



N° d'ordre :

N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Evaluation du métabolisme de fer, de cuivre et de stress
oxydatif chez des femmes enceintes dans la région**

d'El-OUED

Présenté par :

ATIA Noura et DOUDI Dalal

Soutenue le : 30 Mai 2015 devant le jury composé de:

Promoteur Mr S. DEROUICHE. M.A.A Université d'El Oued

Présidente M^{elle} M. AOUIMEUR. M.A.A Université d'El Oued

Examinatrice Mme L. HADDEF. M.A.A Université d'El Oued

Année universitaire 2014/201



DEDICACES

*Je dédie ce travail à,
Mon marie ; Mohamed yacine,
Mes parents ; Souade, Messaoude,
Ma belle mère ; fatma,
Mes sœurs ; Fatma, Sabrina, Fatiha, Nacira,
Mieux que mon frère ; Benbordi youcef,
Ma belle famille,
Et tous mes amis,*

Noura

*Je dédie ce travail à,
Mes parents ; Bariza, Mohamed el-aide,
Mes frères et sœurs ; Mohamed salah, Saide, Abde salam, Belgacem, Omar,
Hamza, Imane , Ismail , Itimade, Nabila, Saida, Tibre, Hakima, Taboura,
Ma belle famille,
Et tous mes amis,*

Dalal

*Et à tous les enseignants et enseignantes qui ont contribué à notre formation et
à tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et la vie Qui nous
avons apporté une aide précieuse en ce mémoire.*

Noura et Dalal

Remerciements



*Nous souhaitons avant tout remercier **ALLAH** tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné l'inspiration et la patience d'accomplir cette étude.*

Nous aimerons exprimer nos gratitude à tous les personnes, trop nombreux pour les citer, qui ont pris le temps de faire notre sujet. Chacun de ces échanges nous avons aidé à faire avancer notre analyse.

*En premier lieu nous remercions le directeur de mémoire **Mr DEROUICHE SAMIR**, pour le temps qu'il a consacré à nous apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche, il nous a guidé dans notre travail et nous a aidé à trouver des solutions pour avancer .*

*Nous exprime nos estime et nos vif remerciements aux honorables membres de jury : **HADDEF Lala** et **AOUIMEUR Meriem** pour avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail qu'elles soient assurés de nos profond respect et de nos sincère reconnaissance.*

*Nos vifs remerciements vont également aux tous les personnages de laboratoire d'établissement spécialisée hôpital "mère enfant "d'EL-OUED, et de laboratoire d'analyse médicales de pharmacie **FERHAT**.*

*Un grand merci également à les médecins "**SAOUDE M.Y**" et "**TOUMI F**" d'avoir eu la patience de répondre à nos innombrables questions sur la nature du suivi médical pour les femmes enceintes.*

Nous sommes également reconnaissantes envers les 74 femmes qui, aux quatre coins d'El oued, ont eu la gentillesse de participer à cette étude .

Résumé

Le but de notre travail est de contribuer à l'amélioration de la qualité de la surveillance de la grossesse contre les altérations métaboliques et le stress oxydant chez les femmes enceintes dans la région d'El oued. Notre étude a été réalisée sur 74 femmes ayant une moyenne d'âges de 20 à 38 ans inclus des femmes non enceintes (témoins) et des femmes enceintes en différentes trimestre de grossesse. Les résultats de notre étude montrent une grave altération métabolique caractérisée par une normo glycémie et une variation de la concentration des protéines, de fer et de cuivre sérique chez les femmes enceintes notamment pendant le troisième trimestre de grossesse par rapport aux femmes non enceintes. Par ailleurs notre résultats montrent aussi une diminution progressive du taux d'hémoglobine et d'hématocrite à la longue de période de grossesse chez les femmes enceintes en comparaison avec les témoins. en effet l'augmentation de la peroxydation lipidique et la diminution significative de GSH, acide urique et pouvoir antioxydant totale ORAC au niveau de sérum et érythrocytes des femmes enceintes notamment pendant le troisième trimestre de grossesse montre clairement l'évolution de l'état de stress oxydatif associé à la grossesse chez les femmes enceintes d'une part et le rôle d'un supplément systématique de fer sur le développement de cet état chez les femmes enceintes d'autre part. En conclusion, la présente étude suggère que la grossesse est un état physiologique caractérisé par une perturbation métabolique et un stress oxydant contribue à l'initiation et la progression des complications associées à la grossesse. Toutefois, un supplément contrôlé en fer et un régime équilibré riche en antioxydants pourrait corriger l'anémie et le stress oxydatif et améliorer la qualité de la vie d'une femme pendant la grossesse pour assurer une bonne santé de la mère et un bien développement fœtal.

Mots clés: Grossesse, fer, cuivre, stress oxydatif.

