline, Technologie pratique et promesse – France, 240p.

Friedman M., (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A re-view. J. Agric Food Chem**,** 51: 4504-4526.

Froestl W., Muhs A., Pfeifer A., (2013). Cognitive enhancers (nootropics). Part 2: drugs interacting with enzymes, J. Alzheimers Dis. 33: 547–658.

Fu M.X. & Requena J.R., Jenkins A.J., Lyons T.J., Baynes J.W., Thorpe S.R., (1996)."The advanced glycation end product, N-(carboxymethyl) lysine, is a product of both lipid peroxidation and glycoxidation reactions," J. Biol. Chem., vol. 271, no. 17, pp9982–9986.

G

Gamboa D .C .G., Cuchwell M. I., Hamilton P., Von Tungeln L.S. ,Beland F.A., Marques M. M., Doerger D. R.,(2003). DNA adduct formation from acry-lamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice. Chem. Res. Toxicol,16:1328-37.

Georgé S., Brat P., Alter P., Amiot M. J., (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. Journal of Agricultural and food chemistry, 53:5, 1370-1373.

Ghedadba N., Hambaba L.,Ayachi M.C., Aberkane H., Bousselsela S.M. et Oueld-Moukhtar.,(2015).polyphénols totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de Marrubium deserti de Noé. Phytothérapie.vol.13.pp.118-129.

H

Hagmar L. & al., (2001). "Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose," Scand. J. Work. Environ. Health. pp. 219–226.

Haq S.H. & Al Amro A.A., (2019). Neuroprotective effect of quercetin in murine cortical brain tissue cultures. Clinical Nutrition Experimental, 23: 89-96.

He C., Pan Y., Ji X .,Wang H., (2012). Antioxidants: Introduction. Antioxidant Polymers, Synthesis, Properties, and Applications. Giuseppe Cirillo and Francesca lemma, 23-54.

Holmstrom K.M. & Finkel T., (2014). Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 15: 411–421.

Hug C. & Weid D.,(2011). La spiruline dans la lutte contre la male nutrition. Fondation antenna technologie, 30 pages.

I

I. Birlouez-Aragon I., Morales F., Fogliano V., Pain J.P., (2010). "The health and technological implications of a better control of neoformed contaminants by the food industry," Pathol. Biol., vol. 58, no. 3, pp. 232–238.

INRS., (2007). France. Institut national de recherche et de sécurité, Fiche toxicologique no 119 : Acrylamide. Cahiers de notes documentaires. Paris : INRS. (2007). [RE-005509]. pp. 1–10.

Iriti M., Vitalini S., Fico G., Faoro F., (2010). Neuroprotective herbs and foods from different traditional medicines and diets. Molecules, 15:3517-3555.

J

Jaronen M., Vehvilainen P., Malm T et al.,(2013). Protein disulfide isomerase in ALS mouse glia links protein misfolding with NADPH oxidase-catalyzed superoxide production. Hum. Mol. Genet., 22:646–655.

Jomova K. &Valko M., (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. Toxicology, 283: 65–87.

Jourdan J. P., (2006). Manuel de culture artisanale de la production de la spiruline.

K

Kedare S. B. & Singh R. P., (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J. Food Sci. Technol, 48 (4), 412–422.

Khazdair M.R., Anaeigoudari A., Hashemzehi M., et al., (2018). Neuroprotective potency of some spice herbs, a literature review. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 9:98-105.

Khouas H.,(2013). Effet Antioxydant De La Spiruline En Association Avec Les Bifidobacteriums Sur Le Diabete. Mémoire de master. Université Saad Dahlab – Blida.

Kislinger T. & al.,(1999). "N ε-(carboxymethyl) lysine adducts of proteins are ligands for receptor for advanced glycation end products that activate cell signaling pathways and modulate gene expression," J. Biol. Chem., vol. 274, no. 44, pp. 31740–31749.

Kissoum N. & Soltani N., (2016). Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in

Drosophila melanogaster. JOURNAL OF ENTOMOLOGY AND ZOOLOGY STUDIES [En ligne]. 4(1): 452-456.

Knecht K.J. & al., (1991). "Effect of diabetes and aging on carboxymethyllysine levels in human urine," Diabetes, vol. 40, no. 2, pp. 190–196.

Kochetova M. V., ESemenistaya E. N., Larionov O .G., Revina A. A., (2007). Determination of biologically active phenols and polyphenols in various objects by chromatographic techniques. Russian Chemical Reviews, 76:79-90.

