الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université
Dr.Yahia FARES de MEDEA

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة الدكتور يحي فارس بالمدية

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master II

En **Science de la Nature et de la Vie**

Spécialité : Biologie et Pathologie cellulaire

Thème :

IMPLICATION DU STRESS OXYDATIF DANS L'EVOLUTION D'UN MODELE EXPERIMENTALE DE BPCO CHEZ LES SOURIS BALB/C.

Présenté par :

Mlle. ABDELLATIF Rania

Mlle. BENDALI BRAHAM Ibtissam

Soutenu publiquement le 15 juin, devant le jury composé de :

Président : Mr. BENAFRI. Nadir	**MAB** à l 'Université Dr Farés Yahia
Examinateur : Mme. DOUAOUI. Sanaa	**MAB** à l 'Université Dr Farés Yahia
Promotrice : Mme. Pr. BENACHOUR Karine	Pr. à l 'Université Dr Farés Yahia
Co-promotrice : Mme. SLAMA Nada	Doctorante à l 'Université Dr Farés Yahia

Promotion : **2022/2023**

Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH de nous avoir donné la patience et le courage pour arriver à ce jour de triomphe.

Nous exprimons nos sincères gratitude et remerciements à notre encadreur de Master ***Prof. Benachour Karine,*** *ainsi qu'à notre Co-encadrante* ***Mme. Nada Slama*** *pour son orientation, son aide, sa patience et sa gentillesse. Ses très nombreuses connaissances et sa modestie nous ont permis de réaliser ce travail de mémoire. Travailler sous votre aimable direction fut une découverte tant agréable qu'enrichissante à la fois grâce à votre très grande écoute et votre disponibilité.*

Nous n'oublierons jamais notre cher ***Professeur OUMOUNA Mustapha****, Nous avons été profondément touchés par votre simplicité, votre abord facile, votre rigueur scientifique, Vos qualités professionnelles et humaines, votre gentillesse et votre lucide compréhension sont pour nous un exemple à suivre, Veuillez trouver ici l'expression d notre gratitude.*

Nous voudrons remercier vivement et profondément à notre sœur ***Mme. ABDELATIF*** *Amina pour ses encouragements et pour le temps et les informations qui nous ont permis de réaliser ce modeste travail. Sans votre soutien ce travail n'aurait jamais pu être réalisé.*

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos sincères remerciements vont également à tous les enseignants du département de biologie de l'université Dr. Yahya Farés à Médéa

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

A l'astre qui s'est éteint et qui continue toujours de m'éclaircir sur la voie de la clairvoyance, de la sagesse et du savoir. A celle qui m'a appris le sens sacré de l'amour, la compassion, l'humanisme ainsi que les plus belles valeurs humaines. A celle qui a fait en sorte que je voie le jour. A celle qui a essuyé mes larmes. A celle qui m'a donné le courage d'avancer. A celle qui n'a pas vécu pour assister à ce jour de triomphe. ***A ma chère maman*** *que je dédie cette réussite. Que Dieu, le tout puissant, l'accueille en son vaste paradis.*

A mon père*, Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

A mes chères sœurs, les fleurs de ma vie, ***Nadia*** *au cœur si grand,* ***Karima*** *la douce et mon bras droit* ***Amina*** *qui a été toujours à mon côté et celle qui m'a donné le courage d'avancer. Aucune dédicace aussi expressive qu'elle soit, ne saurait exprimer la profondeur de mes sentiments et l'estime que j'ai pour vous. Je vous remercie pour votre soutien quotidien et vos prières.*

A mon cher petit frère ***Adel*** *que j'aime profondément, pour toute l'ambiance dont tu m'as entouré, pour toute la spontanéité, pour tes aimables services sans hésitation je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès. Puisse Dieu le tout puissant exhausser tous tes veux.*

A mes neveux ***Alaadine*** *et le petit* ***djawed*** *aussi que ma chère nièce* ***Soraya****.*

A mon binôme : Melle ***IBTISSEM*** *merci d'avoir partagé ce parcoure avec moi, Je te souhaite un avenir plein de réussite et de sérénité.*

A mes meilleures amies ***Sarah, Imane, Ikram , Rafika , Nada*** *et En souvenir de notre sincère et profonde amitié et les moments agréables que nous avons passés ensemble, vous êtes pour moi des sœurs Avec toute mon affection et estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur.*

Rania Abdellatif

Dédicace

Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage et la force, je dédie ce modeste travail à chaque personne qui ma aidez par n'importe quelle chose, à tous ceux qui m'ont aimé ou m'ont souhaité le bonheur, et plus particulièrement

***Mon très cher père Je** dédie ce travail à la pensée de mon père **ABDELRAHIM** qu'il reste à jamais gravé dans mon Cœur et mon esprit ! Que Dieu l'accueille dans son vaste paradis, que Dieu paix à son âme.*

***Ma très chère honorable mère La** lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ma chère maman **RAHIMA.** Puisse dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur … je t'aime.*

***À mes chères sœurs et frères** Mes chers frères et sœurs **Feriel, Akram, Mohamed** et ma belle-sœur **Amira**. Sans eux, je ne pourrais pas être qui je suis, en reconnaissance de leurs efforts, de leur amour et de leurs encouragements tout au long de mes études.*

*À ma nièce la fleur de ma vie **Rafif je** te souhaite une vie, plein de bonheur et de succès*

***A ma chère Co-promotrice** Mdm N. Slama merci pour tous les efforts fournis afin de mener à terme notre mémoire.*

***A mon binôme** : Melle Rania qui a partagé avec moi ce travail, merci pour votre soutien moral, ta patience et ta compréhension tout au long de cette étude. Tous mes vœux de bonheur, santé et de prospérité.*

***A mes amis** A mes amis **Maroua, Rayane, Amina, Anfel, Zola, Zaho** En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons Passés ensembles.*

IBTISSEM

Résumé :

La Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO) est une maladie qui se développe en raison d'une réponse inflammatoire prolongée causée par l'inhalation de fumée de cigarette ou de substances toxiques pour les voies respiratoires. Cette inflammation affecte non seulement les poumons et les bronches, mais aussi d'autres parties du corps, ce qui peut entraîner diverses comorbidités.

Cette étude fait suite à une précédente qui visait à améliorer un modèle animal de BPCO en analysant les paramètres inflammatoires à travers des examens histologiques et sanguins.

L'objectif de la présente étude repose sur l'analyse histologique et l'évaluation des paramètres du stress oxydatif.

L'étude histologique avait pour but d'observer les lésions pulmonaires et extrapulmonaires dans différents tissus (foie, cœur, muscles, poumon). Les résultats de cette étude montrent que l'inhalation de fumée de cigarette (CSE) provoque des altérations histologiques chez les souris femelles de souche BALB/c, notamment une hyperplasie bronchique et musculaire au niveau des poumons, ainsi qu'une réduction de la taille et de la masse musculaire. De plus, une présence de stéatose hépatique, caractérisée par l'accumulation de graisse dans les cellules hépatiques, a été observée, tandis qu'au niveau cardiaque, on constate une réduction de la taille et une disposition irrégulière des fibres cardiaques.

L'étude sur le stress oxydatif démontre que l'exposition à la fumée de cigarette entraîne un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, avec une diminution significative des niveaux d'antioxydants tels que le GSH, la CAT et la SOD, et une augmentation significative des oxydants tels que le MDA.

Les mots clés : La Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO), stress oxydatif, CSE, antioxydant, oxydant, comorbidité.

Summary

Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is a disease that develops due to a prolonged inflammatory response caused by inhalation of cigarette smoke or toxic substances for the respiratory system. This inflammation affects not only the lungs and bronchi but also other parts of the body, leading to various comorbidities.

This study builds upon a previous one aimed at improving an animal model of COPD by analyzing inflammatory parameters through histological and blood examinations.

The objective of this current study is focused on histological analysis and the evaluation of oxidative stress parameters.

The histological study aimed to observe lung and extrapulmonary lesions in different tissues (liver, heart, muscles). The results of this study show that inhalation of cigarette smoke (CSE) causes histological alterations in female BALB/c mice, including bronchial and muscular hyperplasia in the lungs, as well as a reduction in muscle size and mass. Additionally, there is evidence of hepatic steatosis, characterized by fat accumulation in liver cells, while in the cardiac tissue, there is a reduction in size and irregular arrangement of cardiac fibers.

The study on oxidative stress demonstrates that exposure to cigarette smoke leads to an imbalance between oxidants and antioxidants, with a significant decrease in antioxidant levels such as GSH, CAT, and SOD, and a significant increase in oxidants such as MDA.**Key words**: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), oxidative stress, ESC, antioxidant, oxidant, comorbidity.

ملخص :

مرض الانسداد الرئوي المزمن (COPD)هو مرض ناجم عن استجابة التهابية مزمنة بعد استنشاق دخان السجائر أو الملوثات السامة المحمولة في الهواء لمجرى الهواء. مرض الانسداد الرئوي المزمن هو مرض لا يسبب التهاب حمة الرئة والشعب الهوائية فحسب ، بل يسبب أيضًا التهابًا جهازيًا يمكن أن يلعب دورًا في العديد من الأمراض المصاحبة خارج الجهاز التنفسي.

تتبع هذه الدراسة الدراسة التي تم إجراؤها في العام السابق ، والتي تهدف إلى تحسين نموذج حيواني لمرض الانسداد الرئوي المزمن بناءً على التحليل النسيجي والدمي لمعايير الالتهاب.

يعتمد الهدف الحالي على الدراسات النسيجية ودراسة معاملات الإجهاد التأكسدي.

الدراسة النسيجية يجب أن تدرس الآفات الرئوية وخارج الرئة في عدة أنسجة (الكبد ، القلب ، العضلات). توضح هذه الدراسة أن CSEتسبب في تغيرات نسيجية في إناث الفئران BALB / cعلى مستوى الرئة التي تتميز بتضخم الشعب الهوائية والعضلات وعلى مستوى العضلات التي تتميز بانخفاض في الحجم وكتلة العضلات. بالإضافة إلى ذلك ، يوجد في الكبد تنكس دهني كبدي ، يتميز بتراكم الدهون في خلايا الكبد ، بينما على مستوى القلب هناك انخفاض في الحجم وترتيب غير منتظم لألياف القلب.

أظهرت دراسة الإجهاد التأكسدي أن التعرض لدخان السجائر تسبب في اختلال التوازن بين المواد المؤكسدة ومضادات الأكسدة من خلال انخفاض كبير في مضادات الأكسدة مثل GSHو CATو SODوزيادة كبيرة في المواد المؤكسدة مثل .MDA

الكلمات المفتاحية: مرض الانسداد الرئوي المزمن (COPD)، الإجهاد التأكسدي ، CSE، مضادات الأكسدة ، الأكسدة ، الاعتلال المشترك

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction....1

Partie 1 : Recherche bibliographique

Chapitre 1 : Généralité (BPCO)

1 Définition....3

2.Les Stades de la gravité BPCO (classification)....3

3. Les facteurs de risques....4

3.1 Les facteurs exogènes....4

3.1.1 Le tabac....4

3.1.2 Nutrition....5

3.1.3 Le statut socio-économique (SSE)....5

3.1.4 Pollution atmosphérique....5

3.1.5 Expositions professionnelles....5

3.1.6 Les infections....6

3.1.7 Asthme....6

3.1.8 Hyperréactivité bronchique....6

3.2 Les Facteurs endogènes....6

3.2.1 Génétique....6

3.2.2 Le sexe et L'âge....7

4 Épidémiologie....**Erreur ! Signet non défini.**

4.1 Dans le monde....8

4.2 Dans Moyen-Orient....9

4.3 En Algérie....10

Chapitre 2 : La physiopathologie de La BPCO

1 Définition....11

2 Bronchite chronique....12

3 L'emphysème....13

3.1 Emphysème centriacinaire (centrolobulaire)....14

4 Fibrose pulmonaire....15

5 L'inflammation chronique pulmonaire....16

6 Les cellules inflammatoires....18

6.1 Les macrophages....18
6.2 Les polynucléaires neutrophiles....18
6.3 Les cellules dendritiques....19
6.4 Les cellules épithéliales....20
6.5 Les fibroblastes....21
7 Immunité adaptative....22
7.1 Les lymphocytes T....22
7.2 Les lymphocytes B....22
Chapitre 3 : Les comorbidités de la BPCO
1 L'inflammation systémique....25
2 Comorbidités cardiovasculaires....26
3 Ostéoporose....26
4 Diabète et syndrome métabolique....27
5 Le Cancer....28
6 Atrophie musculaire....28
Chapitre IV : Tabagisme et BPCO
1 Le Tabac....30
1.1 Définition....30
2 Les différents courants de la fumée....30
3 Composition du tabac....32
3.1 La nicotine....32
3.2 Les autres composants....33
3.2.1 Le monoxyde de carbone....33
3.2.2 Les substances cancérigènes....33
3.2.3 Les métaux lourds....34
3.2.4 Les substances irritantes....34
3.2.5 Les additifs....34
3.2.6 Les goudrons :....35
Chapitre 5 Le stress oxydatif dans la BPCO
1 Définition du stress oxydant....36
2 Les radicaux libres :....37
2.1 Définition....37
3 Implication du stress oxydatif dans la genèse de BPCO....38
4 Les pro oxydants....39

4.1 Le monoxyde d'azote (NO) 39
4.2 Le malondialdéhyde (MDA) 40
5 Définition de Système de défenses antioxydants 40
5.1 Le Système antioxydant enzymatique 40
5.1.1 Définition 40
5.1.2 Superoxyde dismutase (SOD) 41
5.1.3 Catalase 41
5.1.4 Glutathion peroxydase (GPX) 41
5.2 Les antioxydants non-enzymatiques 42
5.2.1 Glutathion (GSH) 42
5.2.2 Vitamine E 42
5.2.3 La vitamine C 43
5.2.4 L'acide urique 43
6 Les conséquences du stress oxydant 43
6.1 Oxydation des protéines 43
6.2 La peroxydation lipidique 44
6.3 Dommages oxydatifs liés à l'ADN 44

Partie matériel et méthode

1 Etude expérimentale 46
2 Objectif de l'étude : 46
3 Matériels 46
3.1 Les matériels non biologiques 46
3.2 Les matériels biologiques 46
3.2.1 Les souris 46
3.2.2 Extrait de fumée 46
3.2.3 Méthodes de Préparation l'extrait de fumée 47
3.2.4 Le Protocol expérimental et conception des lots 47
3.2.5 Récupération des organes 48
4 Dosage tissulaire des paramètres du stress oxydant 48
4.1 Préparation de l'homogénat : 48
4.2 Dosage de malondialdéhyde (MDA) 49
4.2.1 Le principe 49
4.2.3 Mode opératoire 49
4.3 Dosage de l'activité de la catalase (CAT) 50

4.3.1 Principe 50
4.3.2 Mode opératoire 50
4.4 Dosage des protéines tissulaire 51
4.4.1 Principe 51
4.4.2 Mode opératoire 52
4.5 Dosage de l'activité de super oxyde dismutase (SOD) 52
4.5.1 Principe 52
4.5.2Mode opératoire 53
4.6 Dosage du glutathion réduit (GSH) 53
4.6.1 Principe 53
4.6.2 Mode opératoire 54
5 Etude histologique : 55
5.1 Fixation des organes : 55
5.2 Insertion dans les casettes et préparation des blocks. 55
5.3 déshydratation 55
5.4Préparation des blocs (inclusion) : 55
5.5 Réalisation des coupes : 55
5.6 Coloration des lames 55
5.7 Déshydratation et montage 56
I.1/ 5.8 Observation microscopique. 56
6 ANALYSE STATISTIQUES 56
Partie résultats et discussion
1 Étude des paramètres du stress oxydant 56
2 l'Etude histologique 57
2.1 Etude histologique au niveaux pulmonaire 57
2.1.1Etude histologique musculaires 58
2.1.2 Etude histologique hépatique 59
2.2.3 Etude histologique au niveau cardiaque 60
1 Discussion 64
Conclusion 69
Références bibliographiques
Annexe

Liste des figures

Figure 1 : classification de la sévérité de la limitation de l'airflaw dans la BPCO.....4
Figure 2: Répartition par sexe selon les groupes d'âge des sujets ayant un 7
Figure 3: la répartition de la BPCO dans le monde (Adeloye et al., 2022).....8
Figure 4 : Les 11 pays participants et le nombre de sujets inclus dans l'étude BREATHE (Safiri et al., 2022).....9
Figure 5: Bronchite chronique et emphysème chez le patient atteint de BPCO.....13
Figure 6: structure de l'emphysème centriacinare et panacinare (*Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, n.d.).....15
Figure 7: Mécanismes pathogènes dans la fibrose pulmonaire (*Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, n.d.) 16
Figure 8: Cellules inflammatoires et immunitaires impliquées dans la BPCO (Kato & Hanaoka, 2017).....17
Figure 9 : Rôle central des macrophages alvéolaires chez les patients atteints de BPCO (Barnes, 2016).....18
Figure 10 : le rôle des cellules épithéliales bronchiques dans la pathogenèse de la bronchopneumopathie pulmonaire obstructive chronique (BPCO)(Gao et al., 2015) 21
Figure 11: Points d'intervention thérapeutique dans la BPCO et ses comorbidités(Bernardo et al., 2015).....29
Figure 12: Processus de combustion d'une cigarette (Gomez & Gomez-delcroix, 2022) 31
Figure 13 : Les Principaux constituants de la fumée de cigarette. (Chevalier, 2016).....32
Figure 14 : Déséquilibre de la balance des espèces pro oxydants et des systèmes de défense antioxydants (Belaïch & Boujraf, 2016).....37
Figure 15: Préparation et injection du CSE (ces photos sont prises à partir de la thèse.....47
Figure 16 : Induction de la maladie chez les souris.....48
Figure 17 : Variation du taux (MDA, Catalase, GSH, SOD) au niveau pulmonaire 56
Figure 18 : Variation du taux (MDA, Catalase, GSH, SOD) au niveaux hépatique.....56
Figure 19 : Variation du taux (MDA, Catalase, GSH, SOD) au niveaux de cœur.....56
Figure 20 : Variation du taux (MA, Catalase, GSH, SOD) au niveaux musculaire.....56
Figure 21 : Etude histologique du parenchyme pulmonaire des souris témoins et de groupe CSE. 57
Figure 22: Coupes histologiques du muscle squelettique des souris témoins et du groupe CSE.....58

Figure 23: Coupes histologiques du foie des souris témoins et de groupe CSE 59
Figure 24: Coupes histologiques du cœur des souris témoins et de groupe CSE.....60

Liste des Annexes

Annexe 1 : matériel non biologique.

Annexe 2 : préparation des réactifs.

Annexe 3 : les étapes de la préparation d'homogénat.

Annexe 4 : les étapes de la préparation des blocs histologiques.

Annexe 5 : Réalisation de la gamme d'étalonnage.

Annexe 6 : Réalisation de la courbe d'étalonnage

Annexe 7 : Tableau récapitulatif des différentes étapes des techniques histologiques

Annexe 8 : Protocole de Coloration

Liste des tableaux

Tableau 1 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité du CAT**Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 2 : Réalisation de la gamme d'étalonnage (voir l'annexe 5)**Erreur ! Signet non défini.**

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

BPCO : Broncho-pneumopathie Chronique Obstructive.

CSE : Cigarette smoke extracts.

CRP : la protéine C-réactive.

CAT : Catalase.

CO : monoxyde de carbone.

ERO : Espèces réactives oxygénées

EGFR : récepteur du facteur de croissance épidermique

GOLD: Global initiative for chronic Obstructive Lung Disease.

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

GCS : glucocorticoïdes

H2O2 : Peroxyde d'hydrogène

L'OMS : Organisation mondiale de la santé

MDA: Malonyldialdéhyde.

NO: Monoxyde d'azote.

NO2• : Dioxyde d'azote.

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit.

ONOO- : L'anion peroxynitrite.

O2 : Oxygène singulet.

O2- : L'anion superoxyde.

OH : Radical hydroxyle.

PI3K : phosphoinositide 3-kinase.

RLs : Radicaux libres.

ROS : espèce réactives de l'oxygène.

SSE : Le statut socio-économique.

SOD : Superoxyde dismutase.

SOD : Superoxyde dismutase.

Introduction

Introduction

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une cause majeure de décès et de morbidité dans le monde, se caractérise par une limitation du débit d'air expiratoire qui n'est pas totalement réversible, une inflammation chronique dérégulée et une destruction emphysémateuse des poumons.**(Bagdonas et al., 2015).**

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une maladie respiratoire chronique à évolution lente. Elle se caractérise par un schéma ventilatoire obstructive, qui est généralement liée au tabagisme, et peut conduire à une insuffisance respiratoire**(Ruvuna & Sood, 2020).**

La BPCO est principalement associée au tabagisme (actif et passif), avec des proportions estimables et variables selon les études, mais il existe d'autres facteurs de risque, comme l'expositions à la pollution environnementale extérieure, intérieure et professionnelle.**(Atsou & Chouaid, 2012).**

La BPCO est aujourd'hui considérée comme un facteur de risque majeur pour l'athérosclérose et les complications cardiovasculaires, hépatiques et musculaire , indépendamment du tabagisme**(Viviani, 2011).**

Le tabagisme contribue au déséquilibre de la balance oxydants—antioxydants, car il est associé à une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène qui contribuent largement au développement de plusieurs pathologies **(Mouhamed et al., 2012).**

Le stress oxydatif résultant d'un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants a été proposé comme étant à l'origine de la BPCO après une exposition à la fumée de tabac , L'augmentation de l'exposition aux ROS résulte d'une exposition directe à la fumée de tabac et d'une exposition endogène à des cellules inflammatoires activées telles que les macrophages, les neutrophiles et les éosinophiles **(Gonçalves & Romeiro, 2019).** Il joue un rôle essentiel dans la pathogenèse de nombreuses maladies chroniques dégénératives **(Sharifi-Rad et al., 2020)**.

La BPCO a été longtemps considérée comme une maladie exclusivement respiratoire, elle est aujourd'hui reconnue comme une pathologie inflammatoire broncho-pulmonaire et systémique, avec, consécutivement, des comorbidités extra- pulmonaire.

De nombreuses comorbidités sont associées à la BPCO. celles pour lesquelles on dispose du plus grand nombre de données sont les suivantes les maladies cardiovasculaires et le cancer du poumon, le diabète, la faiblesse musculaire, l'ostéoporose **(Decramer & Janssens, 2013).** Pour se protéger du stress oxydant, les organismes ont développé un arsenal d'antioxydants, avec des enzymes (superoxyde-dismutase, catalase et glutathion-peroxydase) des vitamines (A, E et C) ainsi que certaines molécules dont ce n'est pas la fonction principale (acide urique, bilirubine et mélatonine).(**Baudin, 2020)**.

Il est bien établi que la fumée de cigarette peut affecter plusieurs organes vitaux du corps. La fumée de cigarette expose le corps à une multitude de produits chimiques toxiques, tels que le monoxyde de carbone, les goudrons, les métaux lourds et les substances cancérigènes. Ces substances peuvent se propager dans tout le système circulatoire, atteignant ainsi divers organes et systèmes. Les effets de la fumée de cigarette sur les organes en dehors des poumons sont largement documentés et comprennent des risques accrus de maladies cardiovasculaires, de maladies hépatiques, de problèmes de fertilité, de complications pendant la grossesse, de troubles digestifs, de dysfonctionnements du système musculo-squelettique et d'autres affections(Onor et al., 2017).

L'objectif de cette étude était d'analyser le rôle du stress oxydatif dans le développement d'un modèle expérimental de la Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO) chez des souris femelles de souche BALB/c. Deux groupes ont été utilisés : un groupe témoin (sain) et un groupe atteint de BPCO, afin de mesurer les paramètres de stress oxydatif dans les tissus pulmonaires, hépatiques, cardiaques et musculaires, ainsi que pour étudier les lésions pulmonaires et extrapulmonaires causées par l'inhalation de fumée de cigarette.

Partie 1 : Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur (BPCO)

1 Définition

La BPCO est définie comme une maladie chronique évitable et traitable , qui atteint principalement les adultes de plus de 40 ans **(Atsou & Chouaid, 2012)**, caractérisée par une diminution incomplètement réversible des débits aériens.**(Yousfi et al., 2022)**, souvent progressive et associée à une réponse inflammatoire anormale des bronches suite à l'inhalation des substances nocives **(Atsou & Chouaid, 2012) (Degano & Soumagne, 2014)**

La limitation du débit d'air dans la BPCO est en grande partie irréversible en raison des changements structurels dans les poumons. Ces changements comprennent la bronchite obstructive chronique, due à la fibrose des petites voies aériennes, et l'emphysème, caractérisé par l'élargissement des alvéoles et la destruction des parois alvéolaires (**Barnes et al., 2015)**

Le facteur de risque le plus courant pour le développement de la BPCO est le tabagisme, mais il y'a d'autres facteurs environnementaux, tels que l'exposition à la pollution (atmosphérique ou professionnelle) en particulier dans les pays en développement peuvent influencer le risque de BPCO. **(Barnes et al., 2015)**.