SOMMAIRE

Introduction	
PREMIERE PARTIE : SYNTHENSE BIBLIOGRAHIQUE	
Chapitre I: Métabolisme du Fer et du Cuivre	
I. Métabolisme du fer.....	03
1.Cycle de fer.....	03
2. Besoins en fer.....	03
3. Absorption du fer.....	03
4. Transport de fer dans le plasma.....	04
4.1. Transferrine.....	04
4.2. Récepteur soluble de la transferrine.....	04
5. Répartition de fer.....	05
6. Reserve en fer.....	05
6.1. Ferritine.....	05
6.2. Hémosidérine.....	06
7. Perte de fer.....	06
8. Régulation du métabolisme cellulaire du fer.....	06
9. Rôle biologique.....	07
10.Variations pathologiques.....	07
10.1. Carence martiale.....	07
10.2. Surcharge en fer.....	08
11. Fer et grossesse.....	08

11.1. Apport de fer recommandé pendant la grossesse.....	08
11.2. Déficience de fer et anémie ferriprive.....	08
11.3. Prise d'un supplément de fer pendant la grossesse.....	09
II. Métabolisme du cuivre	09
1. Besoins en cuivre.....	09
2. Absorption de cuivre.....	09
3. Transport de cuivre.....	10
3.1. Transport dans les entérocytes.....	10
3.2. Transport dans le foie.....	10
3.3. Transport dans le placenta.....	11
3.4. Transport de cuivre dans le plasma.....	12
4. Répartition de cuivre dans l'organisme.....	12
5. Elimination.....	12
6. Rôle métabolique.....	12
7. Variations pathologiques.....	13
8. Cuivre et grossesse.....	14
8.1. Besoin en cuivre pendant la grossesse.....	14
8.2. Grossesse et la déficience en cuivre.....	14
Chapitre II: Stress oxydatif	
1.Stress oxydatif.....	15
1.1. Radicaux libres.....	15
1.2. Espèces réactives de l'oxygène.....	15

2. Production des radicaux libres.....	15
3. Rôle physiologiques des radicaux libres.....	16
4. Lésions cellulaires associées aux radicaux libres.....	17
5. Systèmes antioxydants.....	18
5.1. Antioxydants endogènes.....	18
5.1.1. Antioxydants endogènes enzymatiques.....	18
5.1.2. Glutathion réduit (GSH).....	18
5.2. Antioxydants exogènes ou nutritionnels.....	19
6. Stress oxydant au cours de la grossesse.....	19
6.1. Stress et grossesse.....	19
6.2. Stress oxydatif et développement fœtal.....	20
6.3. Stress oxydatif et placenta.....	20
6.4. Stress oxydatif et accouchement.....	21
DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE	
Chapitre I: Matériels et Méthodes	
I. Matériels.....	22
1. Patients et période d'étude.....	22
2. Population d'étude.....	22
2.1. Critère d'inclusion	22
2.2. Critère d'exclusion.....	22
3. Matériels de laboratoire.....	23
4. Réactifs.....	23

II. Méthodes.....	23
1. Mise au point d'un questionnaire.....	23
2. Méthode de prélèvements sanguins.....	23
3. Méthode de dosage des paramètres biochimiques.....	24
3.1. Méthode de dosage de la glycémie.....	24
3.2. Méthode de dosage des Protéines totales sériques.....	25
3.3. Méthode de dosage de Fer sérique.....	26
3.4. Méthode de dosage de Cuivre sérique.....	27
4. Méthode de dosage des paramètres hématologiques.....	28
5. Méthode de dosage des paramètres de stress oxydatif.....	29
5.1. Méthode de préparation de l'homogénat érythrocytaire.....	29
5.2. Méthode de dosage du Malondialdéhyde.....	29
5.3. Méthode de dosage de glutathion réduit.....	30
5.4. Détermination du pouvoir antioxydant ORAC	31
5.5. Méthode de dosage de l'acide urique.....	33
5.6. Méthode de dosage de bilirubine.....	34
III. Méthode d'analyse statistique.....	35
Chapitre II: Résultat et Discussion	
I. Résultats.....	36
1. Effet de la grossesse sur les paramètres biochimique chez les femmes.....	36
2. Effet de la grossesse sur les paramètres hématologique chez les femmes.....	39
3. Effet de la grossesse sur les paramètres de stress chez les femmes.....	41

3.1. Effet de la grossesse sur les paramètres de stress oxydatif sérique chez les femmes	41
3.2. Effet de la grossesse sur les paramètres de stress oxydatif érythrocytaires chez les femmes.....	44
4. Effet d'une supplémentation de fer chez les femmes enceintes.....	46
4.1. Caractérisation de population d'étude pour la supplémentation de fer.....	46
4.2. Effet d'une supplémentation de fer sur la concentration de fer sérique.....	47
4.3. Effet d'une supplémentation de fer sur les paramètres de stress oxydatifs sériques chez les femmes enceintes.....	48
4.4. Effet d'une supplémentation de fer sur les paramètres érythrocytaires de stress oxydatif chez les femmes enceintes.....	51
II. Discussion.....	53
Conclusion.....	59
Référence bibliographique.....	61
Annexes.....	78
Résumé et mots-clés	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
01	Répartition du fer dans l'organisme humain.	05
02	Concentration de glucose (g/l), des protéines totales (g/l), de fer (mg/l) et du cuivre (µg/ml) dans le sérum des femmes enceintes et des femmes témoins.	36
03	Concentration d'hémoglobine (g/dl) et d'Hématocrite (%) dans le sang des femmes enceintes et des femmes témoins.	39
04	Concentration des glutathions réduits (mmol/ml), des Malondialdéhyde (µmol/ml) ,et de pouvoir antioxydant « ORAC » (UI) ,d'acide urique (µg/l) et de Bilirubine totale (µg/l)dans le sérum des femmes enceintes et des femmes témoins.	41
05	Concentration de Glutathions réduit (µmol/mg), des Malondialdéhyde (nmol/mg) dans l'homogénat érythrocytaire des femmes enceintes et des femmes témoins.	44
06	Concentration de fer sérique (mg/l) chez les femmes enceinte supplémenté et non supplémenté de fer.	47
07	Concentration des glutathions réduits (mmol/ml), des Malondialdéhyde (µmol/ml) et de pouvoir antioxydant « ORAC » (UI) dans le sérum chez les femmes enceinte supplémenté et non supplémenté de fer.	48
08	Concentration de Glutathions réduit (µmol/mg HB), des Malondialdéhyde (nmol/mg HB) dans l'homogénat érythrocytaire chez les femmes enceinte supplémenté et non supplémenté de fer.	51