Kjuus. H et al., (2002). Dosage de l'acrylamidedans dans quelques produits alimentaires et son effet sur les paramètres biochimiques et statut immunochimique des rats wistar. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE DJILLALI LIABES.p152.

Kjuus H. & al.,(2004). "Effects on the peripheral nervous system of tunnel workers exposed to acrylamide and N-methylolacrylamide," Scand. J. Work. Environ. Health, pp. 21–29**.**

L

Lafri I., Jemni M., Bensehaila S., Boutekrabt L., (2017).évaluation des méthodes d'extraction de la phycocyanine et son rendement à partir de spirulina platensis.revue agrobiologia 7(2):623-634.

Lahcini Z., Achab S., Dahnoun K., (2022). Contribution à l'activité biologique des extrait éthanolique et méthanolique de microalgue (spiruline). MEMOIRE de Master en Sciences Biologiques. Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED.p64.

Leopoldini M., Russo N., Toscano M., (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. Food Chemistry, 125: 288-306.

Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F., Jiang Y., (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Foodchem. 102: 771-776.

Li Y. & Pagano P.J., (2017). Microvascular NADPH oxidase in health and disease, Free Radic Biol. Med., 109 :33–47. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.

Lin R.Y. & al., (2003). "Dietary glycotoxins promote diabetic atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice," Atherosclerosis, vol. 168, no. 2, pp. 213–220**.**

LoPachin R.M.,(2004). "The changing view of acrylamide neurotoxicity," Neurotoxicology vol. 25, no. 4, pp. 617–630**.**

Lyon F., (1994). "IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans," Some Ind. Chem., vol. 60, pp. 389–433**.**

M

Manet A., (2016). La spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires et Conseils à l'Officine. Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur en pharmacie, Diplôme d'état, Université Grenoble Alpes, Faculté de Pharmacie de Grenoble.p:116.

Manson J. & al., (2005). "NTP-CERHR Expert Panel report on the reproductive and developmental toxicity of acrylamide," Birth Defects Res. Part B Dev. Reprod. Toxicol., vol. 74, no. 1, pp. 17–113**.**

Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P., (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (Phoenix dactylifera),Food Chemistry.89: 411-420.

Marengo B., Nitti M., Furfaro A. L. et al ., (2016). Redox Homeostasis and Cellular Antioxidant Systems: Crucial Players in Cancer Growth and Therapy. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 1–16.

Marinkovic M., Verweij R., Nummerdor G., JonkerM. & Kraak M.& Admiraal W., (2011). Life cycle responses of the midge chironomus riparius to compounds with different modes of action. Environmental Science & Technology, 45(4), 1645-1651.

Miranda M. S., Cintra R. G., Barros S. B., (1998). Antioxydant Activity of the Micoalga Spirulina maxima, Braz J Med Biol Res, 1998. 31: 1075-9 p.

Motamed Shariaty V., FarzadS., Nassiri-Asl M., Hosseinzadeh H., (2014). Effects of rutin on acrylamide-induced neurotoxicity. Daru Journal of Pharmaceutical Sciences, 22(1).

Murkovic M., (2004). Acrylamide in Austrian foods. J. Biochem. Biophys. Methods, 61: 7-161.

N

Negrean M. & al., (2007). "Effects of low-and high-advanced glycation endproduct meals on macro-and microvascular endothelial function and oxidative stress in patients with type2 diabetes mellitus–," Am. J. Clin. Nutr., vol. 85, no. 5, pp. 1236–1243**.**

Nemmiche S., (2017). Oxidative Signaling Response to Cadmium Exposure. Toxicological sciences, 156:4–10.

Niangoran N'goran U.F.,(2017). Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé: Eclairage et Estimation de la Biomasse, Thèse de Doctorat, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, 120 pages.

NICNAS T.,(2002). "Priority existing chemical assessment report no. 23," Natl. Ind. Chem Notif. Assess. Scheme, Dep. Heal. Ageing, Aust. Gov. Sydney, Aust.

O

Ong C., Yung L., Cai Y., Bay B., Baeg G., (2015). Drosophila melanogaster sa model organism to studynanotoxicity Toxicity study in Drosophila. Nanotoxicology. [En ligne]. DOI: 10.3109/17435390.2014.940405. 397p.