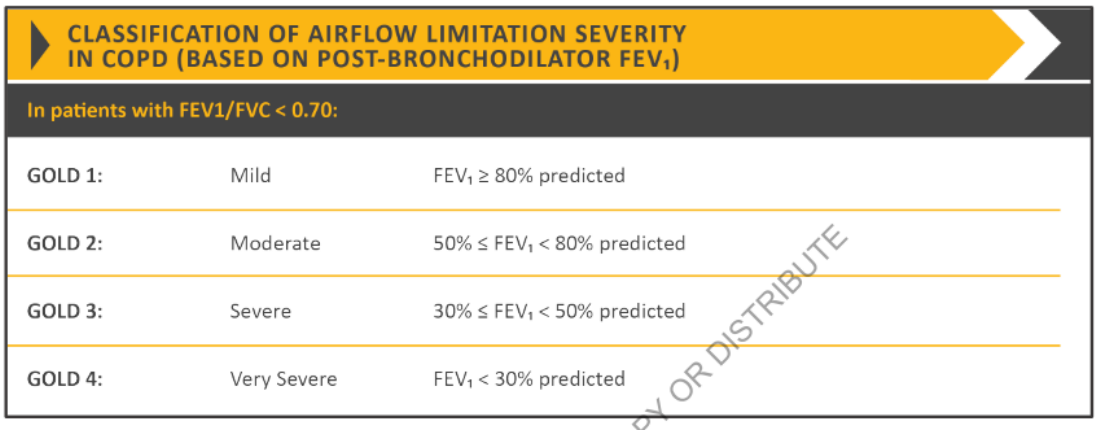
2.Les Stades de la gravité BPCO (classification)

2.1 L'évolution

Les objectifs de l'évaluation initiale de la BPCO sont de déterminer la gravité de l'obstruction des voies respiratoires, son impact sur l'état de santé du patient et le risque de complication (les exacerbations, les admissions à l'hôpital ou le décès), afin, éventuellement, d'orienter ou guider le traitement **(Guide & Copd, 2020) .**

Il existe plusieurs classifications internationales pour définir l'obstruction bronchiques la plus usuellement pratiquée est la « Global initiative for chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) », selon le GOLD en 2020 on distingue quatre stades de sévérités.

La classification de la gravité de la limitation des débits d'air dans la BPCO utilise des seuils de spirométrie spécifiques. La spirométrie doit être effectuée après l'administration d'une dose adéquate d'au moins un bronchodilatateur inhalé à courte durée d'action afin de minimiser la variabilité **(Guide & Copd, 2020).**



CLASSIFICATION OF AIRFLOW LIMITATION SEVERITY IN COPD (BASED ON POST-BRONCHODILATOR FEV_1)		
In patients with FEV1/FVC < 0.70:		
GOLD 1:	Mild	$FEV_1 \geq 80\%$ predicted
GOLD 2:	Moderate	$50\% \leq FEV_1 < 80\%$ predicted
GOLD 3:	Severe	$30\% \leq FEV_1 < 50\%$ predicted
GOLD 4:	Very Severe	$FEV_1 < 30\%$ predicted

BY OR DISTRIBUTE

Figure 1 : classification de la sévérité de la limitation de l'airflaw dans la BPCO

(Guide & Copd, 2020)

3. Les facteurs de risques

Le risque de BPCO est lié à une interaction entre facteurs génétiques et de nombreuses expositions environnementales différentes, qui peuvent aussi être affectées par des maladies comorbides (David M. Mannino & Buist, 2007).

3.1 Les facteurs exogènes

3.1.1 Le tabac

Dans le monde entier, la fumée du tabac reste la cause la plus importante de la BPCO. L'OMS estime que dans les pays à revenu élevé 73 % de la mortalité due à la BPCO est liée au tabagisme, Et 40 % dans les pays à revenu faible ou moyen (David M. Mannino & Buist, 2007)

.

La fumée du tabac est le facteur de risque le plus couramment décrit. La prévalence de la BPCO est plus importante chez les fumeurs. Non seulement le tabac est un facteur déclenchant de la BPCO, mais également il représente un facteur d'aggravation **(Atsou & Chouaid, 2012)**

Des études plus récentes ont démontré que l'exposition passive à la fumée du tabac chez les non-fumeurs accroît le risque de développer une BPCO, bien que ce risque soit moindre que celui observé chez les fumeurs actifs.**(Atsou & Chouaid, 2012)**

3.1.2 Nutrition

Alimentations à un rôle dans la BPCO, comme une source d'énergie et d'éléments constitutifs des muscles respiratoires pour assurer le bon fonctionnement de ces organes. Et d'autre part comme une source des micronutriments sont des antioxydants (comme vitamine C et vitamine E) qui intervenant directement dans les réactions oxydatives de l'histoire naturelle de la BPCO. Le magnésium, pourrait jouer un rôle protecteur contre le développement de la BPCO **(Atsou & Chouaid, 2012)** .

3.1.3 Le statut socio-économique (SSE)

Le niveau socio-économique et le risque de développer une BPCO est inversement proportionnel ; plus les conditions socio-économiques sont faibles plus il y a un risque accru de développer une BPCO. En effet, le SSE jouerait un rôle prépondérant dans l'atteinte par la BPCO. **(Atsou & Chouaid, 2012)**

3.1.4 Pollution atmosphérique

La pollution de l'air c'est un facteur de risque de BPCO et aussi liée aux infections des voies respiratoires inférieures et aux événements aigus, qui jouent également un rôle important dans le développement et la progression de la BPCO **(Atsou & Chouaid, 2012)**

Les mécanismes par lesquels ces polluants interfèrent sur l'histoire naturelle de la BPCO pourraient être similaires à ceux de la cigarette**.** De façon générale, il a été montré que la pollution de l'air par les moteurs des véhicules est associée à une diminution de la fonction respiratoire. **(Atsou & Chouaid, 2012).**

3.1.5 Expositions professionnelles

La vapeurs, poussières et les produits chimique sont des expositions professionnelles liées à BPCO dans un milieu de travail. Sont responsables de 15 à 19% de BPCO chez les fumeurs et près de 30% chez les non-fumeurs. Parmi les professions les plus à risque du BPCO sont (La poussière de charbon, silice, cadmium) ou fumées. **(Atsou & Chouaid, 2012)**

3.1.6 Les infections

Les infections jouent un rôle important dans le développement et la progression de la BPCO. L'exposition à une infection dans l'enfance peut prédisposer un individu à des changements dans la réactivité des voies respiratoires. La plupart des infections liées la naissance de la BPCO sont des infections bactériennes ou virales **(David M. Mannino & Buist, 2007) .**

3.1.7 Asthme

La présence de l'asthme pourrait prédisposer une personne à la BPCO. Des interactions entre l'asthme et la BPCO ont été montrées. Il a été montré notamment, d'une part, que la présence de l'asthme est associée à une accélération de la diminution de la fonction pulmonaire chez les patients BPCO. Il a été aussi montré que certains adultes souffrant d'asthme présentaient des caractéristiques radiographiques évocatrices de la BPCO. **(Atsou & Chouaid, 2012)**

3.1.8 Hyperréactivité bronchique

On pense souvent que l'hyperréactivité bronchique est une caractéristique de l'asthme. Mais il a également été démontré qu'elle était présente dans la bronchopneumopathie chronique obstructive **(Postma et al., 2015).**

L'hyperréactivité bronchique précède le développement de symptômes semblables à ceux de la bronchopneumopathie chronique obstructive dans la population générale et une hyperréactivité bronchique plus sévère est associée à un déclin accéléré de la fonction pulmonaire **(Postma et al., 2015).**

3.2 Les Facteurs endogènes

3.2.1 Génétique

Le facteur génétique le plus connu lié à la BPCO est une Déficience héréditaire de la sérine protéase α1 antitrypsine, qui se manifeste chez 1 à 3 % des patients atteints de BPCO **(David M. Mannino & Buist, 2007) .**

Le fait d'avoir de faibles concentration de cette enzyme, en particulier en Combinaison avec le tabagisme ou d'autres expositions, augmente le risque d'emphysème avec une diminution de la fonction pulmonaire **(David M. Mannino & Buist, 2007) .**

Cette déficience se traduit chez les malades BPCO (fumeurs ou non), par un développement de l'emphysème et diminution de la fonction pulmonaire **(Atsou & Chouaid, 2012).**

3.2.2 Le sexe et L'âge

Les effets des expositions environnementales peuvent varier entre les hommes et les femmes. En effet, les différences biologiques, physiologiques et hormonales entre les deux sexes peuvent jouer un rôle, tout comme les différences culturelles qui peuvent affecter l'exposition et le traitement des facteurs de risque. De plus, les hommes et les femmes ont des niveaux d'exposition différents aux polluants intérieurs et extérieurs, ainsi qu'à l'alimentation et à d'autres facteurs environnementaux. Ces variations dans les expositions environnementales et professionnelles peuvent être liées aux différences de comportements et d'activités entre les sexes **(Atsou & Chouaid, 2012)**

La prévalence de la BPCO augmente avec l'âge. Au cours de la vie, il y a un déclin physiologique de la fonction respiratoire qui commence vers l'âge de 30-40 ans **(Raherison & Girodet, 2009).**

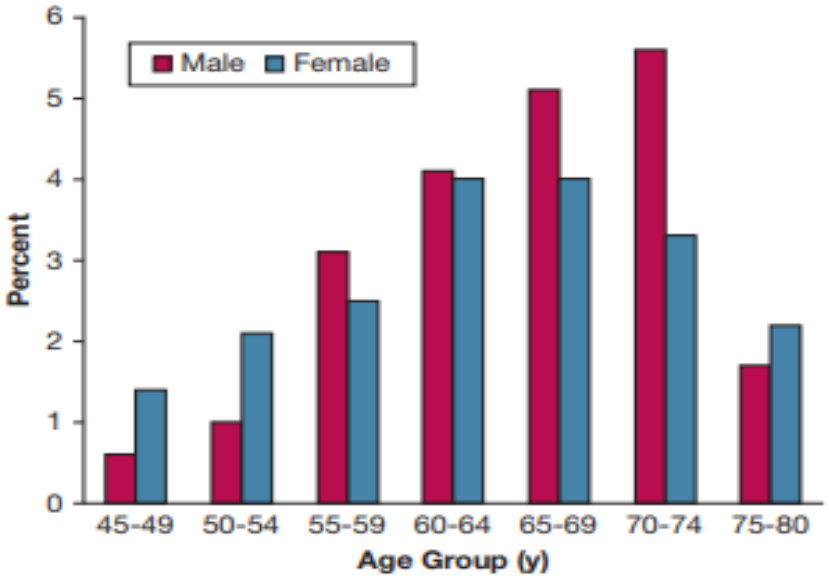


Figure 2: Répartition par sexe selon les groupes d'âge des sujets ayant un BPCO **(Maselli et al., 2019).**

4 Épidémiologie

4.1 Dans le monde

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est responsable d'une mortalité précoce, de taux de décès élevés et d'un coût important pour les systèmes de santé. **(Raherison & Girodet, 2009).**

D'après les dernières estimations de l'OMS, la BPCO sera la troisième cause de décès dans le monde d'ici 2030, ce qui représente une menace considérable pour la santé et une lourde charge pour les ressources humaines en matière de soins de santé **(Liu et al., 2022).**

En 2019, la BPCO été la cause de décès de 3,22 millions de personnes dans le monde, et ce chiffre a augmenté de 17,5 % entre 2007 et 2017. Le plus grand nombre de décès liée à la BPCO est observée en Amérique latine, en Afrique subsaharienne, en Inde, en Chine et en Asie du Sud-Est. **(Rivera et al., 2022)**

L'étude Global Burden of Disease a estimé que la BPCO touchait 104,7 millions d'hommes et 69,7 millions de femmes dans le monde en 2015. La prévalence mondiale de la BPCO en 2015 a augmenté de 44,2 % entre 1990 et 2015 cependant, une autre analyse a estimé que la BPCO est beaucoup plus courante , avec 384 millions de personnes atteintes de BPCO en 2010 **(Rivera et al., 2022)**

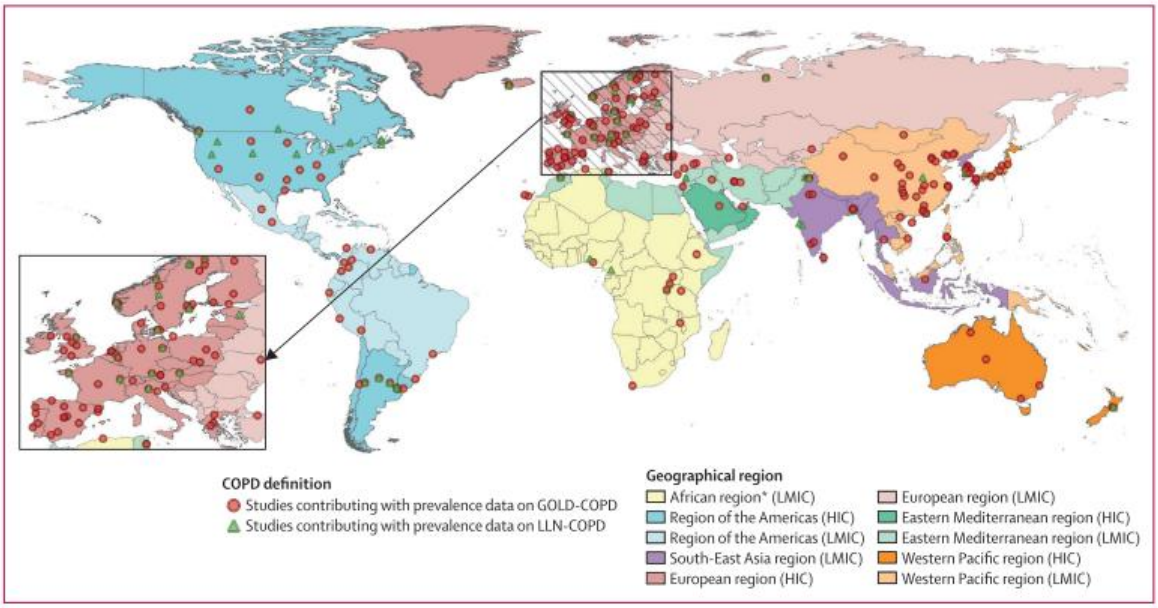


Figure 3: la répartition de la BPCO dans le monde **(Adeloye et al., 2022)**

4.2 Dans Moyen-Orient

L'épidémiologie de la BPCO n'est pas bien connue dans de nombreux pays en développement. Une enquête internationale appelée BREATHE a été menée dans la population générale de 11 pays de la région MENA (Algérie, Égypte, Jordanie, Liban, Maroc, Arabie Saoudite, Syrie, Tunisie, Turquie et Émirats arabes unis). Cette enquête épidémiologique transversale avait pour objectif de décrire la prévalence des symptômes respiratoires pouvant être liés à la BPCO, tels que la toux persistante et l'essoufflement, chez les personnes âgées de plus de 40 ans dans chaque pays. Elle a été menée entre juin 2010 et décembre 2011. **(Awad et al., 2012)**

Ils Ont montré que 14,3% de la population totale des 11 pays participants ont signalé ces symptômes respiratoires qui pourraient correspondre à un diagnostic de BPCO. L'essoufflement seul était le symptôme le plus fréquent avec une prévalence de 8,3%. Des symptômes respiratoires correspondant à la définition GOLD de la bronchite chronique ont été rapportés par 1 600 sujets (2,6 %). La BPCO était plus fréquente chez les hommes que chez les femmes (5,2 % et 1,8 % respectivement) **(Awad et al., 2012)**

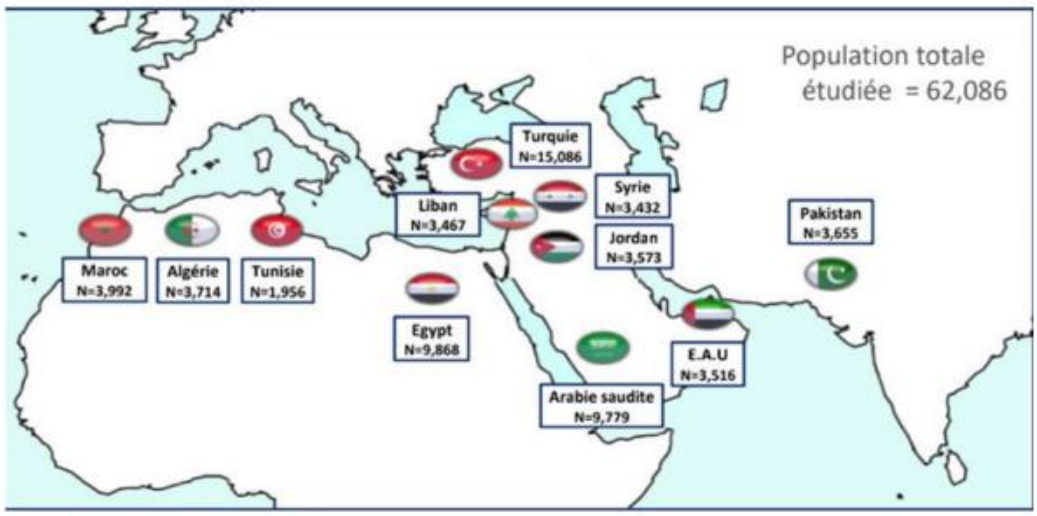


Figure 4 : Les 11 pays participants et le nombre de sujets inclus dans l'étude BREATHE **(Safiri et al., 2022)**

4.3 En Algérie

Une enquête de la prévalence de la BPCO au niveaux de la population de la wilaya d'Alger, a été réalisé par khelafi , il s'agit d'un questionnaire et spirométrie sur un échantillon représentatif de la population totale âgée plus de 21 ans .**(Khelafi et al., 2011)**

Parmi les résultats de cette étude, la prévalence de la BPCO dans l'ensemble de la population était de 4,9 %, elle était rare avant 40 ans (0,1 %) et atteint 9,2 % chez les plus âgés, avec des différences selon le sexe (les hommes étaient 16,1 % et 2,5 % pour les femmes) **(Khelafi et al., 2011)** .

Le tabagisme augmente la prévalence de la BPCO Au-delà de 40 ans, la proportion de fumeurs est supérieure à celle des ex-fumeurs et des non-fumeurs, respectivement 31,5 %, 14,6 % et 2,5 %, la prévalence elle augmente avec l'âge plus de 65 ans et le tabagisme. **(Khelafi et al., 2011).**

Chapitre II : La physiopathologie de La BPCO

1 Définition

La BPCO est une maladie inflammatoire des voies aériennes caractérisée par la présence d'un remodelage (obstruction bronchique, fibrose bronchique) et une destruction du parenchyme pulmonaire (emphysème). L'apparition de ces deux éléments est principalement due à la présence d'une inflammation chronique pulmonaire **(Eapen et al., 2017).**

La BPCO se caractérise par une réponse inflammatoire accrue de l'épithélium des voies respiratoires qui est due à l'inhalation des gaz et des particules nocives principalement la fumée de cigarette **(Stein, Paul D., Fowler, Sarah E., Goodman, 2006)** . Les produits de combustion de la biomasse, la poussière professionnelle et les particules de la pollution atmosphérique sont des facteurs de risque importants chez les non-fumeurs **(Sundeep S Salvi, 2009)**

Plusieurs mécanismes physiopathologiques ont été impliqués dans le développement et la progression de la BPCO. L'exposition à la fumée de cigarette provoque des réactions de stress dans le poumon, qui peuvent déclencher des processus essentiels au développement de la BPCO **(Goldklang & Stockley, 2016) .**

L'étiologie exacte de la pathogenèse de la BPCO n'est pas claire. Cependant, on sait que l'augmentation des niveaux de ROS, qui dépassent la défense antioxydant endogène, est probablement l'un des principaux mécanismes moteurs. Le stress oxydatif résultant d'un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants a été proposé comme étant à l'origine de la BPCO après une exposition à la fumée de tabac , L'augmentation de l'exposition aux ROS résulte d'une exposition directe à la fumée de tabac et d'une exposition endogène à des cellules inflammatoires activées telles que les macrophages, les neutrophiles et les éosinophiles **(Gonçalves & Romeiro, 2019) .**

L'hypothèse actuelle pour la pathogenèse de la BPCO est qu'elle est causée par une réponse immunitaire inflammatoire innée et adaptative à l'inhalation de particules et de gaz toxiques. Cette réponse à des manifestations à la fois locales (pulmonaires) et systémiques. Bien que le tabagisme soit la principale source de ce type d'agression, d'autres types de lésions par inhalation contribuent au risque de développer une BPCO **(Hogg & Timens, 2009)**

Dont la plus importante est la fumée de cigarette, Ces expositions sont susceptibles d'endommager directement les poumons, mais surtout de déclencher une cascade complexe

d'événements inflammatoires. Cette inflammation endommage encore plus les poumons par divers mécanismes **(Lee, 2017)**

Les modifications structurelles des petites artérioles pulmonaires sont fréquentes dans la BPCO, avec une augmentation de l'épaississement et une prolifération des muscles lisses vasculaires, un rétrécissement des petites voies aériennes et une destruction du parenchyme pulmonaire **(Vogelmeier, 2017)** , et ces modifications pourraient être le résultat d'une inflammation dans ces vaisseaux ainsi que d'une vasoconstriction hypoxique **(Barnes et al., 2015) .**

L'altération de la structure pulmonaire résulte donc de la conséquence de ces processus d'interaction complexes. En outre, les processus inflammatoires dans les poumons sont susceptibles d'avoir des effets systémiques **(Lee, 2017) .**

2 Bronchite chronique

La bronchite chronique survient chez des sujets sensibles à l'inhalation de substance(s) nocive(s), telle la fumée de cigarette. **(Huchon, 2009)** ,Elle a de plusieurs conséquences cliniques, notamment un déclin accéléré de la fonction pulmonaire, un risque accru de développement d'une obstruction des voies aériennes chez les fumeurs **(Kim & Criner, 2013).**

Les changements pathologiques dans le bronchite chronique obstructif comprennent, outre l'hyperplasie et l'hypertrophie des glandes à mucus, l'obstruction structurelle des petites voies respiratoires due à l'inflammation et à la fibrose **(Shaker et al., 2007).**

La bronchite chronique se caractérise par une réponse inflammatoire des petites bronches centrales et des glandes productrices de mucus **(MacNee, 2005).**La surproduction et l'hypersécrétion de mucus par les cellules gobelet dans la lumière des voies respiratoire ce qui entraînant une aggravation de l'obstruction du flux d'air, un remodelage anormal et un taux chronique **(Kim & Criner, 2013).**

Les propriétés biochimiques du mucus excrété changent, ce qui fait qu'il forme davantage de bouchons. Ces bouchons de mucus bloquent les voies respiratoires et entraînent une colonisation constante des voies respiratoires par des agents pathogènes **(Leap et al., 2021).**

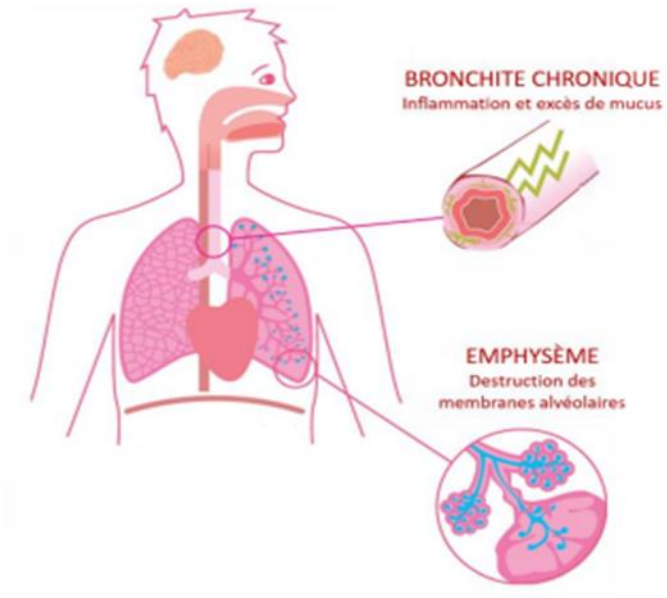


Figure 5: Bronchite chronique et emphysème chez le patient atteint de BPCO

(Sarah, 2022)

3 L'emphysème

L'emphysème est défini comme un élargissement anormal permanent des espaces aériens respiratoires ou alvéoles accompagnés d'une destruction des parois des voies respiratoires sans fibrose évidente. **(Leap & Arshad, 2021)**

Les lésions pulmonaires dans l'emphysème sont le résultat de processus inflammatoires et destructeurs en réponse à l'exposition à la fumée de cigarette. La destruction de la structure du tissu conjonctif est le principal mécanisme observé dans l'emphysème, qui est provoqué par un déséquilibre du profil protéase-anti protéase dans le poumon **(Adamson et al., 2011).**

Les petites voies respiratoires se rétrécissent de manière permanente et les attaches alvéolaires sont perdues en cas d'emphysème, ce qui entraîne une fermeture anticipée des voies respiratoires pendant l'expiration. Cette situation provoque alors un blocage de l'air. **(Barnes et al., 2015) .**