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
01	Cycle du fer.	03
02	Homéostasie du fer.	07
03	Métabolisme du cuivre dans les entérocytes.	10
04	Métabolisme du cuivre au niveau de l'hépatocyte.	11
05	Origine des différents espèces réactives de l'oxygène.	16
06	Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240	24
07	Spectrophotomètre d'absorption atomique de type AA 6200	27
08	Courbe d'étalonnage utilisée ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $\mu\text{g/ml}$) pour le dosage de cuivre.	28
09	Autoanalyseur pour FNS de type Mythic 18	28
10	Préparation de l'homogénat érythrocytaire.	29
11	La courbe cinétique de l'hémolyse	32
12	Concentration sérique du glucose chez les femmes enceintes pendant les trois trimestre de grossesse et les femmes témoins.	36
13	Concentration des protéines totales sériques chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	37
14	Concentration de fer sérique chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	37
15	Concentration de cuivre sérique chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	38
16	Concentration d'hémoglobine chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	39

17	Pourcentage de l'hématocrite chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	40
18	Concentration de glutathion réduit sérique GSH chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	41
19	Concentration de Malondialdéhyde « MDA » sérique chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	42
20	Mesure de pouvoir antioxydant « ORAC » chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	42
21	Concentration d'acide urique chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	43
22	Concentration de Bilirubine totale chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	43
23	Concentration de Malondialdéhyde « MDA » érythrocytaire chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	45
24	Concentration de GSH érythrocytaire chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins.	45
25	Répartition des populations d'étude supplémenté et non supplémenté de fer pendant leur grossesse durant les trois trimestre de gestation.	46
26	Concentration de fer sérique chez les femmes enceintes supplémenté de fer pendant les trois trimestres de grossesse	47
27	Concentration de Malondialdéhyde « MDA » sérique chez les femmes enceintes supplémenté de fer pendant les trois trimestres de grossesse.	49
28	Concentration de GSH sérique chez les femmes enceintes supplémenté de fer pendant les trois trimestres de grossesse.	49

29	Mesure de pouvoir antioxydant « ORAC » chez les femmes enceintes supplémenté de fer pendant les trois trimestres de grossesse.	50
30	Concentration de Malondialdéhyde « MDA » érythrocytaire chez les femmes enceintes supplémenté de fer pendant les trois trimestres de grossesse.	51
31	Concentration de GSH érythrocytaire chez les femmes enceintes supplémenté de fer pendant les trois trimestres de grossesse.	52
32	Répartition des populations d'étude des femmes enceintes et des témoins.	79
33	Répartition de l'âge des femmes enceintes pendant les trois trimestre de grossesse.	79
34	Répartition du nombre de bébé des femmes enceintes .	80
35	Pourcentage de l'état d'avortement chez les femmes enceintes pendant le premier trimestre de grossesse.	80
36	Pourcentage de l'état d'avortement chez les femmes enceintes pendant le deuxième trimestre de grossesse.	81
37	Pourcentage de l'état d'avortement chez les femmes enceintes pendant le troisième trimestre de grossesse.	81

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AND:	Acide désoxyribonucléique
AGI:	Acides gras insaturés
Apo Tf:	Apotransferrine
Atox 1:	Antioxydant protein 1
BT:	Bilirubine totale
CAT:	Catalase
CTR1:	Copper transporter 1
Cu:	Cuivre
Cu-ZnSOD:	Superoxyde dismutase à cuivre-zinc
Dcytb:	Cytochrome b réductase
DMT:	Divalent Metal transporter
DMT-1:	Divalent métal transporter-1
Fe:	Fer
Fe²⁺:	Fer ferreux
Fe³⁺:	Fer ferrique
FPN:	Ferroportine
FNS:	Formule Numération Sanguine
GR:	Glutathion réductase
GSH:	Glutathion réduit
GSSG:	Glutathion oxide
H₂O₂:	Peroxyde d'hydrogène
hCtr1:	Human copper transporter 1
HB:	Hémoglobine
HO[•]:	Radical hydroxyle
MTP1:	Ferroportine1

MDA:	Malondialdéhyde
MnSOD:	Superoxyde dismutase à manganèse
NADPH:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
Nramp2:	Natural Resistance Associated Macrophage Protein 2
O⁻²:	Anion superoxyde
ORAC:	Oxygen Radical Absorbance Capacity
ROS:	Reactive Oxygen Species
SOD:	Superoxyde dismutase
TfRs:	Récepteur soluble de la transferrine
TfR:	Récepteur de la transferrine