Organization W.H., (2002). "Acrylamide in food (update)," Wkly. Epidemiol. Rec. Relev épidémiologique Hebd., vol. 77, no. 30, pp: 253–254**.**

P

Pak M.E., Kim Y.R., Kim H.N., et al., (2016). Studies on medicinal herbs for cognitive enhancement based on the text mining of Dongeuibogam and preliminary evaluation of its effects. J. Ethnopharmacol., 179: 383–390.

Park J., Kamendulis L.M., Friedman M.A., Klaunig J., (2002). Acrylamide-induced cellular transformation. Toxicol. Sci, 65:177-83.

Perrault A., (2017). A la Recherche de Nouveaux Caroténoïdes Super Antioxydants, Portail Actus, INRA, Université d'Avignon, France.

Picón-Pagès P., Garcia-Buendia J., Muñoz F. J., (2018). Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain. BBA - Molecular Basis of Disease,1-19.

R

Reichmann D. & Voth W. & Jakob U.,(2018). Maintaining a Healthy Proteome during Oxidative Stress. Molecular Cell., 69:1-11.

Rodrigo R., Miranda A., Vergara L., (2011). Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. Clinica Chimica Ada., 412:410-424.

Rooks E., Gestel C.,Wezel A., Straalen N., (2000). Ratios between acute aquatic toxicity and effects on population growth rates in relation to toxicant mode of action. Environmental Toxicology and Chemistry, 19(3), 685-693.

S

Saavedra G. & al., (2008). "Les produits de Maillard issus de la cuisson ont-ils des effets biologiques ?" Sci. Aliments, vol. 28, no. 3, pp. 223–230.

Saidi I., (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : Gleditsia triacanthos de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat. Université Djillali Liabès Sidi Bel Abbés.p147.

Sandu O.A. & al., (2004). "Insulin Resistance (ir) and Type 2 Diabetes (t2d) in High Fat-fed Mice Are Linked to High Glycotoxin, Rather Than High Fat Intake," Diabetes, vol. 53, pp. A20–A21**.**

Sharma A. & Jain J., (2008). "Effects of oral exposure of acrylamide on plasma levels of thyroid hormones and haematological parameters in the Swiss albino mice," Asian J. Exp. Sci, vol. 22, no. 3, pp. 317–324..

Shibko S.P., Koivistoinen C., Tratynek A., Newhall A., Friedman L., (1966). A methodfor the sequential quantitative separation and determination of protein. RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellulae fraction. Anal Biochem.19: 415 - 528.

Shmitz T., (2014). Les Incroyables Propriétés de la Phycocyanine, Principe de santé, Revue N° 72.

Siti A., Novi Nur A., Eva O., Neng Fisheri K., (2021). Evaluation of Antioxidant and Wound Healing Activities of Spirulina sp. Extract Egypt. J. Chem. Vol. 64, No. 8 pp. 4601 – 4610.

Sivandzade F., Prasad S., Bhalerao A., Cucullo L., (2019).NRF2 and NF-κ B interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. Redox Biology, 21: 101-059.

Slayne M.A. Lineback D.R., (2005).“Acrylamide: considerations for risk management," J. AOAC Int., vol. 88, no. 1, pp. 227–233**.**

Smith E.A., Prues S.L., Oehme F.W., (1996)."Environmental degradation of polyacrylamides. 1. Effects of artificial environmental conditions: temperature, light, and pH," Ecotoxicol. Environ. Saf., vol. 35, no. 2, pp. 121–135.

Smith K.J., Kapoor R., Felts P.A., (1999). Demyelination: the role of reactive oxygen and nitrogen species. Brain Patho .,9: 69–92.

Sowndhararajan K., Deepa P., Kim M., Park S.J., Kim S., (2018). An overview of neuroprotective and cognitive enhancement properties of lignans from Schisandra chinensis.Biomedicine & Pharmacotherapy, 97:958–968.

Stocker R., Keaney Jr J.F., (2004). Role of oxidative modifications in atherosclerosis Physiol. Rev., 84:1381-1478.

Svensson K. & al.,(2003). "Dietary intake of acrylamide in Sweden," Food Chem. Toxicol., vol 41, no. 11, pp. 1581–1586.

T

Tareke E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Törnqvist M., (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. J. Agric. Food Chem**,** 50:4998-5006.

Théodore Z. G. H. C., (2017). Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé: éclairage et estimation de la biomasse (Doctoral dissertation, Toulouse 3).