Le piégeage de l'air entraîne une hyperinflation pulmonaire (augmentation de la capacité pulmonaire totale) et une augmentation du volume pulmonaire au repos (capacité résiduelle fonctionnelle). Le piégeage de l'air s'aggrave en réponse à l'exercice (hyperinflation

dynamique), ce qui entraîne une dyspnée d'effort et une tolérance réduite à l'exercice. **(Barnes et al., 2015).**

L'emphysème entraîne une réduction de la surface alvéolaire, d'où une altération du transfert gazeux et finalement une hypoxie.**(Barnes et al., 2015).**

L'emphysème est classé en fonction de sa distribution anatomique dans le lobule. Rappelons que le lobule est un ensemble d'acini, les unités respiratoires terminales. En fonction des segments des unités respiratoires concernés, l'emphysème est classé en quatre grands types : (1) centriacinaire, (2) panacinaire, (3) paraseptal et (4) irrégulier. Parmi ces types, seuls les deux premiers provoquent des symptômes cliniquement significatifs **(*Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, n.d.)**

3.1 Emphysème centriacinaire (centrolobulaire)

Survient principalement chez les gros fumeurs, souvent en association avec une bronchite chronique (BPCO) **(Tuder et al., 2010).**

Dans ce type d'emphysème, les parties centrales ou proximales des acini, formés par les bronchioles respiratoires, sont touchées, alors que les alvéoles distales sont épargnées. Ainsi, des espaces aériens emphysémateux et normaux existent au sein d'un même acinus et d'un même lobule. **(Tuder et al., 2010).**

Les lésions sont plus fréquentes et généralement plus graves dans les lobes supérieurs, particulièrement dans les segments apicaux.**(Agustí & Vestbo, 2011) .**

Inflammation autour des bronches et des bronchioles est fréquente. En cas d'emphysème centriacinaire sévère, l'acinus distal peut également être l'acinus distal, ce qui rend difficile la différenciation avec l'emphysème panacinaire. **(Agustí & Vestbo, 2011) .**

3.2 Emphysème panacinaire (panlobulaire) :

Ce type d'emphysème est associé à un déficit en α1-antitrypsine, les acini sont uniformément élargis depuis le niveau de la bronchiole respiratoire jusqu'aux alvéoles borgnes terminales. **(*Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, n.d.)**

Le préfixe "pan" se réfère à l'ensemble de l'acinus et non à l'ensemble du poumon, Contrairement à l'emphysème centriacinaire, l'emphysème panacinaire tend à se produire plus

dans les zones inférieures et dans les marges antérieures du poumon, et il est généralement plus grave à la base. **(Agustí & Vestbo, 2011) .**

Cette destruction des parois alvéolaires entraîne une perte de recul élastique des poumons et entraîne une obstruction du flux d'air, une réduction des zones d'échange gazeux et une augmentation de l'espace mort.**(Leap & Arshad, 2021) .**

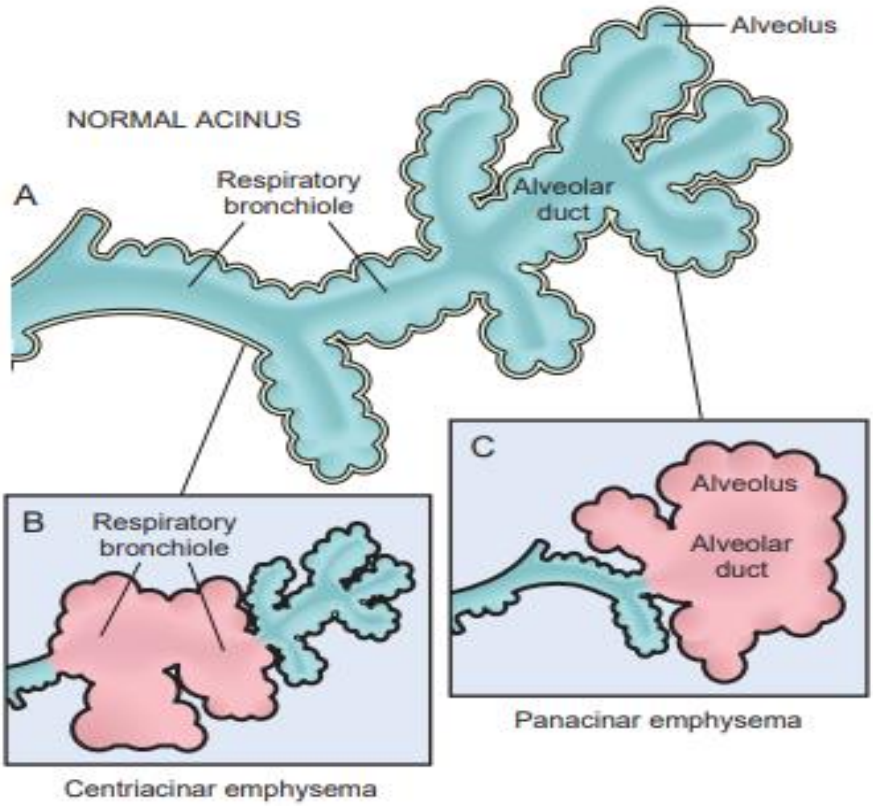


Figure 6: structure de l'emphysème centriacinare et panacinare **(*Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, n.d.)**

4 Fibrose pulmonaire

La fibrose peut être médiée par l'activation des fibroblastes dans les petites voies aériennes par des médiateurs fibrogéniques, tels que le TGF-β, le facteur de croissance du tissu conjonctif (CTGF) et l'endothéline, sécrétés par les cellules épithéliales et les macrophages. La fibrose des petites voies aériennes semble être une lésion précoce dans le développement de la BPCO et précède généralement le développement de l'emphysème **(Barnes, 2019) .**

Les facteurs de croissance sont impliqués dans le développement de la fibrose péribronchiolaire Ainsi, le facteur de croissance transformant (TGF)-bêta et le facteur de croissance du tissu conjonctif (CTGF) peuvent être impliqués dans la fibrose péribronchiolaire. Le TGF-β pourrait favoriser la destruction des parois alvéolaires en activant les métalloprotéinases et favoriser la fibrose péribronchiolaire **(Mechanisms, 2009)**

Le TGF-b stimule également le recrutement des fibroblastes et augmente la capacité des fibroblastes à se contracter et à rétrécir la matrice extracellulaire qui les entoure. Les fibroblastes activés synthétisent et déposent du collagène, entraînant une fibrose interstitielle. Ce processus peut expliquer le rétrécissement des petites voies respiratoires, qui est un déterminant majeur de la limitation permanente du débit d'air présente chez les patients atteints de BPCO modérée à sévère**. (Lee, 2017).**

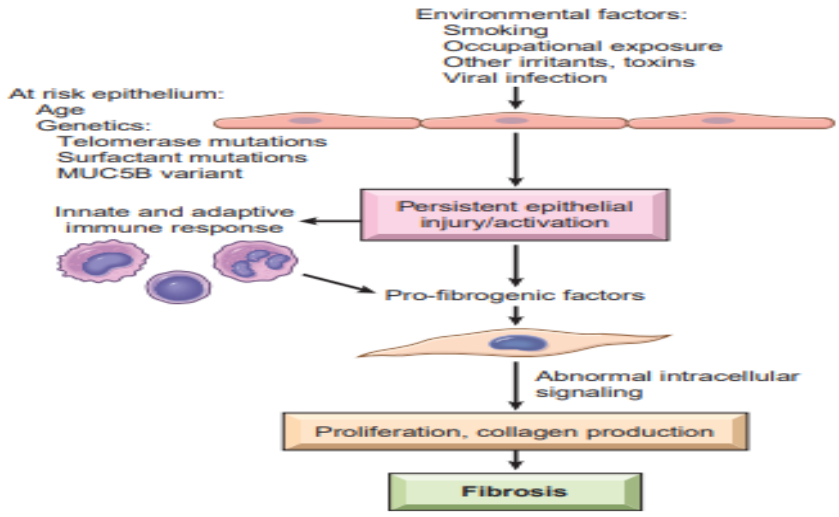


Figure 7: Mécanismes pathogènes dans la fibrose pulmonaire **(*Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, n.d.)**

5 L'inflammation chronique pulmonaire

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est un problème de santé mondial majeur. Elle est notamment associée à une inflammation chronique des voies respiratoires et du parenchyme pulmonaire (Gonçalves & Romeiro, 2019) , qui persiste même après l'arrêt du tabac **(Cho et al., 2019).**

L'activation progressive et répétée des cellules immunitaires est à l'origine de l'inflammation chronique des poumons, qui conduit à une incidence accrue de maladies

respiratoires et à des changements physiopathologiques graves dans les tissus pulmonaires. **(John-Schuster et al., 2016) .**

Les voies aériennes subissent des changements structurels, tels que la métaplasie des cellules épithéliales, l'hyperplasie du mucus et la fibrose périe bronchiolaire, même dans les cas de maladie légère. On observe également une destruction de la paroi alvéolaire et une perte des attaches alvéolaires, contribuant à l'emprisonnement de l'air, comme dans l'emphysème. **(Barnes, 2018).**

La réponse cellulaire inflammatoire comprend à la fois des cellules immunitaires innées, principalement des macrophages et des neutrophiles , et des cellules immunitaires adaptatives, en particulier des lymphocytes T et B **(John-Schuster et al., 2016).**

Les systèmes immunitaires innés et adaptatifs sont tous deux impliqués dans le développement de l'inflammation chronique conduisant à la BPCO. Dans l'ensemble, il est très probable que l'interaction entre l'inné et l'adaptatif entre les cellules immunitaires innées et adaptatives puisse orchestrer l'apparition, la progression et la gravité de l'inflammation des voies aériennes inférieures dans la BPCO. **(Cho et al., 2019) (Rovina et al., 2013)**

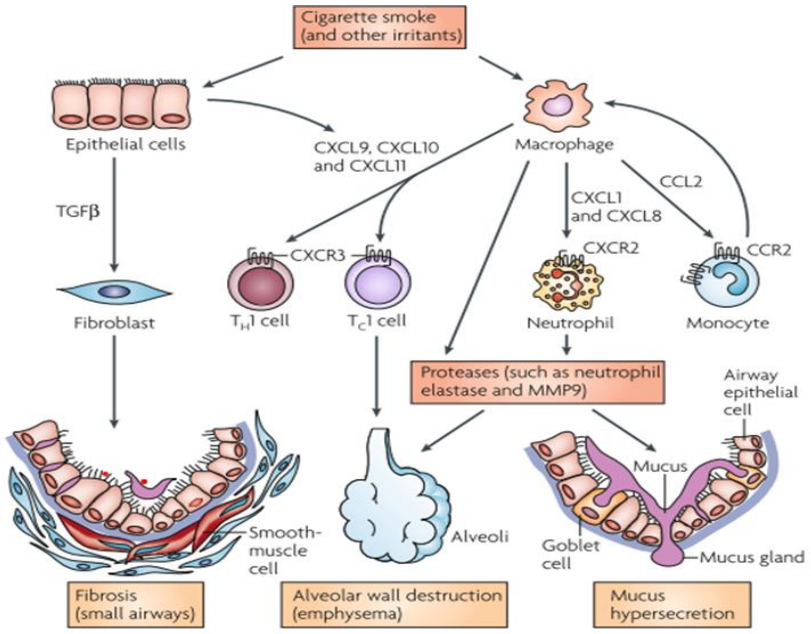


Figure 8: Cellules inflammatoires et immunitaires impliquées dans la BPCO **(Kato & Hanaoka, 2017a)**

6 Les cellules inflammatoires

6.1 Les macrophages

Dans la BPCO, les macrophages jouent un rôle crucial dans l'inflammation chronique **(Barnes, 2016)**. Ils sont exposés aux particules nocives et se concentrent dans les zones d'inflammation. Leur nombre augmente considérablement dans les voies respiratoires, en particulier dans les grandes voies aériennes. Les macrophages présentent un changement phénotypique, évoluant vers le phénotype M2, qui libère des niveaux plus faibles de médiateurs pro-inflammatoires, tels que TNF-α, IL-1β et IL-6 **(Bu et al., 2020).** Les macrophages M1 sont responsables de la production de MMP, liée à la dégradation de l'élastine et à l'accumulation excessive de collagène ou de fibronectine dans le parenchyme. Les macrophages de la BPCO sont également activés par des extraits de fumée de cigarette, produisant des médiateurs inflammatoires et des espèces réactives de l'oxygène. Ils sécrètent également des enzymes élastolytiques. Chez les patients atteints de BPCO, la production de cytokines pro-inflammatoires est réduite et la capacité phagocytaire est diminuée **(Barnes, 2016).**

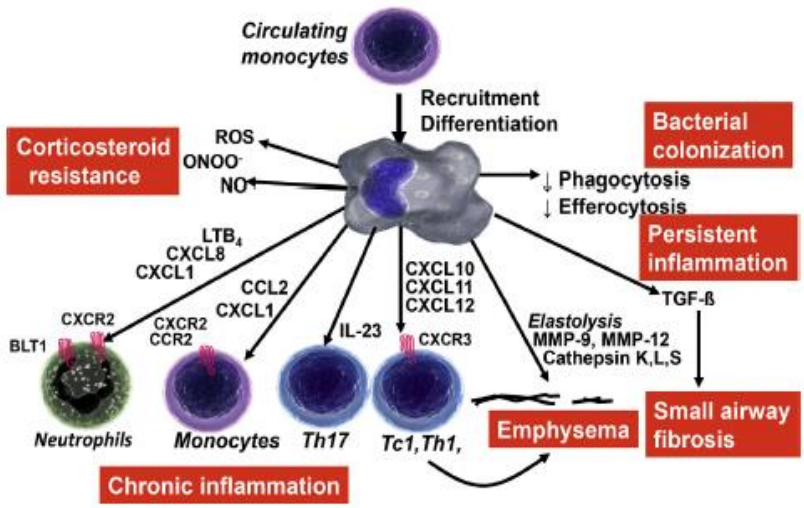


Figure 9 : **R**ôle central des macrophages alvéolaires chez les patients atteints de BPCO **(Barnes, 2016).**

6.2 Les polynucléaires neutrophiles

Les neutrophiles, une cellule immunitaire innée, se déplacent rapidement du tissu pulmonaire résident vers le site d'une infection ou d'une blessure après avoir été recrutés dans le sang. Dans la bronchite chronique, ils contribuent à la métaplasie du mucus, tandis que dans l'emphysème, ils jouent un rôle important dans les lésions du tissu pulmonaire périphérique.

L'infiltration des neutrophiles est déclenchée par la libération de substances chimioattractantes telles que l'IL-8 par les cellules épithéliales et les macrophages alvéolaires activés.**(Eapen et al., 2017)**

Bien que le mécanisme d'accumulation des neutrophiles dans la lumière des voies aériennes des fumeurs atteints de BPCO ne soit pas encore totalement élucidé, il est possible qu'un déséquilibre entre les cytokines pro- et anti-inflammatoires joue un rôle important. L'IL-8, par exemple, est une cytokine qui favorise le chimiotactisme des neutrophiles, tandis que le TNF-α est une cytokine qui active l'augmentation des molécules d'adhésion (Kato and Hanaoka, 2017). En outre, la présence de neutrophiles est associée à la sévérité de la BPCO **(C. Wang et al., 2020).**

Les neutrophiles peuvent potentiellement causer des lésions tissulaires locales par la sécrétion d'élastase neutrophile, de métalloprotéases et d'espèces de réaction oxydative. **(Eapen et al., 2017) (Barnes, 2017)**

6.3 Les cellules dendritiques

En cas de BPCO, un nombre accru de cellules dendritiques est recruté dans les poumons et distribué le long de l'épithélium et du parenchyme pulmonaire (**Bu et al., 2020).** Ces cellules jouent un rôle crucial dans la communication entre l'immunité innée et l'immunité adaptative. Les poumons et les voies respiratoires abritent un réseau dense de cellules dendritiques situées près de la surface, leur permettant de détecter rapidement les substances inhalées étrangères. **(Barnes, 2016).**

La perte d'intégrité de l'épithélium expose directement les cellules dendritiques intra-épithéliales aux antigènes. Les cellules dendritiques absorbent les antigènes et migrent ensuite vers les ganglions lymphatiques de drainage **(Bu et al., 2020).**

Les cellules dendritiques peuvent activer une variété d'autres cellules inflammatoires et immunitaires, y compris les macrophages, les neutrophiles et les lymphocytes T et B. Par conséquent, les cellules dendritiques pourraient jouer un rôle important dans la réponse pulmonaire à la fumée de cigarette et à d'autres agents nocifs inhalés. Les cellules dendritiques semblent être activées dans les poumons des patients atteints de BPCO et sont liées à la gravité de la maladie **(Barnes, 2016).**

L'exposition à long terme à des particules nocives peut nuire à la maturation des cellules dendritiques, ce qui inhibe leur capacité à agir et présenter des antigènes. Dans les tissus affectés par la BPCO, le nombre de cellules dendritiques matures est réduit, ce qui entraîne une augmentation des cellules dendritiques immatures qui peuvent favoriser le recrutement des neutrophiles. Les cellules immatures peuvent également induire des réponses immunitaires spécifiques et participer à la dégradation de l'élastine dans les voies respiratoires. **(Bu et al., 2020).**

6.4 Les cellules épithéliales

Lorsque les contaminants environnementaux sont inhalés, l'épithélium des voies respiratoires, qui tapisse l'arbre trachéobronchique, est la première population de cellules à entrer en contact avec eux. Cette couche pseudostratifiée de cellules épithéliales constitue la première ligne de défense du système immunitaire inné des voies aériennes contre les particules nocives et les infections (Shaykhiev & Crystal, 2013). Toutefois, la fumée de cigarette et d'autres agents nocifs peuvent altérer les réponses de l'épithélium des voies respiratoires, augmentant ainsi la susceptibilité à l'infection **(Barnes, 2016)**

L'épithélium normal différencié des voies respiratoires est composé de cellules ciliées et productrices de mucus, qui ont pour fonction d'éliminer les microbes et autres particules étrangères par le biais du mécanisme de clairance mucociliaire **(Shaykhiev & Crystal, 2013)**

La capacité de réparation du tissu épithélial bronchiolaire ainsi que la prolifération des cellules épithéliales sont inhibées chez les patients atteints de BPCO, et cela est en corrélation avec la gravité de l'obstruction des voies aériennes et de l'emphysème. Cette inhibition de la prolifération des cellules basales peut entraîner une métaplasie malpighienne et un risque accru de carcinome bronchique.**(Barnes, 2016)**

Des études menées in vitro et in vivo sur des cellules épithéliales de patients atteints de BPCO ont révélé que le tabagisme et les infections virales peuvent réduire la régulation du facteur nucléaire kappa-lightchain-enhancer of B cells activées (NF-κB) et favoriser la libération de l'interleukine 8 (IL-8), entraînant ainsi une inflammation non spécifique des voies aériennes au niveau de l'épithélium.**(Bu et al., 2020).**

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) est un régulateur majeur de la fonction des cellules épithéliales **(Bu et al., 2020).**Dans le cas de la BPCO, il est possible que

l'EGFR contribue à une augmentation de l'activité des voies respiratoires et à la prolifération des cellules basales, entraînant une métaplasie squameuse et une augmentation du nombre de cellules épithéliales, comme expliqué par Barnes (2016). Les niveaux élevés d'EGFR dans les cellules épithéliales des bronches des patients atteints de BPCO sont présents dans les zones affectées et peuvent être exacerbés par des infections et des cytokines pro-inflammatoires, **(Bu et al., 2020).**

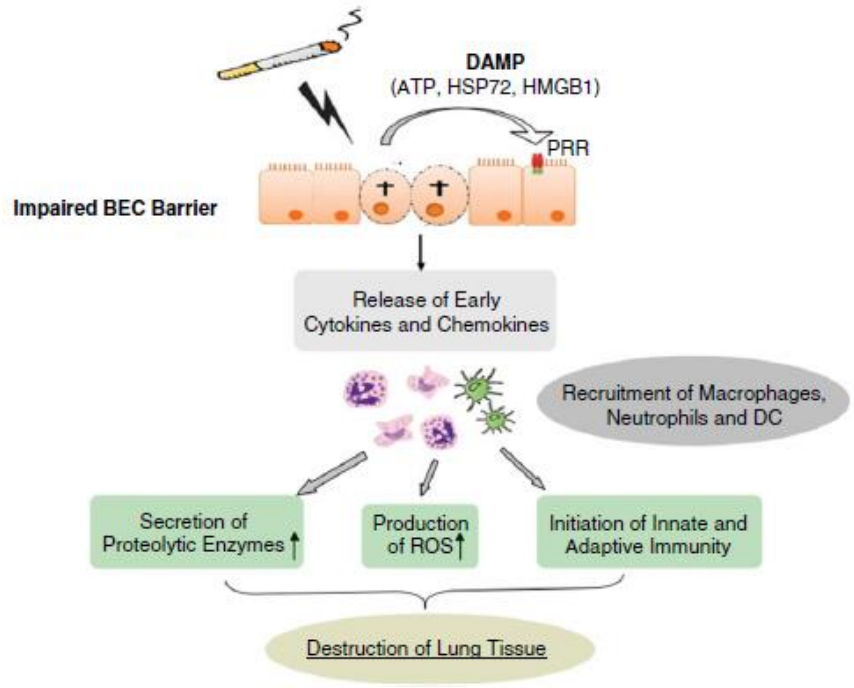


Figure 10 : le rôle des cellules épithéliales bronchiques dans la pathogenèse de la bronchopneumopathie pulmonaire obstructive chronique (BPCO)**(Gao et al., 2015)**

6.5 Les fibroblastes

Après une blessure, les fibroblastes tissulaires résidentes se multiplient et se transforment en myofibroblastes pour favoriser la fermeture de la plaie. En plus de cela, les fibroblastes ont un rôle crucial dans la transition de l'inflammation aiguë à l'inflammation chronique en régulant les fonctions des cellules immunitaires **(Burgoyne et al., 2021).**

Cependant, les fibroblastes qui ne fonctionnent pas correctement peuvent libérer des cytokines pro-inflammatoires, créant un état inflammatoire persistant qui entrave la réparation des plaies. L'exposition à la fumée de cigarette augmente la libération d'IL-1α et aggrave l'état inflammatoire des fibroblastes, surtout chez les personnes atteintes de BPCO sévère. Les

fibroblastes migratoires se concentrent dans les régions du tissu fibrotique, suggérant qu'ils jouent un rôle important dans le développement de la fibrose pulmonaire **(Burgoyne et al., 2021).**

7 Immunité adaptative

Les patients atteints de BPCO présentent des réponses immunitaires adaptatives dans leurs poumons, comprenant la présence de cellules T CD8+ cytotoxiques, de cellules T helper 1 et Th17 CD4+, ainsi que des réponses de cellules B avec la production d'anticorps **(Rovina et al., 2013).**

7.1 Les lymphocytes T

Le Rôle des lymphocytes T CD8+ et CD4+ en tant que composants actifs des réponses immunitaires adaptatives à médiation cellulaire. CD8 et CD4 jouent un rôle essentiel dans la pathologie de la BPCO , en particulier lors de la progression et l'aggravation de cette dernière **(Eapen et al., 2017).**

Une augmentation des lymphocytes T dans le parenchyme pulmonaire, ainsi que dans les voies respiratoires périphériques et centrales est observée chez les patients BPCO avec une augmentation plus importante des cellules CD8+cytotoxiques que des cellules CD4+. Dans les poumons des fumeurs atteints de BPCO, les lymphocytes T CD8 et CD4 expriment les récepteurs de chimiokines CXCR3, CXCR5 et CXCR6 spécifiques des tissus. L'expression de ces récepteurs est en corrélation la gravité de l'obstruction des voies respiratoires. **(Eapen et al., 2017).**

Après leur activation, les cellules T CD8+ peuvent déclencher la mort cellulaire par cytolyse et apoptose des cellules épithéliales alvéolaires en libérant des perforines et de la granzyme B, suggérant leur rôle potentiel dans les dommages tissulaires de la lamina propria. **(Kato and Hanaoka 2017) .**

7.2 Les lymphocytes B

Le nombre des cellules B est augmenté dans les grandes voies respiratoires des patients atteints de BPCO. **(Rovina et al., 2013).**

Les follicules lymphoïdes péri bronchiques sont organisés dans des compartiments des lymphocytes T et B à travers les chimiokines lymphoïdes CXCL12 et CXCL13 La chimiokine

CXCL13, qui attire les cellules B, est un médiateur important dans la formation des organes lymphoïdes tertiaires **(Rovina et al., 2013).**

Dans les poumons de patients atteints de BPCO présentant une obstruction bronchique sévère, des follicules lymphoïdes péribronchiolaires ont été observés, contenant des centres germinatifs où des cellules LT CD4+ et des cellules B ont été identifiées. De manière significative, le nombre de ces follicules lymphoïdes semble augmenter en corrélation avec la gravité de l'obstruction bronchique. **(Le Guennec et al., 2012)**