Introduction

La grossesse est une période de transformations physiques et physiologiques intenses (MEYER et *al.*, 2013) qui s'accompagne de certaines modifications de l'organisme maternel de la fécondation jusqu'à l'accouchement et durant lesquels l'embryon, puis le fœtus se développe dans l'utérus maternel (LEVALLOIS., 2003). Elle est caractérisée par des changements physiologiques liés au développement et la croissance du fœtus, l'adaptation de la mère à l'état gravidique, la préparation de la mère à l'accouchement, au maintien de l'homéostasie maternelle et à la préparation à l'allaitement (PERRIN., SIMON., 2002). Cet événement s'accompagne de graves risques pour la santé, même pour des femmes n'ayant pas de problèmes de santé antérieure (LEBANE et *al.*, 2009). A la lumière de la croissance et le développement humaine, Le fer et le cuivre sont des éléments indispensable à la vie d'une femme enceinte. Le fer est un micronutriment essentiel à toute forme de la vie car il intervient dans de nombreuses activités biologiques (BEGUIN., 2002); incorpore dans les protéines héminiques (OLIVIER et *al.*, 2000), et les enzymes respiratoires (SILBERNAGL., LANG., 2002), l'intégration dans l'hème de l'hémoglobine permet le transport de l'oxygène aux tissus et au niveau cellulaire (VAULONT., 2014) et l'hème des cytochromes implique dans les chaînes respiratoires (BAUDINA., 2012). Le fer est un cofacteur qui joue un rôle critique dans de nombreuses réactions enzymatiques qui intervient dans la synthèse de l'ADN (BEAUMONT., KARIM., 2013). Au cours de la grossesse, les besoins en fer sont encore plus élevés, il est nécessaires à la croissance fœtale, et pour l'élévation de la masse érythrocytaire, et le fonctionnement placentaire....(AYOUBI et *al.*, 2012). D'autre part le cuivre est un oligo-élément essentiel, est un cofacteur de plusieurs enzymes du métabolisme intermédiaire, essentiellement des oxydases (FRENOT., VIERLING., 2001), y compris le cytochrome oxydase C (respiration cellulaire) (KUMAR et *al.*, 2007) et Superoxyde dismutase (élimination des radicaux libres) (GAMBLING et *al.*, 2011), il est indispensable à la synthèse de l'hémoglobine (par mobilisation du fer ferreux) (FRENOT., VIERLING., 2001) et mobilisé au cours de la grossesse aux dépens des tissus pour maintenir un taux sanguin double du taux habituel. Il n'est pas recommandé de façon systématique par les auteurs car c'est le seul micronutriment dont le taux plasmatique est plus élevé au cours de la grossesse (AYOUBI et *al.*, 2012). Le fer et le cuivre sous forme libre, étant particulièrement promoteurs de dommages radicalaires (BUETTNER et *al.*, 1996) car ils agissent principalement par la formation des radicaux hydroxyles hautement réactifs, ce qui conduit à des lésions des membranes cellulaires, des protéines, des mitochondries et de l'ADN (BREWER., YUZBASIYAN-GURKAN., 1992) ces radicaux libres pouvant générer un stress oxydatif

(SILBERNAGL., LANG., 2002). Le stress oxydant est défini comme étant un déséquilibre de la balance entre les antioxydants et les pro-oxydants en faveur de ces derniers (BEGUIN., 2002). Les antioxydants jouent un rôle majeur dans la protection contre les dommages oxydatifs moléculaires (EVANS., 2007). En effet la grossesse est exposée à de nombreuses complications qui peuvent être liées à une altération du stress oxydatif qui est associé aussi à l'apparition de plusieurs pathologies au cours de la grossesse. Seulement. Le stress oxydatif est considérée comme un facteur de risque durant la grossesse (DIXIT., GIRLING., 2008).

L'objectif principal de notre travail est de mettre une surveillance de la grossesse contre les altérations métaboliques, physiologiques et de stress oxydant, en utilisant le fer et le cuivre comme indices métaboliques, des paramètres hématologiques pour les signes physiologiques et l'acide urique, MDA, GSH et ORAC comme marqueurs de stress oxydatif, alors on utilise des femmes enceintes dans différentes périodes de grossesse dans la région d'El oued comme population d'étude.

PREMIÈRE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Métabolisme du Fer et du Cuivre

I. Métabolisme du fer

1. Cycle de fer

Le métabolisme du fer fonctionne comme un circuit fermé. L'intestin absorbe le fer à partir des aliments et les macrophages stockent et recyclent le fer après phagocytose des globules rouges en fin de vie. Le fer dans la circulation est redistribué grâce à la transferrine aux tissus cibles, notamment la moelle osseuse pour la maturation des précurseurs érythropoïétiques. Très peu de fer est filtré par le glomérule rénal, ce fer est totalement réabsorbé le long du néphron (BEAUMONT *et al.*, 2005).