Toker A., (2016). "Evaluation of Some Renal Function Parameters in Rats Treated with Acrylamide," ARC J. Anim. Vet. Sci., vol. 2, no. 1, pp. 1–8**.**

Torres R., (2006). Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of Haplopappus multifolius; Phytochemistry.67: 984-987.

Toudert M. & Bouzidi O., (2020). Intérêt de l'utilisation de la spiruline dans les aliments Fonctionnels. Mémoire de Master. Université Akli Mohand Oulhadj Bouira, 49 pages.

Tremblin G. & Moreau B., (2017). La Spiruline sera-t-elle l'Aliment Miracle du XXIème siècle ? Article, Le Mans Université.

V

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions, 160:1-40.

Ververidis F., Trantas E., Douglas C., et al ., (2007). Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: chemical diversity, impacts on plant biology and human health, Biotechnol. J., 2:1214–1234.

Vidalo J. L., (2015). Spiruline, l'algue bleue de santé et de prévention, Livre, Chapitre 3 /Cancer et Spiruline, p 101, Chapitre 16 / Universelle spiruline. A chacun son profil p. 240.

W

Waxman H.A., Markey E.J., DeGette D., (2011). "PRODUITS CHIMIQUES UTILISEES DANS LA FRACTURATION HYDRAULIQUE"**.**

Weideborg M., Källqvist T., Ødegård K.E., Sverdrup L.E., Vik E.A., (2001). "Environmental risk assessment of acrylamide and methylolacrylamide from a grouting agent used in the tunnel construction of Romeriksporten, Norway," Water Res., vol. 35, no. 11, pp. 2645–2652**.**

Weisshaar R. & Gutsche B., (2002). "Formation of acrylamide in heated potato productsmodel experiments pointing to asparagine as precursor," Dtsch. Leb., vol. 98, no. 11, pp. 400-397.

WEISSHAAR R. &Gutsche B., (2002) "Formation of acrylamide in heated potato productsmodel experiments pointing to asparagine as precursor," Dtsch. Leb., vol. 98, no. 11, pp. 397–400.

Weisshaar R., (2004). Acrylamide in heated potato products analytics and for-mation routes Eur. J. Lipid Sci. Technol, 106:786-92.

Wu J. M., Hsieh T. C., (2011). Resveratrol: a cardioprotective substance. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1215 :16–21.

X

Gan J., Feng Y., He Z., et al., (2017). Correlations between Antioxidant Activity and

Xu X., Kanbara K., Azakami H., Kato A., (2004). Expression and Characterization of Saccharomyces cerevisiae Cne1p, a Calnexin Homologue. Journal of Biochemistry, 135: 615–618.

Y

Yahiaoui H.,(2018). Pouvoir Antioxydant et Neuroprotecteur de Quelques Plantes Algériennes. thèse de doctorat.universite abdelhamid ibn badis mostaganem.p201.

Yang H.J., Lee S.H., Jin Y., Choi J.H. , Han C.H. , Lee M.H., (2005). "Genotoxicity and toxicological effects of acrylamide on reproductive system in male rats," J. Vet. Sci,. vol. 6, no. 2, pp. 103–109**.**

Ye Z.W., Zhang J., Townsend D. M., Tew K. D., (2015). Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. Biochimica et Biophysica Acta., 1621-1850:1607-1621.

Z

Zawada W.M., Mrak R.E., Biedermann J et al., (2015). Loss of angiotensin II receptor expression in dopamine neurons in Parkinson's disease correlates with pathological progression and is accompanied by increases in Nox4- and 8-OH guanosine-related nucleic acid oxidation and caspase-3 activation. Acta Neuropathol. Commun., 3: 9.

Zhou Y., Zeng T., Zhu Y.,Sung Y., Wang Q., Zhang L., Xie K., (2008). Effects of acrylamide on the nervous tissue antioxidant system and sciatic nerve electrophysiology in the rat. Neurochemical Research, 33(11), 2310-2317.

WEBOGRAPHIES :

1. https://www.spirulinefrance.fr/composition-spiruline/proteines. (Dernière consultation 2 juin2024 17 : 04)
2. https://cheval-partenaire.fr/la-spiruline-pour-le-cheval/ (dernière consultation 2 juin2024 17:07)
3. https://andor.oxinst.com/learning/view/article/advantages-of-using-drosophila-melanogaster-as-a-model-organism (dernière consultation 10 juin2024 12:37).