Récemment, il a été rapporté que la surexpression de CXCL13 en coordination avec la signalisation des récepteurs TLR et de la lymphotoxine dans les cellules B est liée à la néo genèse des follicules lymphoïdes chez les patients atteints de BPCO **(Faner et al., 2013)**

La BPCO a été considérée comme une maladie auto-immune, sur la base de la présence de follicules lymphoïdes à cellules B dans les BPCO avancées et de la détection de plusieurs auto-anticorps dans le sérum des patients atteints de BPCO **(Rovina et al., 2013).**

Chapitre III : Les comorbidités de la BPCO

1 L'inflammation systémique

Il est désormais établi que l'inflammation associée à la BPCO ne se limite pas aux poumons, mais s'étend également au système corporel. L'inflammation systémique s'aggrave au fil du temps et des exacerbations de la BPCO. Depuis de nombreuses années, il est connu que l'inflammation pulmonaire locale joue un rôle clé dans la dégradation des voies respiratoires et du parenchyme pulmonaire dans la BPCO. Cependant, il est maintenant clairement reconnu que les patients atteints de BPCO présentent souvent une inflammation systémique persistante de faible intensité, en plus de l'inflammation pulmonaire **(Sin & Man, 2007).**

L'inhalation de substances telles que les polluants atmosphériques et la fumée de cigarette a mis en évidence un lien temporel entre le processus inflammatoire dans les poumons et l'inflammation systémique. L'inflammation pulmonaire entraîne un "débordement" dans la circulation, provoquant une inflammation systémique. Il s'agit notamment du dysfonctionnement des muscles squelettiques, des maladies cardiovasculaires, de l'ostéoporose et du diabète. **(Sinden & Stockley, 2010).**

Les personnes atteintes de BPCO présentent des niveaux élevés de plusieurs marqueurs inflammatoires circulants, ce qui indique la présence d'une inflammation systémique, notamment la protéine C-réactive (CRP), l'IL-6, le fibrinogène, les leucocytes activés et le TNF-α, ce qui confirme la présence d'une inflammation systémique **(Sinden & Stockley, 2010).**

En effet, les cellules inflammatoires pulmonaires comme les monocytes et les neutrophiles (libérant des cytokines pro inflammatoires TNF-α, l'IL-6 et l'IL-1β) peuvent rejoindre la circulation systémique et/ou contribuer à l'activation de cellules inflammatoires lors du transit à travers la circulation pulmonaire **(Corhay JL n.d.2022).**

Le rôle du TNF-α dans la BPCO est considéré comme central dans l'inflammation pulmonaire et systémique. Le TNF-α peut affecter les cellules musculaires de différentes manières, le TNF-α peut induire un processus apoptotique, à l'origine d'une mort cellulaire, favorisant une diminution de la masse musculaire. **(Sinden & Stockley, 2010).**

2 Comorbidités cardiovasculaires

Les maladies vasculaires et cardiaques font partie des comorbidités les plus importantes observées dans la BPCO, car elles ont un impact direct sur la survie des patients. (Cavaillès et al., 2013) , La prévalence des maladies cardiovasculaires est de 20 à 22 % chez les patients ayant une BPCO et seulement 9 % chez les non-BPCO (D M Mannino et al., 2008) , Le tabagisme représente un facteur de risque commun aux maladies coronariennes, à l'insuffisance cardiaque et à la BPCO et peut contribuer au dysfonctionnement de l'organisme (Susa, Lazic, Cekerevac, et al., 2018) le lien entre la BPCO et les comorbidités cardiovasculaires était la présence de cette inflammation systémique de bas grade chez les patients atteints de BPCO **(André et al., 2019).**

Il s'agit de l'hypertension artérielle pulmonaire, qui est responsable d'une aggravation de la dyspnée et des échanges gazeux, des accidents vasculaires cérébraux, de coronaropathies, des arythmies cardiaques ou une insuffisance cardiaque. Plusieurs mécanismes physiopathologiques sont impliqués dans : l'inflammation systémique, le stress oxydatif, et l'état pro-thrombogène conduisant à l'athérosclérose. L'artériosclérose, avec rigidité artérielle et augmentation du rapport intima/média au niveau des carotides, est retrouvée même chez les patients ayant une obstruction bronchique modérée **(Brinchault et al., 2015).**

Les altérations vasculaires observées chez les patients atteints de BPCO semblent être causées principalement par le dysfonctionnement endothélial et la coagulopathie. En effet, les patients atteints de BPCO ont des niveaux élevés de facteur tissulaire, qui peut causer une activation excessive de la coagulation sanguine**(Cavaillès et al., 2013).**

3 Ostéoporose

L'ostéoporose se caractérise par une diminution de la résistance du squelette due à la détérioration de la microarchitecture du tissu osseux, ce qui entraîne une réduction de la masse osseuse et du contenu minéral **(Cavaillès et al., 2013).**

La fréquence des troubles osseux augmente avec l'âge, et étant donné que la BPCO est une maladie qui survient généralement à partir de la deuxième partie de la vie, elle est associée à cette comorbidité dans environ 24 à 69% des cas**. (Brinchault et al., 2015).**

Les patients atteints de BPCO présentent une fréquence importante d'ostéoporose ou d'ostéopénie. En plus des facteurs de risque habituels tels que l'âge, l'inactivité physique, le tabagisme ou la prise de corticoïdes, les marqueurs d'inflammation systémique tels que TNF-α, IL-1β ou IL-6 favorisent la résorption osseuse.**(Aubier et al., 2010).**

L'inflammation chronique entraîne la libération de nombreux marqueurs inflammatoires, ainsi que de marqueurs cataboliques dans la circulation. Les cytokines TNF-α, iL-1β et iL-6 agissent comme des stimulants des ostéoclastes qui provoquent la résorption osseuse. La BPCO a également un effet sur l'augmentation du catabolisme des protéines, ce qui entraîne une diminution du poids corporel **(Susa, Lazic, & Cekerevac, 2018).**

L'activité des enzymes MMP (principalement MMP-9 et MMP- 12) chez les patients atteints de BPCO peut conduire à la destruction du tissu pulmonaire et au développement de l'ostéoporose **(Susa, Lazic, & Cekerevac, 2018).**

Le traitement chronique par glucocorticoïdes (GCS) est l'une des causes les plus évidentes d'ostéoporose chez les patients atteints de BPCO. Bien que l'utilisation des GCS soit un facteur de risque d'ostéoporose comorbide, elle n'explique pas entièrement la faible masse osseuse et la forte prévalence de l'ostéoporose chez les patients atteints de BPCO **(Bernardo et al., 2015).**

4 Diabète et syndrome métabolique

Le diabète de type 2 est plus fréquent chez les patients ayant une BPCO de sévérité modérée à sévère que dans la population générale**(Cavaillès et al., 2013).**les fumeurs ont deux fois plus de risque de devenir diabétiques que les non-fumeurs **(Brinchault et al., 2015)**

La BPCO augmente le risque de développer un diabète, la prévalence varie entre 10% et 25% pour le diabète **(Smith & Wrobel, 2014)**

Le diabète sucré est défini par une sécrétion ou un effet insuffisant de l'insuline, L'inflammation systémique avec des marqueurs élevés tels que la CRP, le TNF-a et l'IL-6 joue un rôle important dans la progression de la BPCO et le développement de la résistance à l'insuline. Le tabagisme est une des causes de cette inflammation **(Cavaillès et al., 2013)**

Le lien complexe entre le tabagisme et l'obésité dans le développement des comorbidités, impliquant une cascade enzymatique qui prend naissance dans le tissu adipeux

considéré comme un site de production de cytokines (TNF-a, IL-6, etc.) alors que l'adiponectine diminue avec l'augmentation de l'adiposité. Ceci augmente la résistance à l'insuline, La stimulation du tissu adipeux est favorisée par l'hypoxie tissulaire, L'élévation des marqueurs inflammatoires (IL-6, TNF-a, CRP, etc.) est fortement corrélée à la prise de poids. Le syndrome métabolique est également associé à un état pro-inflammatoire et pro thrombotique **(Cavaillès et al., 2013).**

5 Le Cancer

Le cancer du poumon est l'une des comorbidités les plus mortelles de la BPCO(Bernardo et al., 2015). La prévalence de la BPCO parmi les patients atteints de cancer du poumon varie de 40 à 70 % **(Brinchault et al., 2015).**

L'inflammation chronique résultant de la BPCO favorise le développement d'un cancer du poumon en activant de nombreux signaux de la carcinogenèse. (TGF bêta, et récepteur tyrosine kinase/RaS) et par la libération de médiateurs inflammatoires **(Bernardo et al, 2015) (Brinchault et al., 2015).** L'inflammation chronique entraîne une augmentation de la production de ROS et du stress oxydatif a également été associée au développement du cancer du poumon**(Bernardo et al., 2015).**

Les médiateurs inflammatoires peuvent favoriser la croissance des cellules souches broncho-alvéolaires, l'activation de NF-κB et le STAT3 qui jouent tous un rôle crucial dans le développement du cancer du poumon **(Bernardo et al., 2015).**

6 Atrophie musculaire

La fonte des muscles du squelette, également appelée cachexie ou atrophie des muscles du squelette, survient chez environ 20 à 40 % des patients atteints de BPCO**(Bernardo et al., 2015)**. La fonte des muscles squelettiques dans la BPCO est de nature multifactorielle l'inflammation, le stress oxydatif et une mauvaise alimentation peuvent déclencher ou accentuer des altérations dans les muscles squelettiques, telles que des changements dans l'expression phénotypique des types de fibres et des défauts de régénération dans les muscles périphériques des patients atteints de BPCO **(Bernardo et al., 2015).**

L'inflammation systémique de la BPCO pourrait contribuer à la dysfonction musculaire. En effet, l'augmentation d'IL-6 observée dans la BPCO est corrélée à la capacité d'exercice. Il existe une activation du facteur de transcription NF-K_B et du *nitric oxide synthase inductible*

(iNOS) dans le muscle squelettique des patients ayant une BPCO et un faible index de masse corporelle qui pourraient favoriser l'atrophie musculaire. Enfin, l'excès de production de radicaux libres favorise la protéolyse et l'apoptose musculaire **(Aubier et al., 2010).**

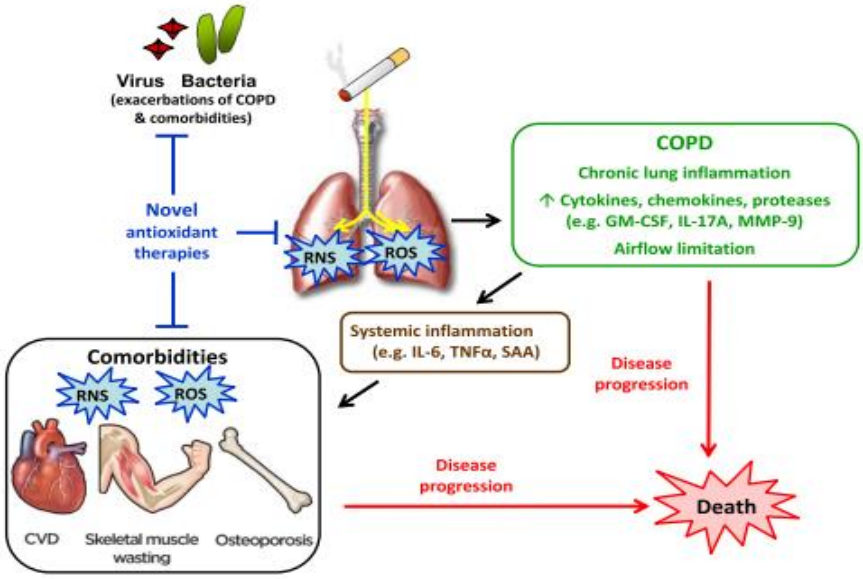


Figure 11: Points d'intervention thérapeutique dans la BPCO et ses comorbidités**(Bernardo et al., 2015)**.

Chapitre IV : Tabagisme et BPCO

1 Le Tabac

1.1 Définition

Le tabac est issu de matière végétale et plus particulièrement de la feuille de *Nicotiana tabacum*. -*Nicotiana tabacum*-, est une plante originaire d'Amérique centrale, cultivée dans le monde entier pour ses feuilles riches en nicotine qui servent à la préparation du tabac manufacturé**. (Ben Hassine et al., 2013)**.

Depuis une cinquantaine d'années, le tabagisme est présenté comme une addiction et la cigarette constituée de substances nocives est jugée dangereuse pour les fumeurs et leur entourage, et aussi coûteuse pour la société, Malgré une politique active de lutte contre le tabagisme, il reste encore l'une des premières causes de mortalité évitable, le facteur de risque principal des maladies cardiovasculaires, de la broncho-pneumopathie chronique obstructive et de cancer. **(Trosini-Desert et al., 2004).**

La cigarette est un mélange complexe des substances chimiques incluant la nicotine mais également d'autres substances potentiellement toxiques, telles que le monoxyde de carbone (CO), des gaz oxydants et des hydrocarbones polycycliques aromatiques **(Calvalido et al., 2016) .**

2 Les différents courants de la fumée

La fumée de cigarette contient environ 4000 substances différentes, dont 40 sont cancérigènes. Les 4 principaux composants sont la nicotine, le monoxyde de carbone, les composés irritants et les goudrons.**(Chevalier, 2016).**

La fumée du tabac est caractérisée par trois courants :

-Le courant primaire, inhalé par le fumeur (fumée principale du tabac).

-Le courant secondaire correspond à la fumée se dégageant d'une cigarette se consumant librement et résulte de la combustion complète ou incomplète du tabac. Il est responsable de l'exposition environnementale (fumée secondaire du tabac).

- Le courant tertiaire correspond à la fumée exhalée par le fumeur et aux particules de fumée du tabac qui restent en suspension.

Lorsque la cigarette est allumée, la combustion entraine la formation de nombreux composés toxiques comme les goudrons, divers gaz toxiques (monoxyde de carbone, oxyde d'azote, acide cyanhydrique, ammoniac), des métaux lourds (cadmium, plomb, chrome, mercure), ainsi que des substances irritantes **(Gomez & Gomez-delcroix, 2022).**

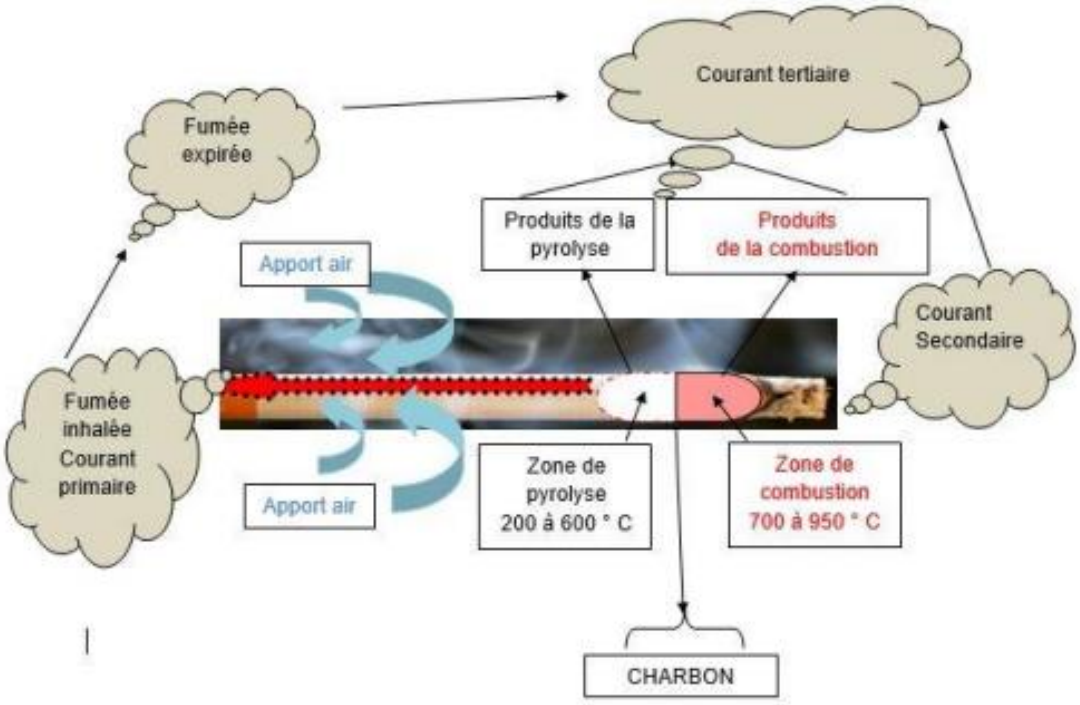


Figure 12: Processus de combustion d'une cigarette **(Gomez & Gomez-delcroix, 2022)**

3 Composition du tabac

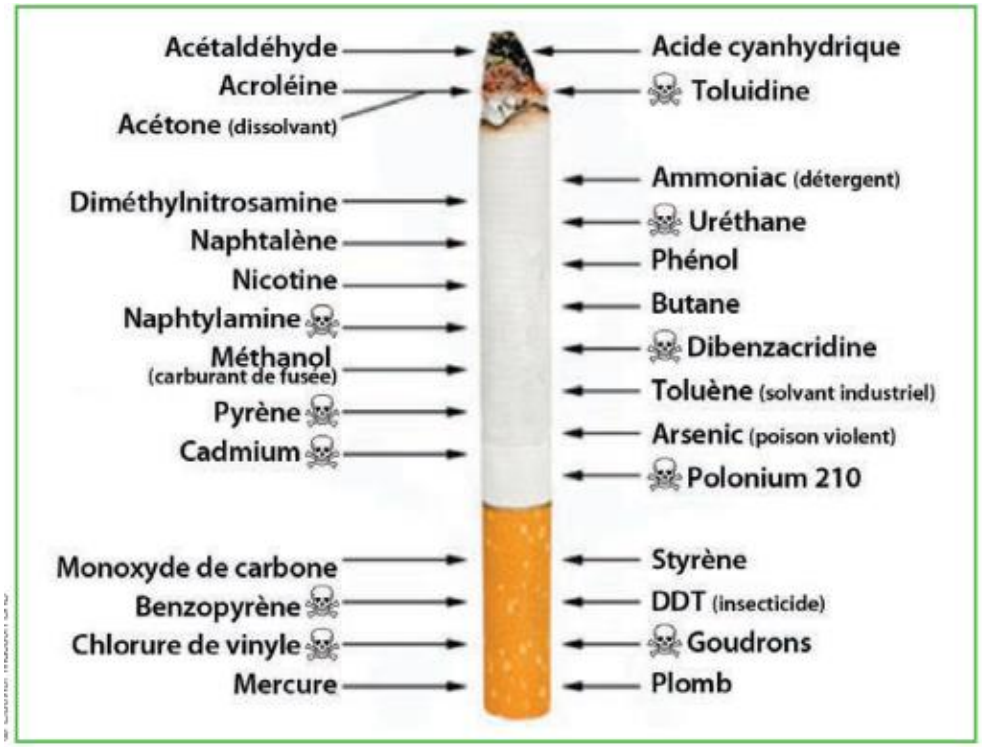


Figure 13 : Les Principaux constituants de la fumée de cigarette**. (Chevalier, 2016)**

3.1 La nicotine

La nicotine est le principal alcaloïde du tabac. Elle est responsable de la dépendance tabagique. L'intensité de l'addiction varie d'un fumeur à l'autre, sans rapport avec le nombre de cigarette fumée. **(Martinet & Wirth, 2012).**

La nicotine est le composant le plus connu de la cigarette. Elle est impliquée dans la dépendance au tabac qui apparaît dès les premières semaines d'exposition et pour une faible consommation. Elle constitue un puissant stimulateur du système nerveux central. C'est la substance addictive de la cigarette, Chaque bouffée contient environ 50 mg de nicotine. **(Mirault et al., 2016).**

En effet, la nicotine augmente la fréquence cardiaque, la pression artérielle et le débit cardiaque conduisant à une demande accrue d'oxygène par le myocarde. **(*Composition Chimique Du Tabac*, n.d.)**

La nicotine exerce ses effets par l'activation des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine (RAchN), présents au niveau du système nerveux central (SNC), au niveau de la

médullosurrénale et ganglion lymphatique ainsi que la jonction neuromusculaire. Ces récepteurs ont aussi été identifiés au niveau des kératinocytes, épithélium bronchique, et sur les cellules induisant l'inflammation. Ce sont des canaux ioniques constitués de 5 sous unités protéiques transmembranaires. La nicotine est un agoniste cholinergique, et sa fixation sur ces récepteurs entraine, par changement de conformation, son ouverture. Cette ouverture permet l'entrée d'ions sodium et une dépolarisation membranaire. Les récepteurs α4β2 sont tenus responsable de la majorité des effets centraux de la nicotine **(Siqueira et al., 2018) .**

3.2 Les autres composants

Les effets toxiques du tabagisme chronique sur l'organisme sont liés principalement au monoxyde de carbone, aux composés irritants de la fumée, aux composés cancérigènes et à la nicotine **(HAS - Haute autorité de santé, 2015).**

3.2.1 Le monoxyde de carbone

Le monoxyde de carbone (CO) est un gaz formé lors de la combustion de la cigarette. Au cours du tabagisme, il est présent dans le courant principal, le courant secondaire et le courant tertiaire. Il possède une plus grande affinité que l'oxygène pour l'hémoglobine, produisant la carboxyhémoglobine (HbCO) qui est responsable d'hypoxie tissulaire. Il altère les cellules endothéliales artérielles et active les mécanismes de l'athérosclérose. Le corps répond par une tachycardie et une augmentation de la pression artérielle (HAS - Haute autorité de santé, 2015) Il est aussi un marqueur biologique non spécifique du tabagisme. Il a une demi-vie courte (deux à six heures) et reflète l'intensité de l'inhalation de la fumée du tabac **(Delcroix et al., 2007).**

3.2.2 Les substances cancérigènes

Ce terme reprend des substances telles que les hydrocarbures aromatiques, les dérivés nitrés hétérocycliques, les nitrosamines, cétones et aldéhydes. Ils augmentent significativement le risque de cancer du poumon, de la cavité buccale, du pharynx, du larynx, de la muqueuse nasale et des sinus, du pancréas, de la vessie, des reins, du foie et du côlon. Dont les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Leur oncogénicité est médié par le système physiologique de détoxification des xénobiotiques : ce sont en effet des hydrocarbures hydrophobiques, qui sont transformés par des enzymes de phase 1 en métabolites intermédiaires réactifs, capables de se combiner à l'ADN, provoquant ainsi des mutations chromosomiques. Ces mutations sont accessibles aux mécanismes de réparation de l'ADN, mais lorsque ces

derniers sont dépassés, les mutations sont transmises aux cellules filles, provoquant la cancérisation. **(Bos et al., 2021).**

3.2.3 Les métaux lourds

Dans la fumée inhalée par le fumeur, on retrouve des métaux lourds tels que plomb, mercure, cadmium, polonium 210 et strontium. L'exposition chronique aux métaux lourds peut provoquer des problèmes osseux en se substituant au calcium dans les cristaux osseux. Le cadmium est l'un des métaux toxiques les plus présents dans le tabac. Il est hautement toxique pour les reins, les os, le système nerveux, l'appareil respiratoire et le système circulatoire. Le mercure n'est pas considéré en général comme cancérogène mais il est fortement toxique pour l'appareil reproducteur et le système nerveux. Le polonium 210 est considéré comme cancérogène pour l'homme, les rayonnements α émis se composent de particules à très haute énergie et constituent une menace ionisante et mutagène pour les tissus épithéliaux, pulmonaires après absorption. Ces métaux lourds sont présents en grandes variétés et s'accumulent avec le temps dans l'organisme **(*GROUPE D ' ÉTUDE DE L ' OMS Organisation Mondiale de La Santé*, n.d.).**

3.2.4 Les substances irritantes

Les composés irritants de la fumée du tabac sont entre autres l'acétone, les phénols, l'acroléine, les nitrosamines, l'acide cyanhydrique (liste non exhaustive). Les nitrosamines sont aussi des composés cancérigènes. L'inhalation d'acroléine provoque une sensation de brûlure, de la toux, des maux de gorges, des nausées. Ces substances favorisent la production d'un mucus épaissi. Ce sont des composants qui provoquent des lésions inflammatoires chroniques des voies respiratoires, une paralysie du tapis mucociliaire et une hypersécrétion bronchique **(Chevalier, 2016)**.