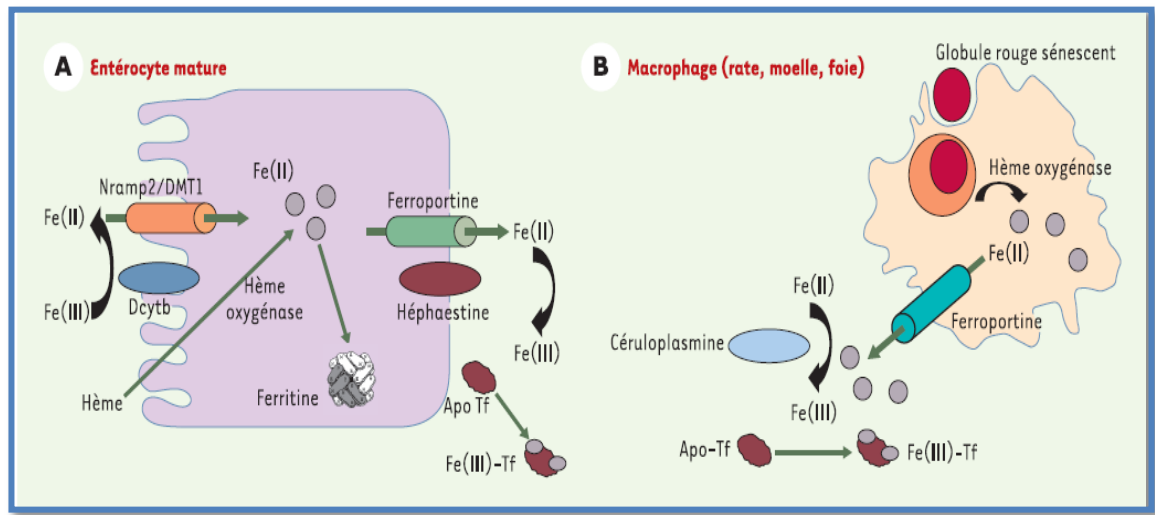


Figure 01 : Cycle de fer (BEAUMONT., 2004).

2. Besoins en fer

Les besoins quotidiens en fer de l'organisme humain sont de l'ordre de 1 à 2 mg (RYMER., 1996).

La grossesse demande pour la mère un apport supplémentaire de l'ordre de 3 mg/jour pour les deux premiers trimestres et de 10 mg/jour pour le dernier.

Le fer est apporté principalement par la viande, le poisson, les légumes secs, les fruits, les légumes (les aliments les plus riches sont les abats) (VALDIGUIE., 2000).

3. Absorption du fer

L'absorption de fer est effectuée essentiellement au niveau du duodénum et à un degré moindre dans le jéjunum (OLIVIER., 2001). Cette absorption est conditionnée entre autre par l'acidité gastrique, qui transforme le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) pour le rendre absorbable passivement par l'entérocyte (MATON., 2008). Elle intéresse le fer présent sous forme héminique et non héminique (inorganique) (OLIVIER., 2001).

Les entérocytes matures, au sommet de la villosité duodénale, absorbent le fer à partir des aliments et assurent son transfert vers le plasma. Au pôle apical, Dcytb (Cytochrome b réductase), une réductase membranaire, réduit le Fe (III) en Fe(II) (MCKIE et *al.*, 2001), celui-ci étant par la suite transporté à travers la membrane par Nramp2/DMT1(divalent métal transporter-1) (OMAR et *al.*, 2006). Un transféré à la membrane basolatérale et transporté à travers celle-ci grâce à un deuxième transporteur membranaire, la ferroportine1 (ou Ireg1 ou MTP1) (GONCALVES., BEAUMONT., 2005). Le fer est ensuite réoxydé par l'héphaestine (VULPE et *al.*, 1999), une ferroxidase membranaire cuivre-dépendante et pris en charge par la transferrine plasmatique (Apo-transferrine) (BEAUMONT et *al.*, 2003). Le fer non transféré au plasma est stocké par la ferritine, puis éliminé par désquamation des entérocytes matures. Le fer héminique absorbé au pôle apical sera libéré par l'hème oxygénase et exporté de la même façon que le fer non héminique (BEAUMONT., 2004), le fer libéré est soit stocké dans la ferritine (HERKLOTZ., HUBER., 2010), soit relargé dans la circulation sanguine par la ferroportine et où il est oxydé en Fe (III) par la céruloplasmine et transporté via la transferrine pour une utilisation future (BEAUMONT et *al.*, 2003). Le recyclage du fer par les macrophages est couplé à son oxydation par la céruloplasmine, une oxydase cuivre-dépendante plasmatique (GONCALVES., BEAUMONT., 2005).

4. Transport de fer dans le plasma

4.1. Transferrine

La transferrine est la protéine circulante du fer (WALDVOGEL et *al.*, 2013) sous forme de fer ferrique (Fe^{3+}) (OMAR et *al.*, 2006), également appelée sidérophiline (ARLETA et *al.*, 2012), est une glycoprotéine de 80 000 daltons produite par les hépatocytes. La transferrine possède 2 domaines capables de fixer le fer avec une affinité équivalente : il existe donc de la transferrine diferrique, de la transferrine monoferrique et de l'apotransferrine (BEGUIN., 2002). Le fer qui se lie à l'apotransferrine provient du tube digestif, mais aussi de la rate où ont été préalablement phagocytées les hématies sénescents, et du foie, principal organe de stockage du fer. Ainsi, la transferrine assure en permanence une redistribution du fer au sein des différents organes. D'autres protéines plasmatiques peuvent lier le fer, à un moindre degré : la ferritine plasmatique, qui à l'état normal contient peu de fer, l'haptoglobine, et l'hémopexine (OLIVIER L et *al.*, 2000).