3.2.5 Les additifs

Sont utilisés pour différentes raisons, Ils comprennent les humectants (diéthylène-glycol, propylène-glycol, glycérol), les aromatisants (terpènes, menthol, cacao, ammoniaque dérivés ammoniacaux) et les agents de combustion (nitrates). Les aromatisants permettent de donner un arôme particulier à la cigarette dans le but de fidéliser le consommateur à sa marque. Ils donnent un arôme à la cigarette qui permet aussi de masquer une amertume ou une odeur désagréable, d'adoucir la fumée et réduire l'irritation des voies aériennes. Dans certaines

cigarettes, l'ammoniac serait utilisé pour faciliter l'inhalation de la fumée sans provoquer de toux et favoriser l'absorption de la nicotine. L'acétaldéhyde, utilisé comme aromatisant, est produit par la combustion de nombreuses molécules comme le sorbitol et le glycérol. C'est une molécule classée comme agent cancérogène possible pour l'homme Cette substance augmenterait la dépendance à la nicotine. **(*Composition Chimique Du Tabac*, n.d.).**

Les additifs aident également à contrôler la façon dont la cigarette se consume et à maintenir une humidité constante afin d'éviter que le tabac ne devienne sec. Ils peuvent aussi servir à blanchir la fumée et les cendres pour améliorer l'aspect général de la cigarette et rendre son image plus attrayante.**(Chevalier, 2016).**

3.2.6 Les goudrons :

Le « goudron » est défini comme le résidu solide et sec résultant de la combustion du tabac. Sont les composés principaux dans l'apparition des cancers liés à la consommation de cigarettes. Ce terme générique englobe un grand nombre de molécules différentes : des hydro-carbures comme le benzène et le benzopyrène, qui est cancérigène à cause de ses propriétés d'agent intercalant de l'acide désoxyribonucléique (ADN) Les « goudrons » - N-nitrosamines sont les principaux responsables de l'effet oncogène de la fumée. Ils ont un effet nocif sur les tissus et les muqueuses **(Mirault et al., 2016).**

Chapitre V : Le stress oxydatif dans la BPCO

1 Définition du stress oxydant

Au sein des mitochondries de l'organisme humain, des espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont générées en continu. Ces ROS jouent un rôle crucial dans la production d'oxygène, un élément indispensable à la vie.**(H et al., 2007).**

Par définition une espèce réactive de l'oxygène est un radical oxygéné ou une molécule pouvant produire des radicaux libres, peroxyde d'hydrogène (H2O2) dont la production est indispensable en participant à divers processus vitaux tels que : la transduction des signaux cellulaires, la régulation des gènes et le fonctionnement de certaines enzymes, la défense immunitaire contre les agents pathogènes et la destruction par apoptose de certaines cellules tumorales. Cependant, il existe différents mécanismes physiopathologiques et facteurs environnementaux qui peuvent intensifier la production des ROS provoquant un déséquilibre de la balance pro oxydant/ antioxydant : c'est le stress oxydant **(Pincemail et al., 2002)**

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de Défenses antioxydants et la production d'ERO, en faveur de ces dernières **(Figure 1)**. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents Pro oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, métaux toxiques**) (H et al., 2007) (Ayoub Bensakhria, 2018).**

Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique. Cela peut causer plusieurs pathologies chez l'homme, telles que la maladie d'Alzheimer, les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer et BPCO. Bien que l'organisme ait besoin d'une certaine quantité de radicaux libres, il doit contrôler leur niveau pour éviter un stress oxydant. **(Efraigne & Incemail, 2009) (Bhatt et al., 2020).**



Figure 14 : Déséquilibre de la balance des espèces pro oxydants et des systèmes de défense antioxydants **(Belaïch & Boujraf, 2016).**

2 Les radicaux libres :

2.1 Définition

Les radicaux libres (RLs) sont des espèces chimiques (atomes, molécules ou ions) possédant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataires) dans leurs orbitales externes et présentent généralement une réactivité remarquable **(Di Meo & Venditti, 2020).**

Ils peuvent avoir des effets oxydants ou réducteurs, et leur présence en excès peut conduire à des lésions moléculaires dans les cellules de l'organisme. **(George et al., 2009).** En raison de leur structure particulière, les radicaux libres ont tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules afin de gagner en stabilité. L'ensemble des RLs et de leurs précurseurs est souvent appelé : espèces réactives de l'oxygène ERO. **(George et al., 2009) (Merouane et al., 2015).**

Dans les conditions physiologiques, les radicaux libres sont produits en permanence en faibles quantités comme médiateurs tissulaires ou résidus des réactions énergétiques ou de défense. Les radicaux libres sont des molécules indispensables à la vie, ils remplissent de très nombreuses fonctions. Ils participent à l'activité de certaines enzymes, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la différenciation cellulaire, et à la régulation des gènes. Ils constituent un système de transmission

des signaux, pouvant être considérés comme messages intra- et extracellulaires **(Alain Favier, 2003).**

3 Implication du stress oxydatif dans la genèse de BPCO

Le stress oxydatif est un mécanisme clé de la BPCO. Le tabagisme est un facteur de risque majeur de la BPCO, mais même chez les non-fumeurs, le stress oxydatif reste élevé en raison de sa production endogène par les cellules inflammatoires activées**(Barnes, 2017).**

Les cellules inflammatoires et structurelles, y compris les neutrophiles, les macrophages et les cellules épithéliales, qui sont activées dans les voies respiratoires des patients atteints de BPCO, produisent des ROS(Barnes, 2016). Les ROS sont produits en excès par rapport aux mécanismes de défense antioxydants et entraînent des effets néfastes notamment des dommages aux lipides, aux protéines et à l'ADN.**(Barnes, 2016).**

Les ROS ont des effets très variés et amplifient la réponse inflammatoire en activant le facteur de transcription NFκB. Le stress oxydatif peut également altérer la fonction d'antiprotéases telles que l'α1antitrypsine, ce qui accélère la dégradation de l'élastine dans le parenchyme pulmonaire. Le stress oxydatif réduit considérablement l'activité et l'expression de l'HDAC2, par l'activation de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K)**(Barnes, 2017).**

Les anions superoxydes (O2) sont générés par la NADPH oxydase et convertis en peroxyde d'hydrogène (H2O2) par les superoxydes dismutases (SOD). L'H2O2 est ensuite converti en eau par la catalase O2 et H2O2 peuvent interagir en présence de fer libre pour former le radical hydroxyle (OH). L'O2 peut également se combiner avec le NO pour former le peroxynitrite, qui génère également des OH **(Barnes, 2016).**

Le stress oxydatif conduit à l'oxydation de l'acide arachidonique et à la formation d'une nouvelle série de médiateurs prostanoïdes appelés isoprostanes, qui peuvent exercer des effets fonctionnels significatifs, notamment la bronchoconstriction et l'exsudation plasmatique. Les niveaux de peroxynitrite sont également augmentés dans l'haleine des patients atteints de BPCO. **(Barnes, 2016).**

Les oxydants libérés par la fumée de cigarette ou par les macrophages alvéolaires et les neutrophiles provoquent la libération de facteurs chimiotactiques par les cellules épithéliales, ce qui augmente l'afflux de leucocytes dans les poumons. Les oxydants peuvent inhiber les antiprotéases, ce qui entraîne un déséquilibre des protéases, la destruction de la paroi alvéolaire

et l'emphysème. Les oxydants peuvent également activer les protéases est causer des lésions directes aux parois alvéolaires, entraînant l'apoptose. Les oxydants sont impliqués dans la réparation anormale des tissus et dans l'hypersécrétion de mucus.**(MacNee, 2007).**

La production normale d'oxydants est contrecarrée par plusieurs mécanismes antioxydants dans les voies respiratoires humaines, notamment la catalase, la SOD et le glutathion. Dans le poumon les antioxydants intracellulaires sont exprimés à des niveaux relativement faibles et ne sont pas induits par le stress oxydatif, alors que les principaux antioxydants sont extracellulaires **(Barnes, 2017).**

Il semble que dans les poumons et les cellules de la BPCO, le facteur de transcription Nrf2 qui est normalement activé par le stress oxydatif pour réguler les antioxydants ne fonctionne pas de manière appropriée malgré les niveaux élevés de stress oxydatif. Cette situation peut être due à une diminution de l'activité de l'enzyme histone désacétylase-2 (HDAC2) qui entraîne une acétylation accrue.**(Barnes, 2017).**

Le stress oxydatif réduit considérablement l'activité et l'expression de l'HDAC2 par l'activation de la phosphoinositide 3-kinase d et la nitration de la tyrosine résiduelle induite par les peroxynitrites.**(Barnes, 2017).**

4 Les pro oxydants

4.1 Le monoxyde d'azote (NO)

Le monoxyde d'azote ou oxydes nitrique (NO) est un radical libre hautement réactif et labile, à demi-vie courte impliqué dans la régulation d'un grand nombre de fonctions physiologiques à l'état normal ou pathologiques aussi c'est un bon marqueur de l'inflammation des voies respiratoires **(Minh et al., 2014)(Besnier et al., 2015).**

Une augmentation du niveau de monoxyde d'azote (NO) entraîne la production accrue de peroxynitrite, qui se manifeste par une augmentation de la nitration de la tyrosine. Cette augmentation est également observée dans le condensat de l'air expiré des patients atteints de BPCO. **(Barnes, 2020).**

4.2 Le malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde (MDA) est un produit de décomposition oxydative des lipides insaturés. Il peut être également formé à partir de composés non lipidiques tels que l'acide ascorbique, les acides aminés, le désoxyribose ou le saccharose lorsqu'ils sont exposés à l'action des hydroxyles. Le MDA est aussi un excellent substrat des peroxydases, l'un des principaux indicateurs du stress oxydatif **(Ahmad et al., 2013)(Mouhamed et al., 2012).**

5 Définition de Système de défenses antioxydants

Les cellules possèdent des mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non enzymatiques qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant, résultant du métabolisme aérobie, appelés anti oxydants **(Jin et al., 2007).**

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, a concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autre substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. **(Priymenko, 2007) (Habibou et al., 2019).**

Les défenses antioxydantes reposent sur des systèmes enzymatiques (superoxydes dismutases, catalase, glutathion peroxydase) et non enzymatiques (vitamines C et E, polyphénols, etc.)**(Leverve, 2009).** Ils peuvent prévenir la modification oxydative par neutralisation des RLs, piégeage de l'oxygène ou décomposition des peroxydes par l'intermédiaire de leurs activités antioxydantes **(Habibou et al., 2019).**

Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires. **(H et al., 2007).**

5.1 Le Système antioxydant enzymatique

5.1.1 Définition

Les enzymes existent à l'état endogène et permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal. Les principaux systèmes enzymatiques comprennent les super oxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT) et plusieurs formes de glutathion peroxydases (GSH-PX) qui sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS. **(Pincemail et al., 2002).**

5.1.2 Superoxyde dismutase (SOD)

C'est un enzyme antioxydant primaire essentiel qui réagit en défense de l'organisme contre les produits toxiques du métabolisme cellulaire. Il est capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Son rôle est de transformer dans les mitochondries, les radicaux superoxydes en peroxydes d'hydrogène, ce dernier, étant beaucoup moins réactifs **(Moumen et al, 1997) (Ayoub Bensakhria, 2018)**

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super- oxyde $O2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H2O2) et en oxygène **(H et al., 2007) (Ayoub Bensakhria, 2018)** Selon la réaction suivante :

$$\mathbf{O2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} O2 + H2O2}$$

5.1.3 Catalase

La catalase est une enzyme localisée principalement dans les peroxysomes, les mitochondries et dans les érythrocytes, capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et en oxygène moléculaire**.** Elle catalyse la réaction de détoxification du peroxyde d'hydrogène H2O2 et sa décomposition, pour former de l'eau et de l'oxygène **(Baudin, 2020)**

Selon la réaction suivante :

$$H2O2 \xrightarrow{Catalase} H2O + O2$$

5.1.4 Glutathion peroxydase (GPX)

Enzymes antioxydants, constituent l'une des principales lignes de défense contre les agressions produites par les radicaux libres de l'oxygène. Son rôle principal consiste à éliminer des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. En utilisant son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH), comme donneur d'hydrogène **(H et al., 2007) (Ayoub Bensakhria, 2018).**

C'est une sélénoprotéine ubiquitaire (7 isoformes) élimine 70% des peroxydes organique et 94% de H_2O_2 par réduction selon la réactions suivante :**(Ayoub Bensakhria, 2018).**



5.2 Les antioxydants non-enzymatiques

5.2.1 Glutathion (GSH)

Le glutathion (GSH) est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine) **(Couto et al., 2013)**, réduit le peroxyde d'hydrogène et joue son rôle d'antioxydant en tant que substrat d'enzymes antioxydantes telles que les glutathion peroxydases (GPx) **(Couto et al., 2013)**

5.2.2 Vitamine E

La vitamine E, qui correspond à une famille de 8 molécules est bien connue pour son pouvoir antioxydant et son caractère indispensable à la fertilité **(Landrier, 2011).** C'est une vitamine liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique**(Traber & Atkinson, 2007).**

Plusieurs études suggèrent que les micronutriments, tels que la vitamine E, possèdent des propriétés antioxydantes qui pourraient avoir des effets bénéfiques en réduisant le risque de développement de ces maladies. **(Borel et al., 2017).**

La vitamine E agit directement sur une grande variété d'ERO pour former un radical peu réactif. La vitamine E est un puissant antioxydant qui piège les radicaux peroxyles et prévient ainsi la peroxydation des lipides. Les radicaux peroxyles sont réduits en radicaux tocophérols, qui sont ensuite réduits par la vitamine C pour régénérer la vitamine E mais également par d'autres composés comme le glutathion réduit, la vitamine A**(Traber & Atkinson, 2007).(Poyatos et al., 2023).**

5.2.3 La vitamine C

La vitamine C ou acide L-ascorbique est une vitamine hydrosoluble qui piège les radicaux libres. Elle ne peut pas être synthétisée par le corps humain et doit donc être consommée sous forme de supplément**(Poyatos et al., 2023).**

C'est une molécule antioxydante capable de réagir directement avec tous les ERO réduisant ainsi la peroxydation lipidique et les dommages aux protéines et à l'ADN. La vitamine C a également un pouvoir antioxydant indirect en recyclant les caroténoïdes et la vitamine E. D'un autre côté, la vitamine C permet le recyclage de Fe^{3+} en Fe^{2+} favorisant ainsi la réaction de Fenton et a donc de manière indirecte une action pro oxydante**(Béguel, 2013).**

5.2.4 L'acide urique

Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piégeur puissant de radicaux (OH•, ROO•, NOO•…). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C). Les propriétés antioxydantes de l'urate *in vivo* peuvent être appréciées indirectement par le fait qu'un produit de réaction de l'urate avec les EOA, l'allantoïne, est présent à des taux élevés lors d'un stress oxydant.**(Dunlap et al., 2006).**

6 Les conséquences du stress oxydant

Le stress oxydant induit par les radicaux libres qui se forment dans nos cellules a été Considéré comme à l'origine de dommages associés à des pathologies. Ces dommages liés à un stress sont : une peroxydation des lipides, une oxydation des protéines, des mutations de l'ADN. Ces altérations peuvent conduire à des pertes de fonction et d'intégrité, voire à la mort cellulaire notamment par l'intermédiaire de l'apoptose. (A Favier, 2006)**.**

6.1 Oxydation des protéines

Les protéines sont des constituants cellulaires structurels et fonctionnels, essentiels, qui peuvent subir des modifications oxydatives. L'oxydation des acides aminés, surtout des acides aminés soufrés et acides aminés aromatiques, entraînent des modifications structurales des protéines, facilitant de ce fait leur agrégation ou leur dégradation par les protéases **(Luo et al., 2020)(Ayoub Bensakhria, 2018).**

Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes

peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non-reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). **(H et al., 2007)**

Ces protéines, en perdant leurs propriétés biologiques, deviennent non seulement beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome, mais aussi très hydrophobes. **(H et al., 2007).**

6.2 La peroxydation lipidique

Les premières cibles des ROS sont les lipides, notamment ceux présents dans les Membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'instauration**.** La peroxydation de lipides induite une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes **(Luo et al., 2020).**

La Peroxydation lipidique forme un enchainement de réactions radicalaires qui se déroule en trois étapes (initiation, propagation et terminaison) **(H et al., 2007).**

✓ Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) : c'est la phase d'initiation. **(H et al., 2007).**

✓ Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyle (ROO•), suffisamment réactif pour arracher un H+ à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction **(Cillard & Agpi, 2006).**

✓ Cette dernière étape est liée dans la plupart des cas à la combinaison de deux radicaux lipidiques, tels que deux radicaux peroxyls, donnant naissance à des produits non radicalaires **(Cillard & Agpi, 2006).**

✓ Cette dernière étape est liée dans la plupart des cas à la combinaison de deux radicaux lipidiques, tels que deux radicaux peroxyls, donnant naissance à des produits non radicalaires **(Cillard & Agpi, 2006)**

6.3 Dommages oxydatifs liés à l'ADN

Les ERO constituent la plus importante source endogène de multiples altérations génomiques. Elles Peuvent lui induire de nombreuses mutations covalentes telles des lésions aux bases nucléotidiques (purines et pyrimidines), des cassures de brins, des pontages (cross-links) inter et intra brin et des pontages protéine-ADN **(Y. Wang, 2008)(Luo et al., 2020).**

Parmi les quatre bases nucléotidiques de l'ADN, la guanine est la plus sensible aux attaques radicalaires du radical hydroxyle, en engendrant la 8-hydroxyguanine (8-OHG), un produit considéré comme un biomarqueur du dommage oxydatif de l'ADN **(Barnes, 2020).**

Partie matériel et méthode

1 Etude expérimentale

La partie expérimentale (in vivo) a été réalisée au niveau de laboratoire de Biologie et pharmacologie expérimentale.

2 Objectif de l'étude :

Cette étude fait suite à celle de l'année précédente, qui avait pour objectif d'optimiser un modèle animal de BPCO en se basant sur une analyse histologique et sanguine des paramètres inflammatoires. L'objectif de l'étude actuelle est de mesurer les paramètres de stress oxydatif dans les poumons ainsi que dans plusieurs autres organes (foie, muscle, cœur), et d'étudier les lésions pulmonaires et extra pulmonaires induites par la fumée de cigarette.

3 Matériels

3.1 Les matériels non biologiques

Les appareils qui existent dans le laboratoire **:** microtome, Spectromètre, homogénéisateur IKA®, microscope photonique, centrifugeuse ... et les colorants d'étude histologique (éosine, hématoxyline) avec des réactifs PBS, réactif de Bradford, NAOH et les verreries : bécher et entonnoir... **(Voir l'annexe 1-2).**

3.2 Les matériels biologiques

3.2.1 Les souris

Cette étude a été menée à l'animalerie associée au laboratoire de Biologie et Pharmacologie expérimentale. Elle a été réalisée sur 16 souris (16 BALB/c femelles) adultes âgés (8 semaines), Pesant entre 19-23 g.

Avant le début de la période expérimentale, un temps d'acclimatation d'une semaine au niveau de l'animalerie. Les souris ont eu un accès libre à l'aliment et à l'eau sous des conditions de températures ambiantes (22 C°) et d'humidité (55%) avec un cycle répété de 12h d'obscurité /lumière régulier tout au long de l'étude.

3.2.2 Extrait de fumée

Nous avons utilisé la marque de cigarette (Nassim) dont la composition basale est constituée de : 12 mg de goudron par boite, 0.8 mg de nicotine par boite.

3.2.3 Méthodes de Préparation l'extrait de fumée

La préparation de condensat de fumée de cigarette (CSE) se fait par un système de «bullage d'air » qui consiste à dissoudre les particules solubles de la fumée de cigarette (FC) dans le PBS **(Tsuji et al., 2004), (Adamson et al., 2011)**. La FC est aspirée au moyen du piston d'une seringue de 50ml contenant PBS, et reliée à une tubulure qui est elle-même liée à un filtre directement fixé à un porte-cigarette. A chaque aspiration, le milieu est mélangé avec la FC pendant 30 secondes puis la fumée est relarguée à l'extérieur.

Ce procédé est répété plusieurs fois jusqu'à consommation de la cigarette (Figure) **(Tsuji et al., 2004)**,**(Adamson et al., 2011)**. Le PH de la solution a été modifié vers PH=7 à l'aide de NAOH.



Figure 15: Préparation et injection du CSE (ces photos sont prises à partir de la thèse D'année passée).

3.2.4 Le Protocol expérimental :

Le modèle expérimental de BPCO a été induit chez les souris BALB/c qui sont divisées en 2 groupes :

- Groupe contrôle (1) : les souris femelles de type BALB/c traitées par le PBS (n=8)
- Groupe traités (1) : les souris femelles de type BALB/c traitée par le CSE (n=8)

L'induction se fait par l'administration de la solution PBS-CSE par injection intra péritonéale du 0.3ml chaque 11 jour pendant deux mois **(Figure 16).** Les souris ont été surveillées quotidiennement pendant toute la durée expérimentale (2 mois).

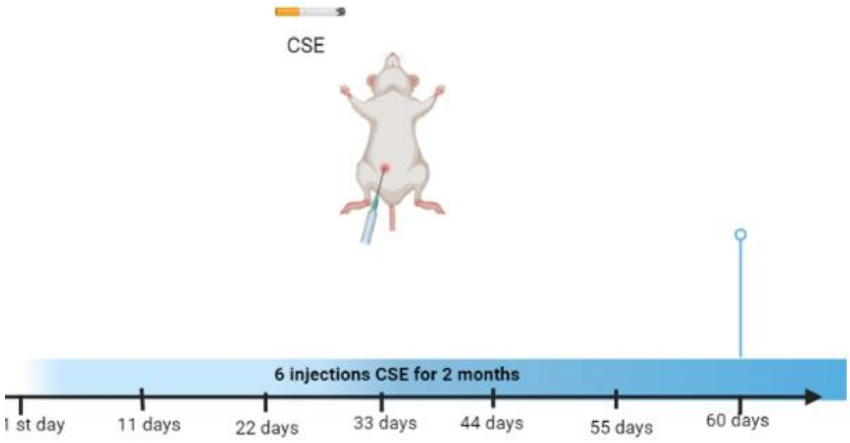


Figure 16 : Induction de la maladie chez les souris.

3.2.5 Récupération des organes

Après avoir sacrifié les souris, les organes tels que les poumons, le foie, le muscle et le cœur ont été prélevés immédiatement pour éviter toute détérioration. Les échantillons seront soit placés dans une solution saline à -20°C pour mesurer les paramètres de stress oxydatif, soit conservés dans une solution de formol à 10% pour une étude histologique ultérieure. Cette étude sera réalisée en utilisant la coloration à l'hématoxyline-éosine pour évaluer l'inflammation et l'architecture pulmonaire. **(Annexe).**

4. Dosage tissulaire des paramètres du stress oxydant

4.1 Préparation de l'homogénat :

Les paramètres du stress oxydant ont été mesurés dans les tissus pulmonaires, hépatiques, cardiaques et musculaires.

Pour ce faire, un homogénat à 10 % a été préparé en mélangeant 100 mg de chaque tissu avec 1 ml d'une solution tampon phosphate.

Le mélange a été broyé pendant 30 secondes à une température de 4°C à l'aide d'un homogénéisateur IKA®, puis centrifugé à 6000 tours/minute pendant 15 minutes, et le surnageant a été récupéré.

4.2 Dosage de malondialdéhyde (MDA)

4.2.1 Le principe

Le malondialdéhyde (MDA) est mesuré selon la méthode de **(Nourooz-Zadeh et al., 1996).** Il représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration en MDA est calculée en utilisant t le coefficient d'extinction du complexe MDA – TBA (ε = 1,56 x 105 mol-1.L.cm-1 à 532 nm).

4.2.3 Mode opératoire

- Mettre 0.1ml homogénat avec 0.1ml du SDS (8.1%) + 0.75 acide acétique 20% + 0.75 TBA 1%
- On termine jusqu'à 2 ml avec l'eau distillé
- vortexer et incuber au bain-marie à 95C° / 60min
- 1ml du mélange + 1ml TCA 10%
- Centrifugé 1000 t/m pendant 5min
- Lire la DO du surnagent au spectromètre contre le blanc à 532nm.

Réactif	**Blanc**	**Essai**
Homogénat	**/**	**0.1ml**
SDS (8.1**%**)	**0.1ml**	**0.1ml**
Acide acétique 20**%**	**0.75**	**0.75**
TBA 1**%**	**0.75**	**0.75**

TCA 10%	**1ml**	**1ml**

Tableau 1 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité du MDA

On calcule MDA selon la formule suivante :

$$C = \frac{\mathbf{DO} \times \mathbf{10^6}}{\boldsymbol{\varepsilon} \times \mathbf{X} \times \mathbf{L} \times \mathbf{Fd}}$$

C : concentration de MDA en nmoles/mg de protéine

DO : densité optique lue à 530nm

Ɛ : coefficient d'extinction molaire du MDA $\varepsilon = 1.56 \times 10^5\ M^{-1}\ cm^{-1}$.

L : longeur du trajet optique : = 1cm.

X : concentration de surnagent en protéines (mg/ml).

Fd : facteur de dilution Fd =0.2083.

4.3 Dosage de l'activité de la catalase (CAT)

4.3.1 Principe

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces oxygénées, La méthode utilisée dans le dosage de l'activité enzymatique du CAT est celle d'Aebi **(Aebi, 1984)** , La CAT catalyse la destruction du peroxyde d'hydrogène (H2O2) en eau et en oxygène. L'activité du CAT a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du H2O2 à une température d'incubation de 25 °C.

4.3.2 Mode opératoire

- Prélever 0.02 ml homogénat
- Incuber à 35°C pour activer l'enzyme
- Ajouter 1.9 ml de tampon phosphate (50mM à ph=7.4)
- Ajouter 1ml de la solution de peroxyde d'hydrogène H2O2 (30Mm)

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Tampon phosphate (0,1 M) pH 7,5	1.9 ml	1.9ml
H2O2 (0,5 M)	1 ml	1ml
Homogénat	/	0.02 ml

Tableau 2 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité du CAT

Lire l'absorbance à 240 nm après chaque minute dans un intervalle de temps de 3 minutes.

Calcule de l'activité enzymatique du CAT : l'activité enzymatique de la CAT est calculée par la formule suivante :

Activité de CAT (µmol H2O2 / min / mg / protéine) : $CAT = \frac{\Delta DO}{\varepsilon \times L \times X}$

- ΔDO : Variation de la densité optique par minutes.
- ε : Coefficient d'extinction du H2O2 (0,04 mM-1 .Cm-1).
- L : Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique (1 cm).
- X : Quantité des protéines en mg/ml

4.4 Dosage des protéines tissulaire

4.4.1 Principe

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (–NH2) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

4.4.2 Mode opératoire

- Prélever 50 ml de l'homogénat.
- Ajouter 2 ml du réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 5 min.
- Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc (pour le blanc à la place du surnageant on met l'eau distillée).

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Réactif de Bradford	2 ml	2 ml
Homogénat	/	50 ml

Tableau 3 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité des protéines.

Calcule de la concentration des protéines : la densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions. **(Voir l'annexe 5)**

4.5 Dosage de l'activité de super oxyde dismutase (SOD)

4.5.1 Principe

Le dosage de la SOD est effectué selon la méthode de Marklund (MARKLUND & MARKLUND, 1974). L'auto oxydation du pyrogallol en présence d'EDTA est inhibée par la SOD. De pH 7.9 à 9.1, la réaction est inhibée jusqu'à 90% par la SOD, ce qui indique une totale dépendance de l'anion superoxyde O_2^- dans cette auto-oxydation. Le principe du dosage est donc basé sur la compétition entre la réaction d'oxydation du pyrogallol (10 mM) par l'O_2^- et la dismutation de l'O_2^- par la SOD. Une unité enzymatique est définie comme la quantité d'enzyme capable d'inhiber 50% de l'oxydation du pyrogallol dans les conditions du dosage.

4.5.2Mode opératoire

Réactif	*Blanc (µl)*	*Essai (µl)*
Tris HCl (50 mM, pH : 8,2)	200	200
Pyrogallol	50	50
Homogénat	50	50
Eau distillé	500	400

Tableau 4 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité de SOD.

Le changement de l'absorbance est mesuré à 470 nm après chaque minute dans un intervalle de temps de 3 minute.

L'activité enzymatique de SOD est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition totale} = \frac{\text{DO du blanc} - \text{DO d'échantillion}}{\text{DO Blanc}}$$

$$\text{U de SOD / mg de protéines} = \frac{\text{inhibition totale}}{N * 50}$$

N : mg de protéines présents dans le volume de l'échantillon utilisé.

4.6 Dosage du glutathion réduit (GSH)

4.6.1 Principe

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé par la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) **(Ellman, 1959).** La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoique (TNB). Le thionitrobenzoique (TNB) à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412 mn.

On calcule la concentration du GSH selon la formule suivante :

$$GSH = \frac{DO \times L \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times mg\ prot}$$

DO : densité optique

L : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation.

4.6.2 Mode opératoire

- Préparation du 0.2ml d'homogénat avec 0.05 ml de (SSA) 25%.
- Agiter après laisser pendant 15min dans un bain de glace.
- Centrifugé 1000 t/m pendant 5min.
- Récupérer 0.25ml du surnageant.
- Ajouter 0.5 ml TRIS- EDTA.
- Ajouter 0.0125ml DTNB.

Réactif	Blanc	Essai
Homogénat	/	0.2 ml
SSA 25 %	0.05ml	0.05ml
TRIS-EDTA	0.5ml	0.5ml
DTNB	0.0125ml	0.0125ml

Tableau 5 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité de GSH.

- Laisser 5min à température ambiante.
- Lire la DO à une langueur d'onde à 412nm

5 Etude histologique :

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de Biologie et pharmacologie expérimentale. La technique comporte les étapes suivantes :

5.1 Fixation des organes :

Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Le temps de la fixation est essentiel pour la réussite de la technique histologique. Elle doit se faire Immédiatement après le prélèvement, par immersion dans un fixateur le formaldéhyde à 10%.

5.2 Insertion dans les casettes et préparation des blocks.

5.3 déshydratations

La déshydratation est réalisée dans des bains d'alcool à concentration croissante 70% 90% 100% 10min, 15 min, 30min, Afin d'extraire complétement l'eau des tissus. Suivis d'un seul bain de Xylène pondent 15 min.

5.4Préparation des blocs (inclusion) :

Après la déshydratation, L'inclusion A pour but la réalisation de coupe histologique.

L'inclusion se fait dans 2 bains de paraffine à 56°C 1h30min pour chacun. Ensuite, les organes imprégnés sont transférés dans des cassettes identifiées puis immergés dans la paraffine, les blocs sont préparés et conservé au froid à +4°C.

5.5 Réalisation des coupes :

Elle se fait grâce à un microtome à 5 µm, ensuite les coupes il sont étalées sur des lames à l'aide d'eau gélatinée puis séchées sur une plaque chauffante à 35°C.

5.6 Coloration des lames

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) permet une coloration bleue du noyau et rose pour le cytoplasme, qui consiste à faire passer les lames dans un bain d'hématoxyline puis dans un bain de rinçage. La deuxième coloration se fait par l'éosine suivis d'un bain de rinçage. **Voir les annexes**

5.7 Déshydratation et montage : voir les annexes

I.1/ 5.8 Observation microscopique.

6 ANALYSE STATISTIQUES

Les résultats sont présentés sous forme de valeur moyenne et écart type. Nous avons utilisé le Logiciel **Graph PAD prism7®** pour la représentation des donnés numérique et graphique et aussi dans la réalisation de l'analyse statistiques, la comparaison des moyennes est effectuée par **le T test** pour comparer les moyennes entre elles d'une part et entre celles des témoins d'autre part. $P<0.05$.

Partie résultats et discussion

1 Étude des paramètres du stress oxydant

Les résultats des paramètres du stress oxydatif sont résumés dans **les figures** 17-18-19-20

Nous avons remarqué **(selon la figure 17)**, une augmentation significative de l'activité de MDA (P=0,03) au niveau du poumon chez le groupe CSE comparativement aux témoins.

Une réduction significative de l'activité des antioxydants enzymatique a été observé : Catalase (P = 0,0001), GSH (P = 0,0005) et SOD (P = 0,0030) en comparaison avec le groupe contrôle.

Figure 17 : Variation du taux (MDA, Catalase, GSH, SOD) au niveau pulmonaire

Selon la figure 18, une augmentation significative de l'activité de MDA (P=0,0019) a été observée au niveau hépatique chez le groupe ayant reçu une injection de l'extrait fumé de cigarette, comparé à leur groupe témoin (sain).

Une réduction significative de l'activité des antioxydants enzymatique : catalase (P = 0,0011), GSH (P = 0,0119) et SOD (P = 0,0172).

Figure 18 : Variation du taux (MDA, Catalase, GSH, SOD) au niveau hépatique.

Selon la figure 19, Les résultats obtenus au niveau cardiaque ont révélé une augmentation significative et très importante de l'activité du MDA (P=0,0237) par rapport au groupe control. En ce qui concerne l'activité des antioxydants enzymatiques, une diminution significative a été observée avec une valeur de P égale à 0,0031 pour la catalase, 0,0348 pour la SOD et 0,0504 pour le GSH, en comparaison avec le groupe témoin.

Figure 19 : Variation du taux (MDA, Catalase, GSH, SOD) au niveau de cœur.

Selon la figure 20, Nous avons observé une augmentation significative de l'activité du MDA (P=0,041) chez le groupe CSE, par rapport au groupe témoin. En revanche, il y a eu une diminution significative de l'activité des antioxydants - la SOD (P=0,025), la catalase (P=0,035) et le GSH (P=0,021) - par rapport au groupe témoin.

Figure 20 : Variation du taux (MA, Catalase, GSH, SOD) au niveau musculaire.

2 l'Etude histologique

2.1 Etude histologique au niveau pulmonaire

L'analyse histologique du groupe témoin révèle un aspect normal du poumon. Les bronches sont entourées d'une seule couche de cellules épithéliales, et la taille des alvéoles est normale, sans présence de dilatation ou de congestion des vaisseaux sanguins.

Une altérations architecturales profondes chez les souris qui ont reçu l'extrait de fumée par rapport au groupe témoins, une infiltration per bronchique et péri- vasculaire associée à une destruction parenchymateuse, une atteinte bronchique caractérisée par une hyperplasie bronchique et musculaire.

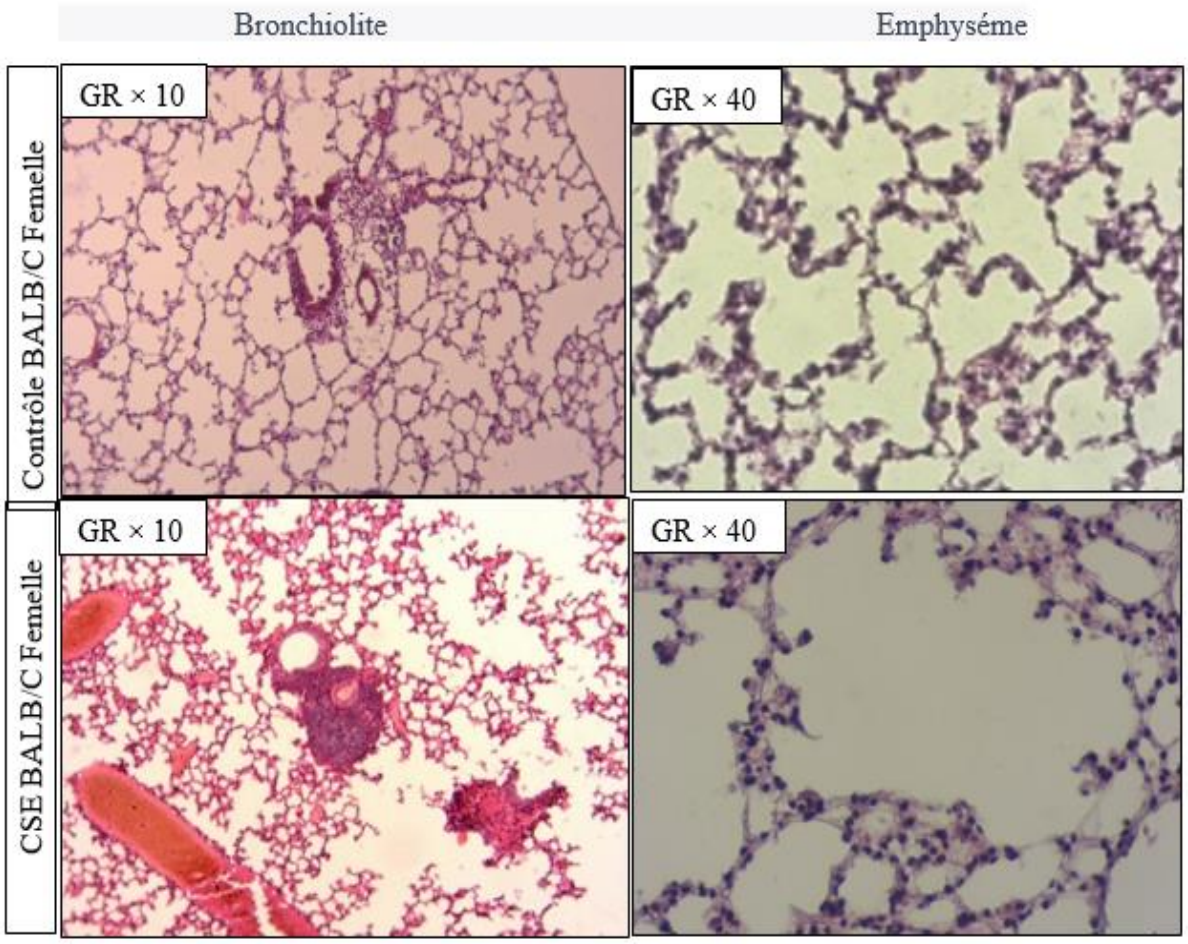


Figure 21 : Etude histologique du parenchyme pulmonaire des souris témoins et de groupe CSE.

2.1.1Etude histologique musculaires

L'histologie des muscles squelettiques du groupe contrôle, montre des fibres musculaires bien organisées, des myofibrilles avec une disposition régulière, des noyaux situés à la périphérie des fibres musculaires, une bonne vascularisation et un tissu conjonctif approprié pour soutenir les structures musculaires.

En revanche, On Remarque que la fumée de cigarette ait entraîné des altérations histologiques des cellules musculaires squelettiques chez les souris qui ont reçus L'extrait de fumée. Une disposition lâche des cellules musculaires et les surfaces transversales réduites l'atrophie des cellules musculaires squelettiques qui se caractérise par une diminution de la taille et de la masse musculaire.

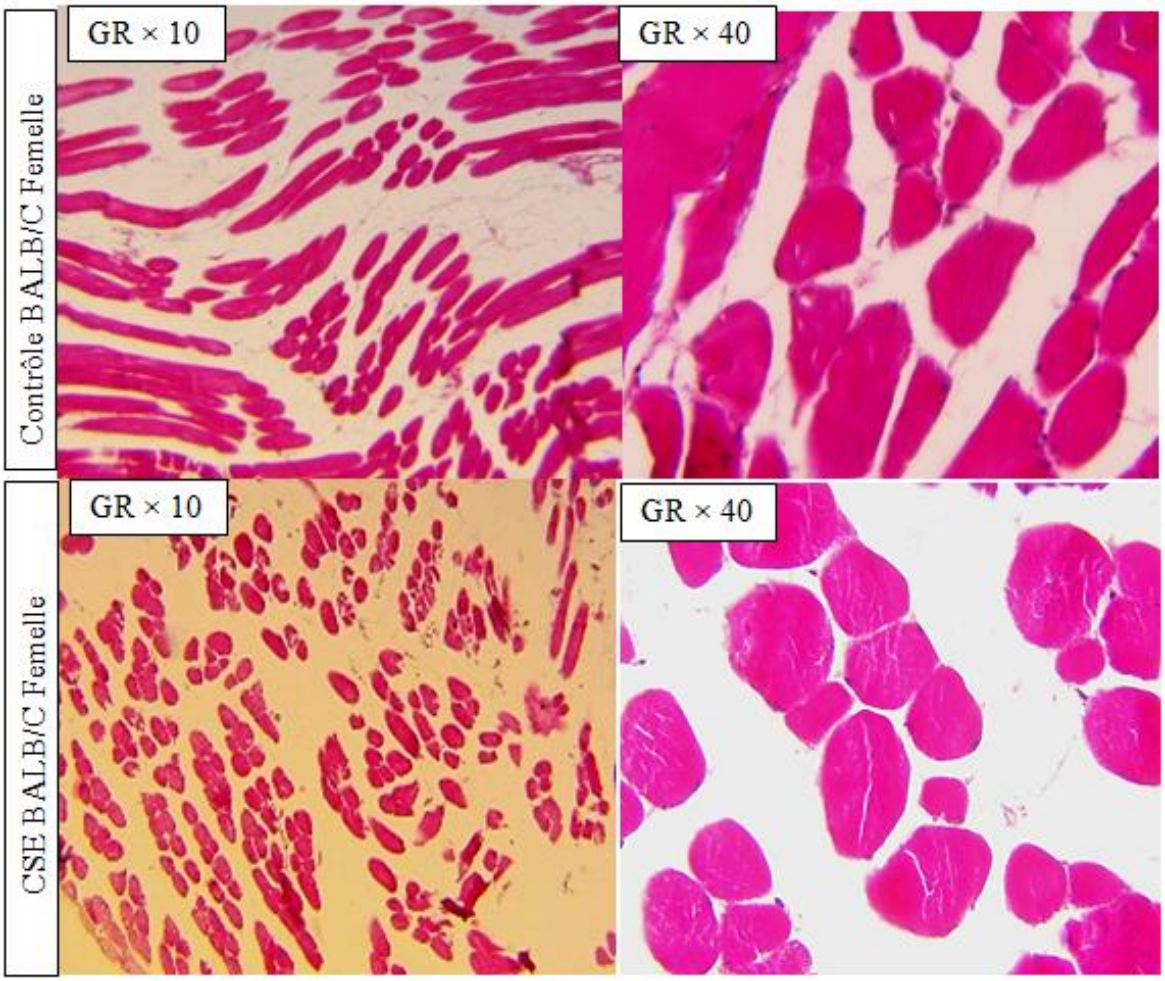


Figure 22: Coupes histologiques du muscle squelettique des souris témoins et du groupe CSE.

2.1.2 Etude histologique hépatique

Dans le groupe contrôle, l'histologie du foie révèle une architecture lobulaire bien définie, avec des hépatocytes alignés de manière régulière. Les sinusoïdes, les vaisseaux sanguins capillaires du foie, sont clairement visibles et fonctionnent normalement. De plus, aucune anomalie histopathologique ou signe de pathologie n'est observé

Les résultats de l'évaluation histologique du foie exposé à l'extrait de fumée révèlent plusieurs changements histopathologiques significatifs. On observe une congestion hépatique et une dilatation des sinusoïdes. De plus, il est remarqué la présence de stéatose hépatique, caractérisée par l'accumulation de graisse dans les cellules hépatiques, accompagnée du déplacement des noyaux vers la périphérie des cellules. On observe également des zones de nécrose associées à des granulomes inflammatoires. En outre, on peut noter la présence de dégénérescence hydropique.

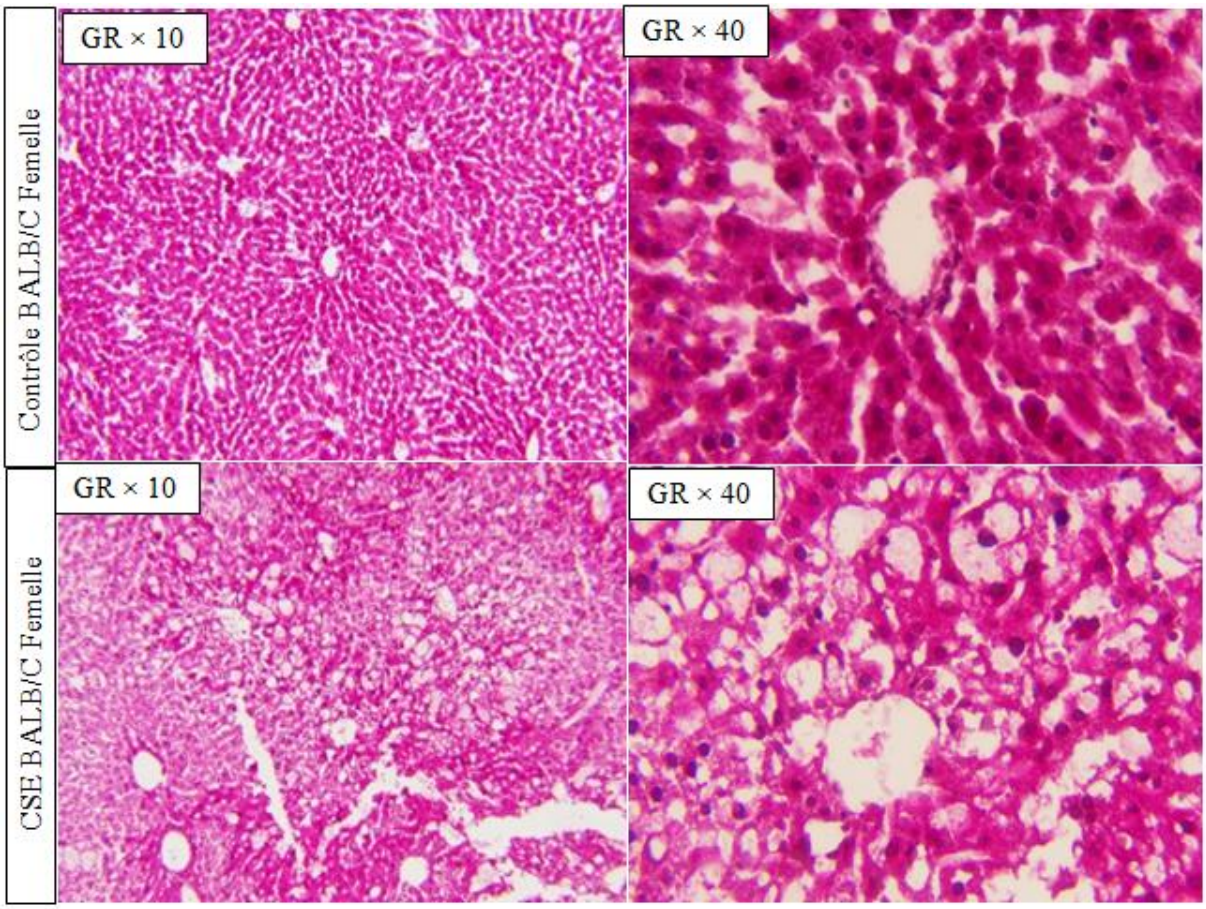


Figure 23: Coupes histologiques du foie des souris témoins et de groupe CSE.

2.2.3 Etude histologique au niveau cardiaque

Dans l'histologie normale du cœur du groupe contrôle, on s'attend à observer une organisation régulière des fibres musculaires cardiaques, des striations transversales, des noyaux centraux dans les cardiomyocytes, des disques intercalaires distincts, une bonne vascularisation.

La section longitudinale (SL) des muscles cardiaques des souris exposées à la CSE a révélé une réduction de taille et une disposition irrégulière des fibres cardiaques, ainsi qu'une présence d'inflammation. En revanche, aucun de ces changements n'a été observé dans le groupe témoin.

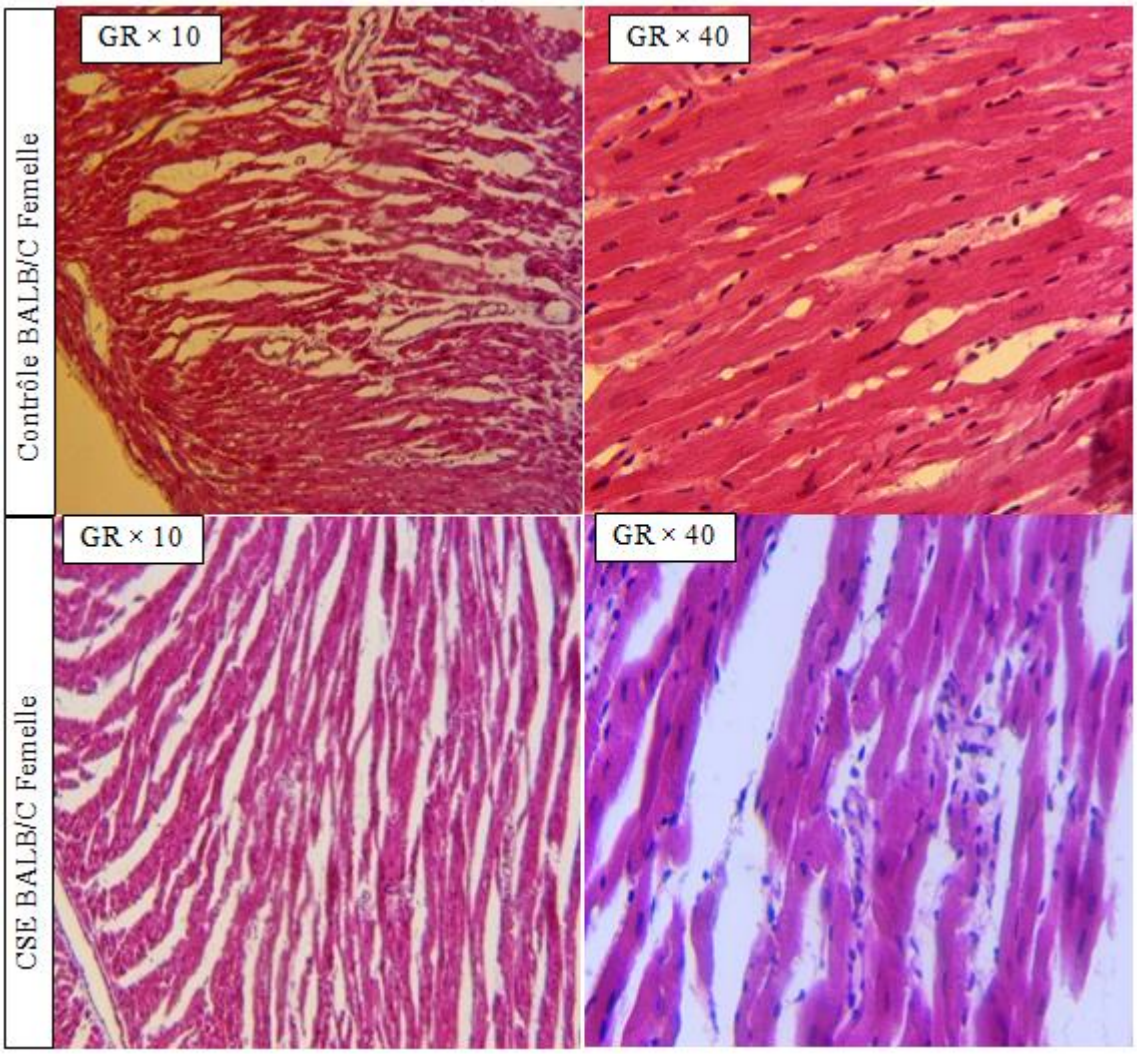


Figure 24: Coupes histologiques du cœur des souris témoins et de groupe CSE.