4.2. Récepteur soluble de la transferrine

Le récepteur soluble de la transferrine (sTfR) est la forme protéolysée et circulante du récepteur membranaire de la transferrine. Il augmente lors d'une carence en fer. Le récepteur de la transferrine (TfR) est majoritairement exprimé par les précurseurs érythroïdes (Captant

environ 70 % du fer lié à la transferrine plasmatique) mais disparaît des érythrocytes matures (WEISS., GOODNOUGH., 2005).

5. Répartition de fer

Le fer est indispensable à la vie cellulaire car il intervient dans l'activité biologique de nombreuses protéines auxquelles il est associé (OLIVIER et *al.*, 2012). L'organisme contient 30-40mg.kg⁻¹ de fer, ce qui représente environ 4 g (71 mmol) chez un adulte sain (BEGUIN., 2002) répartis entre fer hémique à l'état ferreux (Fe²⁺) et non hémique à l'état ferrique (Fe³⁺) (VALDIGUIE., 2000), résulte d'un équilibre entre les entrées de fer dans l'organisme et les pertes de fer. Cet équilibre est possible grâce à une régulation du niveau d'absorption du fer (OLIVIER et *al.*, 2000).

Tableau01 : Répartition du fer dans l'organisme humain (VALDIGUIE., 2000).

- Hémoglobine	2,4 g (60 %)	FER
- Myoglobine	0,2 g (5 %)	HEMINIQUE
- Enzymes respiratoires cellulaires (cytochromes, oxydases, peroxydases, catalases, enzymes du cycle de Krebs...)	0,01 g	(Fe ⁺⁺)
- Fer plasmatique lié à la transferrine et fer des liquides extracellulaires	0,005 g	FER
- Fer des réserves (ferritine, hémossidérine)	1,4 g (35 %)	NON HEMINIQUE
		(Fe ⁺⁺⁺)
TOTAL	≅ 4 g	

6. Reserve en fer

Elles représentent à peu près 35 % du fer total sous deux formes de stockage, la ferritine et l'hémossidérine dans laquelle le fer est sous forme ferrique. Ces deux types de réserves se trouvent surtout au niveau du foie, de la rate et de la moelle osseuse.

La ferritine représente la forme de stockage rapidement disponible, alors que dans l'hémossidérine le fer est plus difficilement mobilisable (VALDIGUIE., 2000).

6.1. Ferritine

La ferritine est la macromolécule de stockage du fer intracellulaire, mais elle est mesurée dans le sérum. Sa concentration est le reflet fiable des réserves en fer, sa supériorité par rapport à la saturation de la transferrine et les indices érythrocytaires, pour évaluer les réserves en fer de l'organisme lors d'une anémie et renseigne sur le rapport de vraisemblance d'une carence en fonction du taux de ferritine. Le taux de ferritine varie significativement

selon l'âge, (MILMAN et *al.*, 1999) le sexe et les dons de sang réalisés (ZACHARSKI et *al.*, 2000).

6.2. Hémosidérine

Forme stable de réserve martiale elle ne libère son fer que très lentement. C'est un complexe fer-protéine qui dériverait d'une digestion lysosomiale des agrégats de ferritine (VALDIGUIE., 2000).

7. Perte de fer

Le fer est recyclé dans l'organisme et les besoins doivent juste compenser les pertes :

- Pertes régulières (VALDIGUIE., 2000) : Elles sont le fait de la desquamation cellulaires digestives et cutanées, des pertes urinaires, d'une excrétion biliaire, et de la sudation (GONCALVES., BEAUMONT., 2005) Ceci représente environ 1 mg.j⁻¹ pour un adulte (FILLET., 2009).

- Pertes épisodiques (VALDIGUIE., 2000) liées aux hémorragies, aux pertes menstruelles (4mg/j), à la grossesse, à l'allaitement (FILLET., 2009).

8. Régulation du métabolisme cellulaire du fer

La régulation des entrées selon les besoins occupe une place centrale dans le métabolisme du fer (CATTAN., 2004) qui doit donc être strictement contrôlé pour éviter l'apparition de situations pathologiques (MCKIE et *al.*, 2001).

➤ La régulation systémique de l'absorption intestinale est assurée par l'hepcidine d'origine hépatique qui est l'hormone centrale de régulation du fer (DINE et *al.*, 2010). L'hepcidine se fixe au seul exporteur membranaire connu du fer : la ferroportine. Ainsi, l'hepcidine diminue l'absorption intestinale de fer et bloque la sortie du fer des macrophages et des hépatocytes grâce à sa liaison et à l'internalisation de la ferroportine «FPN» (NEMETH et *al.*, 2004). Des niveaux anormaux d'hepcidine entraînent des situations de surcharge en fer ou de carences en fer (CATTAN., 2004).

➤ Régulation intracellulaire de l'absorption intestinale

L'identification de toutes ces protéines de transport, notamment DMT1, Dcytb et FPN, a été d'une grande importance pour les études de la régulation de l'absorption du fer à l'échelle cellulaire et moléculaire (ANDERSON., FRAZER., 2005). Le niveau d'expression de chacune d'elles est contrôlé par de multiples voies, dépendant de la composition en fer du régime alimentaire et des besoins de fer de l'organisme. La régulation du contenu cellulaire global en fer fait intervenir des éléments qui contrôlent l'entrée, la sortie et la répartition intracellulaire du fer permettant d'éviter des phénomènes délétères (MCKIE et *al.*, 2001).