Discussion

1 Discussion

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une affection fréquente qui se caractérise par une obstruction permanente des voies respiratoires. Cette obstruction résulte d'une réaction inflammatoire anormale des poumons due à une exposition prolongée à la fumée, aux particules de poussière et à d'autres polluants atmosphériques inhalés.**(Ahmad et al., 2013)**

Afin de mieux appréhender le développement de la maladie, il est essentiel de mettre en place un modèle animal reproduisant les différentes caractéristiques de la BPCO. À ce jour, plusieurs modèles animaux sont utilisés à cette fin, tels que l'exposition à la fumée, l'utilisation de l'élastase, l'administration de LPS (lipopolysaccharide), etc.**(Ghorani et al., 2017)**

Le modèle utilisé dans cette étude est un modèle expérimental induit par l'extrait de fumée. Cette étude fait suite à une précédente étude visant à optimiser un modèle animal de BPCO en analysant l'histologie pulmonaire et les paramètres inflammatoires sanguines. L'objectif de l'étude actuelle est d'évaluer les niveaux de stress oxydatif dans les poumons ainsi que dans plusieurs autres organes tels que le foie, les muscles squelettiques et le cœur. De plus, elle vise à étudier les lésions histologiques pulmonaires et extra-pulmonaires causées par l'injection de l'extrait de fumée.

La fumée de cigarette est le principal facteur de risque dans le développement de la BPCO. Elle entraîne une production excessive d'oxydes dans le corps, endommageant directement les tissus pulmonaires en créant un déséquilibre d'oxydants dans les voies respiratoires inférieures **(Liang & He, 2019)**. Ce déséquilibre oxydant-antioxydant est crucial dans l'apparition de la maladie **(Ahmad et al., 2013)**

Dans cette étude, nous avons mis en évidence le rôle du stress oxydatif dans les altérations pulmonaires et extra-pulmonaires induites par la fumée de cigarette. Nous avons observé une augmentation pulmonaire des marqueurs pro-oxydants tels que MDA, ainsi qu'une diminution des antioxydants tels que SOD, catalase et GSH, ce qui est cohérent avec les résultats rapportés dans la littérature **(Kirkham & Barnes, 2013a; McGuinness & Sapey, 2017)**

Les mêmes résultats sont montrés également dans le foie , le muscle et le cœur, ce qui coïncide avec les résultats de la littérature **(Henrot et al., 2023)(Alsalhen, 2014; Dae-Hyun Kim, 2004)**

Le MDA (malondialdéhyde) est un produit formé lors de la peroxydation lipidique, Il est souvent utilisé comme marqueur pour évaluer le stress oxydatif et la peroxydation lipidique dans les tissus biologiques lors des processus pathologique notamment BPCO **(Del Rio et al., 2005; Kato & Hanaoka, 2017b; Kirkham & Barnes, 2013b; Sun et al., 2019).**

La fumée de cigarette induit la peroxydation lipidique par différents mécanismes, notamment l'activation de radicaux libres dans les poumons. Ces radicaux libres attaquent les lipides membranaires, entraînant leur peroxydation. De plus, l'inflammation provoquée par la fumée de cigarette peut conduire à une augmentation du nombre de cellules inflammatoires et de cytokines inflammatoires. Cette inflammation produit un excès de radicaux oxygénés réactifs (ROS) dans les alvéoles pulmonaires, ce qui entraîne la production accrue d'anions superoxydes et de peroxyde d'hydrogène. Ces anions superoxydes peuvent réagir avec le monoxyde d'azote (NO) pour former des peroxynitrites (ONOOH) qui sont particulièrement toxiques pour les lipides **(Mouhamed et al., 2012)(Ahmad et al., 2013).**

La fumée de cigarette a un effet néfaste sur le système antioxydant (SOD, catalase, GSH) par plusieurs mécanismes, en particulier en interférant avec l'activation du facteur de transcription Nrf2 et Foxo 3.

(Nrf2) est un facteur de transcription qui joue un rôle important dans les défenses antioxydants endogènes. Nrf2 régule l'expression des gènes antioxydants dans des conditions physiologiques et de stress oxydatif. L'induction de Nrf2 se produit dans la cellule lors d'un stress oxydatif causé par divers facteurs environnementaux, tels que l'exposition au CS **(Campos et al., 2017)**

Ces stimuli externes induisent la génération de ROS, ce qui déclenche l'activation de Nrf2 et sa translocation dans le noyau. Après sa translocation dans le noyau et sa liaison à un élément de réponse antioxydant (ARE), Nrf2 régule l'expression des protéines anti oxydantes.

Les voies Nrf2 sont réduites chez les patients atteints de BPCO et la perturbation génétique de ce facteur chez la souris entraîne l'emphysème. **(Kelsen, 2014).**

FOXO3 est un facteur de transcription qui protège contre le stress oxydatif en favorisant la transcription d'antioxydants tels que la catalase. **(Jones et al., 2017).**

Les facteurs de transcription Nrf2 et FOXO3 régulent de multiples gènes antioxydants et sont tous deux réduits dans les poumons atteints de BPCO ainsi que dans les cellules épithéliales pulmonaires. **(Barnes, 2020).**

La BPCO est une maladie pulmonaire caractérisée par plusieurs altérations histologiques, notamment une inflammation pulmonaire, un emphysème, une hypersécrétion de mucus et une bronchiolite obstructive chronique**(Ahmad et al., 2013).**

Au niveau histologique, l'exposition à la fumée de cigarette (CSE) entraîne des altérations similaires à celles observées chez les patients atteints de BPCO, telles qu'une infiltration inflammatoire, une bronchiolite chronique et une destruction alvéolaire. Nos résultats concordent avec une étude réalisée par Yan Ahang et al. en 2013, où ils ont également observé une inflammation bronchique et des signes précoces d'emphysème après l'injection d'extrait de fumée **(He et al., 2015).**

L'exposition à la fumée de cigarette augmente les niveaux de plusieurs cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF-a, l'IL-1b, l'IL-6 et l'IL-8, qui jouent un rôle clé dans l'infiltration des leucocytes dans les poumons et les tissus, entraînant ainsi des dommages tissulaires (Barnes, 2020)**.**

De plus, une augmentation des cellules inflammatoires tissulaires a été observée en corrélation avec une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les cellules inflammatoires activées sont capables de produire des ROS, qui favorisent les lésions pulmonaires et stimulent des réponses inflammatoires supplémentaires, comme indiqué dans l'étude de Kennedy-Feitosa et al. en 2016 **(Gonçalves & Romeiro, 2019).**

Les ROS ont également été associés au remodelage de la matrice extracellulaire, à la peroxydation des lipides et à l'inactivation des anti protéases, qui sont autant de facteurs contribuant au développement de la BPCO, comme suggéré par l'étude de **Rahman en 2005**.

En résumé, l'exposition à la fumée de cigarette affecte le système antioxydant, induit une inflammation et une cascade de réponses inflammatoires, provoque des dommages tissulaires et contribue au développement de la BPCO. Ces mécanismes jouent un rôle crucial dans la progression de la maladie.

Dans la littérature, plusieurs études ont souligné l'existence d'altérations systémiques associées à la BPCO, qui dépassent les seules complications pulmonaires. Parmi ces altérations, des atteintes hépatiques, musculaires squelettiques et cardiaques ont été identifiées.

Dans une étude réalisée par **Alsalhen en 2014**, les chercheurs ont examiné les complications extrapulmonaires de la BPCO chez des patients atteints de stade sévère de la maladie. Ils ont observé une prévalence élevée de dysfonction hépatique, caractérisée par une dégénérescence hydropique hépatique et des anomalies des tests de la fonction hépatique. Cette altération hépatique pourrait être attribuée à l'inflammation systémique, au stress oxydatif et à l'hypoxie chronique associés à la BPCO **(Alsalhen, 2014; Dae-Hyun Kim, 2004).**

De plus, une étude plus récente menée par Henrot et al en 2023 a également mis en évidence des atteintes musculaires squelettiques et cardiaques chez des patients atteints de BPCO principalement une atrophie musculaire et des signes de dégénérescence dans les muscles squelettiques et cardiaques **(Henrot et al., 2023).**

En se basant sur ces études antérieures, nos propres résultats histologiques confirment ces observations. Vous avez observé une dégénérescence hydropique hépatique, suggérant une altération du foie, ainsi qu'une atrophie des muscles squelettiques et cardiaques suite à l'injection de l'extrait de fumée. Ces résultats renforcent l'idée que la BPCO peut avoir des effets systémiques et affecter d'autres organes en dehors des poumons.

Il est important de souligner que ces altérations systémiques observées dans la BPCO peuvent être attribuées à des mécanismes inflammatoires, à l'hypoxie tissulaire, à l'activation du stress oxydatif et à d'autres facteurs pathologiques liés à la maladie. La compréhension de ces altérations systémiques est essentielle pour une prise en charge globale et complète des patients atteints de BPCO.

En fin, les données discutées ainsi que les résultats de cette étude mettent en évidence l'impact de la fumée de cigarette sur le développement de la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO). L'exposition à la fumée de cigarette entraîne une inflammation pulmonaire, une augmentation du stress oxydatif, des altérations histologiques et des complications extrapulmonaires.

La compréhension de ces mécanismes pathologiques et des altérations systémiques est cruciale pour améliorer la prise en charge et le traitement global des patients atteints de BPCO.

Des approches thérapeutiques ciblant l'inflammation, le stress oxydatif et la régulation des antioxydants pourraient être prometteuses pour atténuer les complications de la BPCO et améliorer la qualité de vie des patients.

Conclusion et perspective

Conclusion

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une maladie chronique caractérisée par des difficultés respiratoires. Elle est principalement causée par l'inhalation de fumée de cigarette ou de toxiques pour les voies respiratoires. La BPCO est associée à une inflammation chronique des voies respiratoires, à une hypersécrétion de mucus, à une bronchite chronique et à un emphysème, ce qui entraîne une réduction de la fonction pulmonaire et des symptômes d'essoufflement. En plus de son impact sur le système respiratoire, la BPCO est également reconnue comme une maladie inflammatoire systémique, pouvant entraîner des comorbidités extra-respiratoires.

L'objectif de cette étude était d'analyser l'implication du stress oxydatif dans l'évolution d'un modèle expérimental de BPCO chez des souris BALB/c femelles. Les paramètres du stress oxydatif ont été mesurés dans les poumons ainsi que dans plusieurs autres organes tels que le foie, les muscles et le cœur. Les résultats obtenus peuvent être résumés comme suit :

Après avoir administré un extrait de tabac (CSE) par voie intrapéritonéale aux souris, les résultats des dosages des paramètres du stress ont montré une augmentation significative de l'activité de MDA (un marqueur du stress oxydatif) dans les poumons, le foie, le cœur et les muscles du groupe CSE par rapport au groupe témoin. De plus, une réduction significative de l'activité des antioxydants enzymatiques catalase, GSH et SOD a été observée dans les mêmes organes chez le groupe CSE par rapport au groupe témoin.

Les résultats suggèrent que le modèle des souris BALB/c femelles constitue un bon modèle d'étude pour examiner les différentes manifestations histologiques de la BPCO. L'examen histologique des poumons a confirmé l'induction de l'emphysème après le traitement par le CSE, ainsi que des altérations de l'architecture tissulaire, une infiltration péribronchique et périvasculaire associée à une destruction parenchymateuse, et une hyperplasie bronchique et musculaire.

Les coupes histologiques réalisées sur des fragments de foie, de cœur et de muscles ont également confirmé les effets de l'extrait de fumée de cigarette, notamment une congestion hépatique, une dilatation des sinusoïdes, une stéatose hépatique, une réduction de taille et une disposition irrégulière des fibres cardiaques, ainsi que des altérations histologiques des cellules musculaires squelettiques et une diminution de la taille et de la masse musculaire.

Cependant, il convient de noter qu'il n'existe pas de modèle animal parfaitement représentatif de la BPCO chez l'humain. Les différents modèles animaux disponibles fournissent néanmoins des informations fiables sur la complexité et la physiopathologie de la maladie, ainsi que sur les mécanismes de sa progression et de ses exacerbations.

En guise de perspectives, il serait intéressant de compléter les résultats obtenus par les actions suivantes :

1. Développer les dosages de biomarqueurs tels que le rapport nitrite oxide/GSSG, GST, les radicaux libres, les vitamines C et E, afin d'obtenir une meilleure compréhension de leur rôle et de leur intérêt dans les pathologies respiratoires.

2. Étudier les altérations systémiques : Les résultats de cette étude suggèrent que la BPCO peut avoir des effets systémiques sur d'autres organes tels que le foie, les muscles squelettiques et le cœur. Des investigations supplémentaires pourraient être menées pour comprendre en détail les mécanismes de ces altérations et explorer leur impact sur la fonction.

Ces perspectives de recherche pourraient contribuer à une meilleure compréhension de la BPCO et à l'identification de nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement de cette maladie respiratoire chronique.

Références bibliographiques

Adamson, J., Azzopardi, D., Errington, G., Dickens, C., McAughey, J., & Gaça, M. D. (2011). Assessment of an in vitro whole cigarette smoke exposure system: The Borgwaldt RM20S 8-syringe smoking machine. *Chemistry Central Journal*, *5*(1), 50. https://doi.org/10.1186/1752-153X-5-50

Adeloye, D., Song, P., Zhu, Y., Campbell, P. H., Sheikh, P. A., Rudan, P. I., Respire, N., Respiratory, G., & Unit, H. (2022). Global , regional , and national prevalence of , and risk factors for , chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 2019 : a systematic review and modelling analysis. *The Lancet Respiratory*, *10*(5), 447–458. https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00511-7

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, *105*(C), 121–126. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3

Agustí, A., & Vestbo, J. (2011). Current controversies and future perspectives in chronic obstructive pulmonary disease. In *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (Vol. 184, Issue 5, pp. 507–513). https://doi.org/10.1164/rccm.201103-0405PP

Ahmad, A., Shameem, M., & Husain, Q. (2013). Altered oxidant-antioxidant levels in the disease prognosis of chronic obstructive pulmonary disease. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, *17*(8), 1104–1109. https://doi.org/10.5588/ijtld.12.0512

Alsalhen, K. S. (2014). *Effect of cigarette smoking on liver functions: a comparative study conducted among smokers and non-smokers male in El-beida City, Libya*.

André, S., Conde, B., Fragoso, E., Boléo-Tomé, J. P., Areias, V., & Cardoso, J. (2019). COPD and Cardiovascular Disease. *Pulmonology*, *25*(3), 168–176. https://doi.org/10.1016/j.pulmoe.2018.09.006

Atsou, K., & Chouaid, C. (2012). *REVUE GENERALE BPCO : définition , prévalence , étiologie et évaluation*. *3*(8), 12–26. https://doi.org/10.12699/jfvp.3.8.2012.12

Aubier, M., Marthan, R., Berger, P., Chambellan, A., Chanez, P., Aguilaniu, B., Brillet, P. Y., Burgel, P. R., Chaouat, A., Devillier, P., Escamilla, R., Louis, R., Mal, H., Muir, J. F.,

Pérez, T., Similowski, T., Wallaert, B., & Roche, N. (2010). COPD and inflammation: Statement from a French expert group: Inflammation and remodelling mechanisms. *Revue Des Maladies Respiratoires*, *27*(10), 1254–1266. https://doi.org/10.1016/j.rmr.2010.10.004

Awad, M., Nafti, S., Ahmed, J., Nejjari, C., Beji, M., Mahboub, B., Obeidat, N. M., Uzaslan, E., Wali, S., Rashid, N., & El, A. (2012). Distribution of COPD-related symptoms in the Middle East and North Africa : Results of the BREATHE study. *Respiratory Medicine*, *106*, S25–S32. https://doi.org/10.1016/S0954-6111(12)70012-4

Ayoub Bensakhria. (2018). (PDF) Toxicologie Générale - Le Stress Oxydatif. *Liverpool John Moores University*, *July*, 70–86.

Bagdonas, E., Raudoniute, J., Bruzauskaite, I., & Aldonyte, R. (2015). Novel aspects of pathogenesis and regeneration mechanisms in COPD. *International Journal of COPD*, *10*, 995–1013. https://doi.org/10.2147/COPD.S82518

Barnes, P. J. (2016). Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *138*(1), 16–27. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.05.011

Barnes, P. J. (2017). *Cellular and molecular mechanisms of asthma and COPD*. *March*, 1541–1558. https://doi.org/10.1042/CS20160487

Barnes, P. J. (2018). Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Reviews Immunology*, *18*(7), 454–466. https://doi.org/10.1038/s41577-018-0006-6

Barnes, P. J. (2019). International Journal of Biochemistry and Cell Biology Small airway fibrosis in COPD. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, *116*(September), 105598. https://doi.org/10.1016/j.biocel.2019.105598

Barnes, P. J. (2020). Oxidative stress-based therapeutics in COPD. *Redox Biology*, *33*, 101544. https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2020.101544

Barnes, P. J., Burney, P. G. J., Silverman, E. K., Celli, B. R., Vestbo, J., Wedzicha, J. A., & Wouters, E. F. M. (2015). Chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Reviews Disease*

Primers, *1*(December), 1–22. https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.76

Baudin, B. (2020). Dossier scientifique Stress oxydant et protections antioxydantes. *RFL Revue Francophone Des Laboratories*, *2020*(522), 22–30. https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30159-3

Béguel, J. (2013). *Étude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez l ' huître creuse Crassostrea gigas To cite this version : HAL Id : tel-00838503 Jean-Philippe B Ž guel Etude de la capacit antioxydante en lien avec la reproduction chez l ' hu " tre c*.

Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016). Pour la science Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine Maladies Métaboliques*, *10*(1), 38–42. https://doi.org/10.1016/S1957-2557(16)30009-8

Ben Hassine, T., Ben Mansour, A., & Hammami, S. (2013). Case report of fatal poisoning by Nicotina tabacum in cattle in Tunisia. *Revue de Medecine Veterinaire*, *164*(3), 141–144.

Bernardo, I., Bozinovski, S., & Vlahos, R. (2015). Targeting oxidant-dependent mechanisms for the treatment of COPD and its comorbidities. *Pharmacology and Therapeutics*, *155*, 60–79. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.08.005

Besnier, E., Delile, E., Coquerel, D., & Tamion, F. (2015). Les voies du monoxyde d'azote dans le sepsis. *Reanimation*, *24*(2), 191–200. https://doi.org/10.1007/s13546-015-1044-8

Bhatt, S., Nagappa, A. N., & Patil, C. R. (2020). Role of oxidative stress in depression. *Drug Discovery Today*, *25*(7), 1270–1276. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.05.001

Borel, P., Amiot-carlin, M. J., Borel, P., & Absorption, M. J. A. (2017). *Absorption , métabolisme et effets santé de la vitamine E To cite this version : HAL Id : hal-01595650 Absorption , métabolisme et effets santé de la vitamine E*. 1–6.

Bos, P. M. J., Soeteman-hernández, L. G., & Talhout, R. (2021). Risk assessment of components in tobacco smoke and e-cigarette aerosols : a pragmatic choice of dose metrics. *Inhalation Toxicology*, *33*(3), 81–95. https://doi.org/10.1080/08958378.2021.1909678

Brinchault, G., Diot, P., Dixmier, A., Goupil, F., Guillais, P., Gut-Gobert, C., Leroyer, C.,

Marchand-Adam, S., Meurice, J. C., Morel, H., Person, C., & Cavaillès, A. (2015). Les comorbidités dans la BPCO. *Revue de Pneumologie Clinique*, *71*(6), 342–349. https://doi.org/10.1016/j.pneumo.2015.09.009

Bu, T., Wang, L. F., & Yin, Y. Q. (2020). How do innate immune cells contribute to airway remodeling in copd progression? In *International Journal of COPD* (Vol. 15, pp. 107–116). Dove Medical Press Ltd. https://doi.org/10.2147/COPD.S235054

Burgoyne, R. A., Fisher, A. J., & Borthwick, L. A. (2021). *The Role of Epithelial Damage in the Pulmonary Immune Response*. 1–26.

Calvalido, A., Mirault, T., Rossi, A., & Messas, E. (2016). Tobacco and arteritis. *Archives Des Maladies Du Coeur et Des Vaisseaux - Pratique*, *2016*(245), 18–24. https://doi.org/10.1016/j.amcp.2015.12.010

Campos, K. K. D., Araújo, G. R., Martins, T. L., Bandeira, A. C. B., Costa, G. de P., Talvani, A., Garcia, C. C. M., Oliveira, L. A. M., Costa, D. C., & Bezerra, F. S. (2017). The antioxidant and anti-inflammatory properties of lycopene in mice lungs exposed to cigarette smoke. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *48*, 9–20. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.06.004

Cavaillès, A., Brinchault-Rabin, G., Dixmier, A., Goupil, F., Gut-Gobert, C., Marchand-Adam, S., Meurice, J. C., Morel, H., Person-Tacnet, C., Leroyer, C., & Diot, P. (2013). Comorbidities of COPD. *European Respiratory Review*, *22*(130), 454–475. https://doi.org/10.1183/09059180.00008612

Chevalier, C. (2016). *Composition et nocivité du tabac*. 22–25. https://doi.org/10.1016/j.actpha.2016.09.005

Cho, W. K., Lee, C. G., & Kim, L. K. (2019). COPD as a disease of immunosenescence. *Yonsei Medical Journal*, *60*(5), 407–413. https://doi.org/10.3349/ymj.2019.60.5.407

Cillard, P., & Agpi, A. (2006). *Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. réaction 1*.

Composition chimique du tabac. (n.d.). 11–28.

Corhay JL, B. 2022. (n.d.). *L a b r o n c h o p n e u m o pat h i e c h r o n i q u e obstructive*. *2*.

Couto, N., Malys, N., Gaskell, S. J., & Barber, J. (2013). *Partition and Turnover of Glutathione Reductase from Saccharomyces cerevisiae : A Proteomic Approach*.

Dae-Hyun Kim, Y.-S. S. and K.-C. M. (2004). *Tissue levels of malondialdehyde after passive smoke exposure of rats for a 24-week period*.

Decramer, M., & Janssens, W. (2013). Chronic obstructive pulmonary disease and comorbidities. *The Lancet Respiratory Medicine*, *1*(1), 73–83. https://doi.org/10.1016/S2213-2600(12)70060-7

Degano, B., & Soumagne, T. (2014). Clinical and functional assessment in COPD: From case finding to follow-up. *Presse Medicale*, *43*(12), 1344–1352. https://doi.org/10.1016/j.lpm.2014.05.019

Del Rio, D., Stewart, A. J., & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases : NMCD*, *15*(4), 316–328. https://doi.org/10.1016/J.NUMECD.2005.05.003

Delcroix, M., Gomez, C., Marquis, P., & Guibert, J. (2007). Tabac, fertilité et grossesse. *EMC - Obstétrique*, *2*(1), 1–16. https://doi.org/10.1016/s0246-0335(07)46113-0

Di Meo, S., & Venditti, P. (2020). Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*. https://doi.org/10.1155/2020/9829176

Dunlap, K. L., Reynolds, A. J., & Duffy, L. K. (2006). *Total antioxidant power in sled dogs supplemented with blueberries and the comparison of blood parameters associated with exercise*. *143*, 429–434. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.09.007

Eapen, M. S., Myers, S., Walters, E. H., & Sohal, S. S. (2017). Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a true paradox. *Expert Review of Respiratory Medicine*, *11*(10), 827–839. https://doi.org/10.1080/17476348.2017.1360769

Efraigne, J. O. D., & Incemail, J. P. (2009). *STRESS OXYDANT ET ANTIOXYDANTS : mythes*

et réalités. *1*, 10–19.

Ellman, G. L. (1959). *Tissue Su ~ yd ~ l Groups*. 70–77.

Faner, R., Cruz, T., & Agusti, A. (2013). Immune response in chronic obstructive pulmonary disease. *Expert Review of Clinical Immunology*, *9*(9), 821–833. https://doi.org/10.1586/1744666X.2013.828875

Favier, A. (2006). *Stress oxydant Stress oxydant et pathologies humaines*. 390–396.

Favier, Alain. (2003). *Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension*. 108–115.

Gao, W., Li, L., Wang, Y., Zhang, S., Adcock, I. M., Barnes, P. J., Huang, M., & Yao, X. (2015). Bronchial epithelial cells: The key effector cells in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Respirology*, *20*(5), 722–729. https://doi.org/10.1111/resp.12542

George, A., Cavalcante, D. M., Felipe, P., & Bruin, C. De. (2009). *Review Article*. *35*(July), 1227–1237.