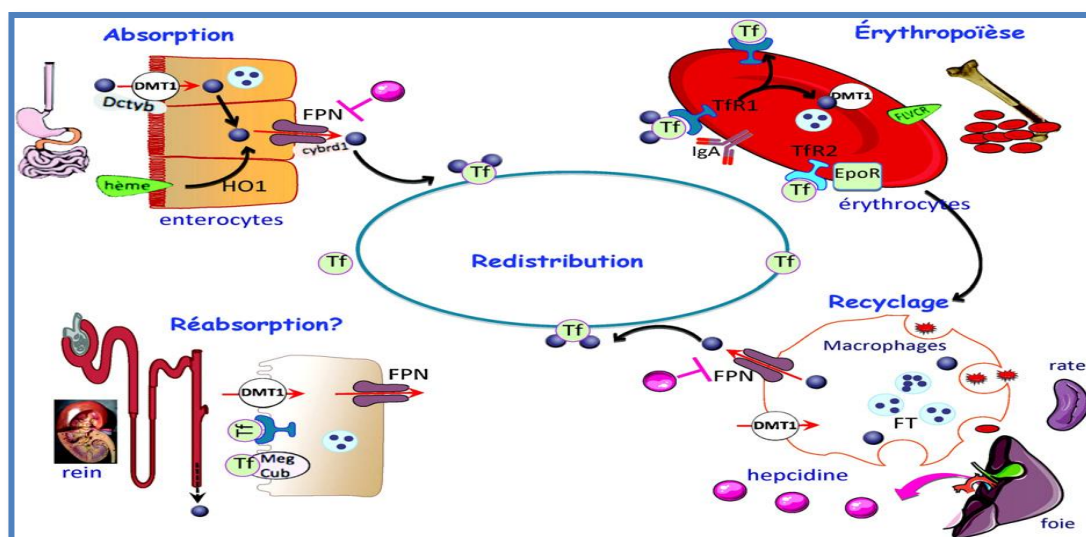


Figure 02 : Homéostasie du fer (BEAUMONT., KARIM., 2013).

9. Rôle biologique

Le fer, essentiel à de nombreux processus biologiques, est de ce fait indispensable à la vie cellulaire (LOREAL., BRISSOT., 2002). Au niveau de l'organisme, il permet le transport de l'oxygène aux tissus et au niveau cellulaire, il participe à de nombreux processus tels que la synthèse de l'ADN, le transport d'électrons et la respiration (OLIVIER., 2001). Environ 60 %- 75 % du fer de l'organisme est associé à l'hémoglobine des globules rouges circulants (BEAUMONT., KARIM., 2013) de la myoglobine et de protéines (CRICHTON., 2001) de la chaîne respiratoire (BAUDINA., 2012) et l'érythropoïèse journalière nécessite 25 à 30 mg de fer. Cet apport est principalement assuré par le recyclage du fer héminique par les macrophages tissulaires suite à la phagocytose des globules rouges sénescents et au catabolisme de l'hème (MARRO et *al.*, 2011). Les 25 % restants sont destinés à la synthèse de la myoglobine, des cytochromes, des enzymes catalases et peroxydases, molécules porteuses de ferro ou ferriporphyrines et des protéines fer-soufre des chaînes respiratoires mitochondriales (VALDIGUIE., 2000).

10. Variations pathologiques

10.1. Carence martiale

C'est la cause la plus fréquente d'anémie (Anémies microcytaires hypochromes). Les causes des carences martiales sont dominées par les saignements chroniques, digestifs ou gynécologiques, Plus rarement également, il s'agit d'une malabsorption intestinale du fer liée à une maladie du tube digestif. En revanche, la carence martiale due à un défaut d'apport alimentaire isolé n'est pas une cause reconnue, même chez des sujets dénutris ou malnutris (LAMBERT., BERIS., 2009).

10.2. Surcharge en fer

L'excès de fer est toxique, notamment par la production excessive d'espèces réactives de l'oxygène qu'il peut générer (VAULONT., 2014) liés à la production de radicaux libres par la réaction de Fenton (BRAUN et *al.*, 2001) : $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{HO}^- + \text{HO}^\bullet + \text{Fe}^{3+}$.

- **Héréditaire**

L'hémochromatose héréditaire de transmission autosomique récessive ou une forme dominante, est une maladie associée à une absorption normale du fer, conduisant à une accumulation progressive du fer dans les tissus de l'organisme, plus ou moins importante suivant le gène en cause (défaut plus ou moins sévère de réponse de l'hépcidine plasmatique face au développement de la surcharge en fer) (BRISSOT et *al.*, 2011).

- **Acquise**

Résulte, soit d'un apport exogène en fer très excessif (transfusions sanguines ou régime alimentaire anormalement enrichi en fer), soit secondairement à une pathologie associée, telle que l'hémolyse (PAPANIKOLAOU et *al.*, 2005 ; SANTINI et *al.*, 2011).