Ghorani, V., Boskabady, M. H., Khazdair, M. R., & Kianmeher, M. (2017). Experimental animal models for COPD: a methodological review. *Tobacco Induced Diseases*, *15*(1), 1–13. https://doi.org/10.1186/s12971-017-0130-2

Goldklang, M., & Stockley, R. (2016). Chronic Obstructive Pulmonary Diseases: Journal of the COPD Foundation Pathophysiology of Emphysema and Implications. *Journal of the COPD Foundation*, *3*(1), 454–458.

Gomez, C., & Gomez-delcroix, C. (2022). *Fumée de tabac et impacts du Cadmium et du monoxyde de carbone sur le développement foeto-placentaire To cite this version : HAL Id : tel-03879705 Thèse de doctorat*.

Gonçalves, P. B., & Romeiro, N. C. (2019). Multi-target natural products as alternatives against oxidative stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *European Journal of Medicinal Chemistry*, *163*, 911–931. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.12.020

GROUPE D ' ÉTUDE DE L ' OMS Organisation mondiale de la Santé. (n.d.).

Guide, P., & Copd, T. O. (2020). *POCKET GUIDE TO COPD 2020 REPORT A Guide for Health Care Professionals*.

H, J., P, J., D, J. O., C, C., & C, J. P. (2007). *Le stress oxydant*. *1*, 628–638.

Habibou, H. H., Idrissa, M., Khalid, I., Benjamin, O., & Rabani, A. (2019). Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Differents Organes de Detarium microcarpum Guill. & Perr. *European Scientific Journal ESJ*, *15*(12). https://doi.org/10.19044/esj.2019.v15n12p159

HAS - Haute autorité de santé. (2015). Dépistage du tabagisme et prévention des maladies liées au tabac. *Has*, 103.

He, Z. H., Chen, P., Chen, Y., He, S. D., Ye, J. R., Zhang, H. L., & Cao, J. (2015). Comparison between cigarette smoke-induced emphysema and cigarette smoke extract-induced emphysema. *Tobacco Induced Diseases*, *13*(1), 1–8. https://doi.org/10.1186/s12971-015-0033-z

Henrot, P., Dupin, I., Schilfarth, P., Esteves, P., Blervaque, L., Zysman, M., Gouzi, F., Hayot, M., Pomiès, P., & Berger, P. (2023). Main Pathogenic Mechanisms and Recent Advances in COPD Peripheral Skeletal Muscle Wasting. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(7). https://doi.org/10.3390/ijms24076454

Hogg, J. C., & Timens, W. (2009). The pathology of chronic obstructive pulmonary disease. In *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* (Vol. 4, pp. 435–459). https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092145

Jin, H., Jun, Y., Chung, D., & Kim, D. (2007). *Food Chemistry Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system*. *104*, 87–92. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.002

John-Schuster, G., Günter, S., Hager, K., Conlon, T. M., Eickelberg, O., & Yildirim, A. Ö. (2016). Inflammaging increases susceptibility to cigarette smokeinduced COPD. *Oncotarget*, *7*(21), 30068–30083. https://doi.org/10.18632/oncotarget.4027

Jones, B., Donovan, C., Liu, G., Gomez, H. M., Chimankar, V., Harrison, C. L., Wiegman, C. H., Adcock, I. M., Knight, D. A., Hirota, J. A., & Hansbro, P. M. (2017). Animal models

of COPD: What do they tell us? *Respirology*, *22*(1), 21–32. https://doi.org/10.1111/resp.12908

Kato, A., & Hanaoka, M. (2017a). *Pathogenesis of COPD (Persistence of Airway Inflammation): Why Does Airway Inflammation Persist After Cessation of Smoking?* 57–72. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0839-9_4

Kato, A., & Hanaoka, M. (2017b). *Pathogenesis of COPD (Persistence of Airway Inflammation): Why Does Airway Inflammation Persist After Cessation of Smoking?* 57–72. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0839-9_4

Kelsen, S. G. (2014). Animal models of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Inhalation Toxicology, Third Edition*, 339–356. https://doi.org/10.1201/b16781

Khelafi, R., Aissanou, A., Tarsift, S., & Skander, F. (2011). Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease in Algiers. In *Revue des Maladies Respiratoires* (Vol. 28, Issue 1, pp. 32–40). https://doi.org/10.1016/j.rmr.2010.06.026

Kim, V., & Criner, G. J. (2013). Chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease. In *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (Vol. 187, Issue 3, pp. 228–237). https://doi.org/10.1164/rccm.201210-1843CI

Kirkham, P. A., & Barnes, P. J. (2013a). Oxidative stress in COPD. *Chest*, *144*(1), 266–273. https://doi.org/10.1378/CHEST.12-2664

Kirkham, P. A., & Barnes, P. J. (2013b). Oxidative stress in COPD. *Chest*, *144*(1), 266–273. https://doi.org/10.1378/CHEST.12-2664

Landrier, J. F. (2011). Vitamin E and adipose tissue physiology. *OCL - Oleagineux Corps Gras Lipides*, *18*(2), 83–87. https://doi.org/10.1684/ocl.2011.0370

Le Guennec, L., Pestre, V., & Mouthon, L. (2012). La bronchopneumopathie chronique obstructive: une maladie auto-immune? *Revue Des Maladies Respiratoires*, *29*(4), 557–565. https://doi.org/10.1016/j.rmr.2012.02.001

Leap, J., & Arshad, O. (2021). *Pathophysiology of COPD*. *44*(1), 2–8. https://doi.org/10.1097/CNQ.0000000000000334

Leap, J., Arshad, O., Cheema, T., & Balaan, M. (2021). Pathophysiology of COPD. *Critical Care Nursing Quarterly*, *44*(1), 2–8. https://doi.org/10.1097/CNQ.0000000000000334

Lee, J. H. (2017). Pathogenesis of COPD. *COPD: Heterogeneity and Personalized Treatment*, 35–54. https://doi.org/10.1007/978-3-662-47178-4_4

Leverve, X. (2009). Oxidative, stress and antioxidants? *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, *44*(5), 219–224. https://doi.org/10.1016/j.cnd.2009.09.001

Luo, J., Mills, K., le Cessie, S., Noordam, R., & van Heemst, D. (2020). Ageing, age-related diseases and oxidative stress: What to do next? *Ageing Research Reviews*, *57*, 100982. https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100982

MacNee, W. (2007). Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clinics in Chest Medicine*, *28*(3), 479–513. https://doi.org/10.1016/j.ccm.2007.06.008

MacNee, W. (2005). Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, *2*(4), 258–266. https://doi.org/10.1513/pats.200504-045SR

Mannino, D M, Thorn, D., Swensen, A., & Holguin, F. (2008). *Prevalence and outcomes of diabetes, hypertension and cardiovascular disease in COPD*. *32*(4), 962–969. https://doi.org/10.1183/09031936.00012408

Mannino, David M., & Buist, A. S. (2007). Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends. In *Lancet* (Vol. 370, Issue 9589, pp. 765–773). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61380-4

MARKLUND, S., & MARKLUND, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, *47*(3), 469–474. https://doi.org/10.1111/J.1432-1033.1974.TB03714.X

Martinet, Y., & Wirth, N. (2012). La nicotine , un faussaire tueur. *Revue Des Maladies Respiratoires*, *29*(4), 445–447. https://doi.org/10.1016/j.rmr.2012.02.006

Maselli, D. J., Bhatt, S. P., Anzueto, A., Bowler, R. P., Demeo, D. L., Diaz, A. A., Drans, M.

T., Fawzy, A., Foreman, M. G., Hanania, N. A., Hersh, C. P., Kim, V., Kinney, G. L., Putcha, N., Wan, E. S., Wells, J. M., Westney, G. E., Young, K. A., Silverman, E. K., … Make, B. J. (2019). *Clinical Epidemiology of COPD Insights From 10 Years of the COPDGene Study*. *August*. https://doi.org/10.1016/j.chest.2019.04.135

McGuinness, A. J. A., & Sapey, L. (2017). Oxidative stress in COPD: Sources, markers, and potential mechanisms. *Journal of Clinical Medicine*, *6*(2). https://doi.org/10.3390/jcm6020021

Mechanisms, D. (2009). *Dossier thématique*. https://doi.org/10.1016/j.lpm.2008.12.003

Merouane, A., Noui, A., Medjahed, H., Nedjari Benhadj Ali, K., & Saadi, A. (2015). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *8*(4), 1865. https://doi.org/10.4314/ijbcs.v8i4.45

Minh, T. V. P., Ba, T. T., & Viet, N. N. (2014). Study of nitric oxide concentration (FENO) in patients with COPD. *Journal of Functional Ventilation and Pulmonology*, *5*(14), 33–38. https://doi.org/10.12699/jfvp.5.14.2014.33

Mirault, T., Rossi, A., & Messas, E. (2016). Tobacco and arteritis. *Archives Des Maladies Du Coeur et Des Vaisseaux – Pratique*, *2016*(245), 18–24. https://doi.org/10.1016/j.amcp.2015.12.010

Mouhamed, D. H., Ezzaher, A., Neffati, F., Douki, W., Gaha, L., & Najjar, M. F. (2012). Étude d ' un marqueur du stress oxydant chez les fumeurs : le malondialdéhyde Study of a marker of oxidative stress in smokers : The malondialdehyde. *Immuno-Analyse et Biologie Specialisee*, *27*(4), 153–158. https://doi.org/10.1016/j.immbio.2012.04.001

Nourooz-Zadeh, J., Tajaddini-Sarmadi, J., Ling, K. L. E., & Wolff, S. P. (1996). Low-density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in plasma: Relevance to determination of total plasma lipid hydroperoxide concentrations. *Biochemical Journal*, *313*(3), 781–786. https://doi.org/10.1042/bj3130781

Onor, I. C. O., Stirling, D. L., Williams, S. R., Bediako, D., Borghol, A., Harris, M. B., Darensburg, T. B., Clay, S. D., Okpechi, S. C., & Sarpong, D. F. (2017). Clinical effects

of cigarette smoking: Epidemiologic impact and review of pharmacotherapy options. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *14*(10). https://doi.org/10.3390/ijerph14101147

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. (2002). *Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences*. *16*, 233–239.

Postma, D. S., Bush, A., & Van Den Berge, M. (2015). Risk factors and early origins of chronic obstructive pulmonary disease. In *The Lancet* (Vol. 385, Issue 9971, pp. 899–909). Lancet Publishing Group. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60446-3

Poyatos, P., Gratac, M., Samuel, K., Orriols, R., & Tura-ceide, O. (2023). *Oxidative Stress and Antioxidant Therapy in Pulmonary Hypertension*. 1–17.

Priymenko, J. P. N. (2007). *Intérêt des anti-oxydants dans l ' alimentation des carnivores domestiques*. 180–189.

Raherison, C., & Girodet, P. O. (2009). Epidemiology of COPD. *European Respiratory Review*, *18*(114), 213–221. https://doi.org/10.1183/09059180.00003609

Rivera, M. P., Petrache, I., & Roman, J. (2022). *Lung Health for All : Chronic Obstructive Lung Disease and World Lung Day 2022*. 669–671. https://doi.org/10.1164/rccm.202207-1407ED

Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. (n.d.).

Rochat, T. (2012). BPCO : une maladie associée à une inflammation systémique COPD : A disease with systemic inflammation. *Revue Des Maladies Respiratoires*, *29*(4), 537–544. https://doi.org/10.1016/j.rmr.2012.02.009

Rovina, N., Koutsoukou, A., & Koulouris, N. G. (2013). Inflammation and immune response in COPD: Where do we stand? *Mediators of Inflammation*, *2013*. https://doi.org/10.1155/2013/413735

Ruvuna, L., & Sood, A. (2020). Epidemiology of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clinics in Chest Medicine*, *41*(3), 315–327. https://doi.org/10.1016/J.CCM.2020.05.002

Safiri, S., Carson-chahhoud, K., Noori, M., Nejadghaderi, S. A., Sullman, M. J. M., Heris, J.

A., Ansarin, K., Mansournia, M. A., Collins, G. S., Kolahi, A., & Kaufman, J. S. (2022). *Burden of chronic obstructive pulmonary disease and its attributable risk factors in 204 countries and territories , 1990- 2019 : results from the Global Burden of Disease Study 2019*. https://doi.org/10.1136/bmj-2021-069679

Sarah, G. (2022). *Tolérance à l ' effort , capacité fonctionnelle et syndrome de fragilité : place des tests de terrain dans la maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC). Concepts , mécanismes et réadaptation respiratoire*. *September 2021*.

Shaker, S. B., Dirksen, A., Bach, K. S., & Mortensen, J. (2007). Imaging in chronic obstructive pulmonary disease. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, *4*(2), 143–161. https://doi.org/10.1080/15412550701341277

Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. El, Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., … Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, *11*(July), 1–21. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694

Shaykhiev, R., & Crystal, R. G. (2013). Innate immunity and chronic obstructive pulmonary disease: A mini-review. *Gerontology*, *59*(6), 481–489. https://doi.org/10.1159/000354173

Shrestha, J., Paudel, K. R., Nazari, H., Dharwal, V., Bazaz, S. R., Johansen, M. D., Dua, K., Hansbro, P. M., & Warkiani, M. E. (2023). Advanced models for respiratory disease and drug studies. *Medicinal Research Reviews*, *February 2022*, 1–34. https://doi.org/10.1002/med.21956

Sin, D. D., & Man, S. F. P. (2007). *MINIREVIEW / MINISYNTHE Systemic inflammation and mortality in chronic obstructive pulmonary disease 1*. https://doi.org/10.1139/Y06-093

Sinden, N. J., & Stockley, R. A. (2010). *Systemic inflammation and comorbidity in COPD : a result of ' overspill ' of inflammatory mediators from the lungs ? Review of the evidence*. https://doi.org/10.1136/thx.2009.130260

Siqueira, L. M., On, C., & Use, S. (2018). *Nicotine and Tobacco as Substances of Abuse in*

Children and Adolescents. *139*(1). https://doi.org/10.1542/peds.2016-3436

Smith, M. C., & Wrobel, J. P. (2014). *Epidemiology and clinical impact of major comorbidities in patients with COPD*. 871–888.

Stein, Paul D., Fowler, Sarah E., Goodman. (2006). 需要引用的霍奇金第二肿瘤new England Journal. *New England Journal of Medicine*, *355*, 11–20.

Sun, X., Feng, X., Zheng, D., Li, A., Li, C., Li, S., & Zhao, Z. (2019). Ergosterol attenuates cigarette smoke extract-induced COPD by modulating inflammation, oxidative stress and apoptosis in vitro and in vivo. *Clinical Science*, *133*(13), 1523–1536. https://doi.org/10.1042/CS20190331

Sundeep S Salvi, P. J. B. (2009). *Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers*.

Susa, R., Lazic, Z., & Cekerevac, I. (2018). Systemic inflammation, systemic effects and comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease. *Medicinski Casopis*, *52*(2), 64–67. https://doi.org/10.5937/mckg52-18735

Susa, R., Lazic, Z., Cekerevac, I., Suša, R., Lazić, Z., & Čekerevac, I. (2018). *SyStemIc InflammatIon , SyStemIc effectS and comorbIdItIeS In chronIc obStructIve pulmonary dISeaSe SIStemSka InflamacIja , SIStemSkI efektI I komorbIdItetI kod hronIčne opStruktIvne boleStI pluća*. *52*(2), 64–67. https://doi.org/10.5937/mckg52-18735

Traber, M. G., & Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology and Medicine*, *43*(1), 4–15. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.024

Trosini-Desert, V., Germaud, P., & Dautzenberg, B. (2004). Exposition à la fumée du tabac et risque infectieux bactérien. *Revue Des Maladies Respiratoires*, *21*(3), 539–547. https://doi.org/10.1016/s0761-8425(04)71358-3

Tsuji, T., Aoshiba, K., & Nagai, A. (2004). Cigarette smoke induces senescence in alveolar epithelial cells. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, *31*(6), 643–649. https://doi.org/10.1165/rcmb.2003-0290OC

Tuder, R. M., Janciauskiene, S. M., & Petrache, I. (2010). Lung disease associated with α1-antitrypsin deficiency. *Proceedings of the American Thoracic Society*, *7*(6), 381–386.

https://doi.org/10.1513/pats.201002-020AW

Viviani, S. (2011). 需要引用的霍奇金第二肿瘤new England Journal. *New England Journal of Medicine*, *365*, 687–696.

Vogelmeier, C. F. (2017). Global Strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary desease, updated 2011. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *195*(5), 1–74.

Wang, C., Zhou, J., Wang, J., Li, S., Fukunaga, A., Yodoi, J., & Tian, H. (2020). Progress in the mechanism and targeted drug therapy for COPD. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *5*(1). https://doi.org/10.1038/s41392-020-00345-x

Wang, Y. (2008). *Perspecti V e Bulky DNA Lesions Induced by Reactive Oxygen Species*. *951*, 276–281.

Yousfi, F. Z., Guerrouj, S., Thouil, A., Kouismi, H., Pneumologie, S. De, Mohammed, C. H. U., & Oujda, V. I. (2022). *Epidemiological , clinical , biological and radioligical pro- file of acute exacerbations of COPD : Apropos of 101 cases Profil épidémiologique , clinique , biologique et radioligique des*. *13*(40), 7–28. https://doi.org/10.12699/jfvpulm.13.40.2022.7

Liste des Annexes

Annexe 1 : matériel non biologique

Appareillage	**Verrerie et accessoires**	**Les réactifs et les colorants**
-Agitateur magnétique. -Balance. -Centrifugeuse. -Microscope photonique. -Réfrigérateur. -Glacière. -Microtomes. -Bain marie. -Plaque chauffante. -Appareil photo de microscope. -Etuve. -Distributeur de paraffine. -spectromètre. -homogénéisateur.	-Pilulier. -Lames et lamelles. -Eppendorf. -Embout. -Becher. -Fiole. -Eprouvette graduée. -Barreau magnétique. -L'eau distillée. -verre de montre. -Spatule. -Entonnoir. -Micropipette. - Tube d'essai + support. -Les cassettes d'inclusion. -Le moule d'inclusion. -Cole (Ekit).	-Les boites de poudre Nacl, Na2HPo4, KH2Po4, Kcl Hcl, NaOH. -Formol. -L'alcool. - xylène. - Paraffine. -colorants hématoxyline, éosine. -réactif du catalase, SOD, GSH, MDA. -SDS. -TBA. -Bradford. -PBS. - bleu de Coomassie.

Annexe 2 : préparation des réactifs

- **Préparation du PBS :**

Pour 1L on a besoin de :

-8g Nacl.

-0.2g Kcl.

-1.44g Na2 Hpo4.

-0.24 Kh2 Po4.

-On doit équilibrer le PH vers PH= 7,4.

- **Préparation du bradford**

- 5mg bleu de Coomassie.

-2.5ml Ethanol 95%.

-5ml acide phosphorique 85%.

-eau distillé 100ml.

- **Préparation de l'hématoxyline**

-0.8ml acide sulfurique concentré.

-1g Alun de fer.

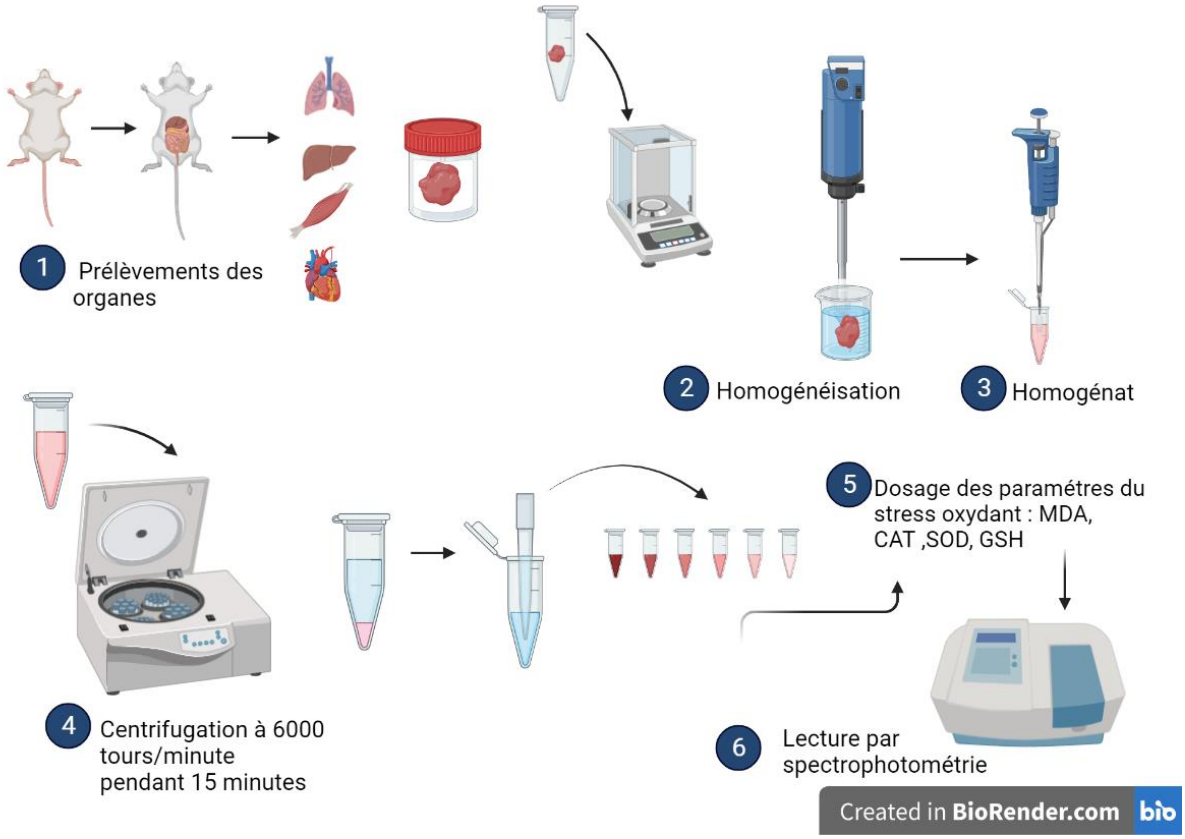
- 50ml Eau distillé.

- **Préparation d'éosine**

-1g Eosine.

-100ml Eau distillée.

Annexe 3 : les étapes de la préparation d'homogénat.



Annexe 4 : les étapes de la préparation des blocs histologiques.



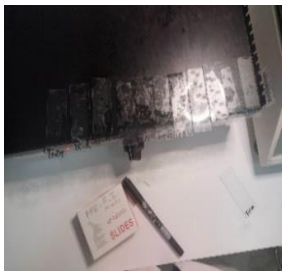


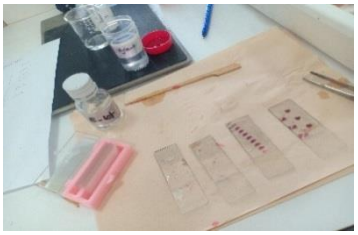
Fixation des organes Insertion dans les casettes Déshydratation



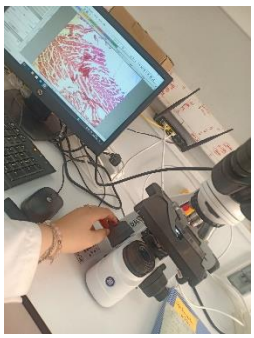



Inclusion dans la paraffine confection des blocs réalisation des coupes





Séchage des lames coloration des lames Déshydratation et montage



observation microscopique

Annexe 5 : Réalisation de la gamme d'étalonnage

Tube	1	2	3	4	5	6
Solution d'Albumine (BSA µl)	0	20	40	60	80	100
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Eau distillée (µl)	100	90	60	40	20	0

Annexe 7 : Tableau récapitulatif des différentes étapes des techniques histologiques

Etapes	Produits	Nombre de bains	Temps	Température
Fixation	Formole 10%	/	24h-48h	Ambiante
Déshydratation	**Alcool à degré Croissant 70°- 90°-100°**			Ambiante
Imprégnation	Paraffine pure	2 bains	1bain (1h 30 min) 2 bains (1h 30min)	Etuve à 60°
Confection des blocs	Paraffine pure	/	/	Ambiante

Annexe 8 : Protocole de Coloration

Déparaffinage	**Xylène**	**1 seul bain**	**10min**	Ambiante
Réhydratation	Alcool décroissant 100° 90° 70° Eau distillée	 1 bain 1bain 1bain 1bain	 4min 4min 4min 2min	Ambiante
Coloration histochimique	Hématoxyline Eau de robinet Eosine Eau distillée	1bain 1bain 1bain 1bain	2min 2min 30 seconde 30 seconde	Ambiante
Déshydratation	Alcool croissant 70° 90° 100° Xylène	 1bain 1bain 1bain 1bain	Quelque seconde /bain	Ambiante
Déshydratation et Montage : après la coloration, les coupes ont été déshydratées puis montées entre lame et lamelle à l'aide de l'Eukit .				