11. Fer et grossesse

Au cours de la grossesse, il y a une augmentation des besoins en fer secondaire à l'augmentation de la masse sanguine, à la croissance fœtale et au développement placentaire et parallèlement, il existe une majoration compensatrice de l'absorption intestinale du fer alimentaire (FAVIER., HININGER-FAVIER., 2004). Au cours du troisième trimestre de la grossesse, le fœtus emmagasine les réserves de fer dont il aura besoin pendant les six premiers mois de sa vie (FERNÁNDEZ-BALLART., 2000).

11.1. Apport de fer recommandé pendant la grossesse

L'Apport nutritionnel recommandé (ANR), il a été fixé à 27 mg de fer par jour pendant la grossesse. Il s'agit de la quantité moyenne de fer dont la plupart des femmes enceintes en santé ont besoin chaque jour pour combler leurs besoins de fer. Cette apport a été fixé à ce niveau pour permettre aux femmes de commencer à emmagasiner des réserves de fer dès le début de la grossesse afin d'en avoir suffisamment pendant le troisième trimestre (IOM., 2001).

11.2. Déficience de fer et anémie ferriprive

Il est possible que les femmes n'obtiennent pas suffisamment de fer pendant la grossesse pour les raisons de faible biodisponibilité du fer fourni par leur alimentation. Le manque de fer peut entraîner l'anémie ferriprive, qui se manifeste le plus souvent pendant le troisième trimestre (IOM., 2001).

L'anémie par carence martiale en début de grossesse augmente le risque de prématurité, de mortalité périnatale et d'hypotrophie fœtale (ARLETA et *al.*, 2012).

Les risques d'accouchement prématuré et de naissance d'enfants de faible poids sont respectivement 2,5 et 3 fois plus élevés chez les femmes présentant une anémie ferriprive que chez celles ayant une anémie d'une autre cause (CNGOF., 1997).

11.3. Prise d'un supplément de fer pendant la grossesse

La supplémentation systématique en fer de la femme enceinte n'est pas nécessaire. En revanche, en cas de carence martiale avérée (hémoglobine < 11 g/dL et hémocrite < 32 %), il est recommandé de prescrire 20 à 30 mg/jour de fer à partir de 20 SA. La supplémentation de routine de 100 mg de fer en l'absence d'anémie peut être potentiellement dangereuse par augmentation significative du stress oxydatif et les complications de la grossesse (FAVIER., HININGER-FAVIER., 2004).

II. Métabolisme du Cuivre

1. Besoins en cuivre

Le cuivre est apporté par l'alimentation. Un homme ingère en moyenne 2.5 mg de cuivre par jour, dont 30 à 70% est absorbé. Les recommandations d'apport journalier varient, mais il existe un consensus autour de l'apport nécessaire de 0.9 à 2.2mg chez l'adulte (FIETEN et *al.*, 2011).

Les aliments les plus riches en cuivre sont le foie, les coquillages et crustacés, les noix et le chocolat. Les produits laitiers et les végétaux contiennent des teneurs faibles en cuivre et sa biodisponibilité est médiocre (GIBSON., 1994 ; MA., BETTS., 2000).

2. Absorption de cuivre

L'absorption du cuivre se fait au niveau du tube digestif, principalement dans le duodénum. Il rentre dans les entérocytes par deux mécanismes :

- Grâce à un transporteur saturable et ayant une haute affinité pour le cuivre : le « human copper transporter 1 » (hCtr1) (MOLLER et *al.*, 2000). Ce transporteur permet l'absorption de Cu^+ lorsque la concentration en cuivre dans les entérocytes est faible (PORTNOY et *al.*, 2001) . Il est présent dans toutes les cellules de l'organisme (TAPIERO et *al.*, 2003).

- Via une diffusion passive à travers la bordure en brosse, qui est prédominante lorsque la concentration en cuivre dans les entérocytes est forte (TAPIERO et *al.*, 2003).

Un autre transporteur de métaux, le « Divalent Metal transporter 1 » (DMT1), aussi connu sous le nom de « Natural Resistance Associated Macrophage Protein 2 » (Nramp2) et de « Divalent Cation Transporter 1 » (DCT1)), pourrait également jouer un rôle dans

l'absorption du cuivre de manière non spécifique (ARREDONDO et *al.*, 2003). Mais la voie majoritaire la plus probable est certainement le transporteur CTR1 présent dans la membrane de toutes les cellules de l'organisme (KUO et *al.*, 2001).

3. Transport de cuivre

3.1. Transport dans les entérocytes

Arrivé dans le secteur intracellulaire, le cuivre se fixe à des molécules chaperonnes : Hah1 (également appelée « Antioxydant protein 1 » (Atox1)) (GARCIA et *al.*, 2009) délivre le cuivre aux transporteurs ATPase de type P (FATEMI., SARKAR., 2002), ATP7A (TROCELLO et *al.*, 2010) qui est présente dans le trans-Golgi de tous les tissus à l'exception du foie (GARCIA et *al.*, 2009), qui assure le passage du cuivre dans l'appareil de Golgi en utilisant l'énergie d'hydrolyse de l'ATP (PUIG., THIELE., 2002).

Une fois dans la circulation, le cuivre lié à l'albumine, l'histidine et à la transcupréine (PENA et *al.*, 1999) est transporté via la veine porte vers le foie, organe majeur de la régulation de l'homéostasie du cuivre (DE BIE et *al.*, 2007).

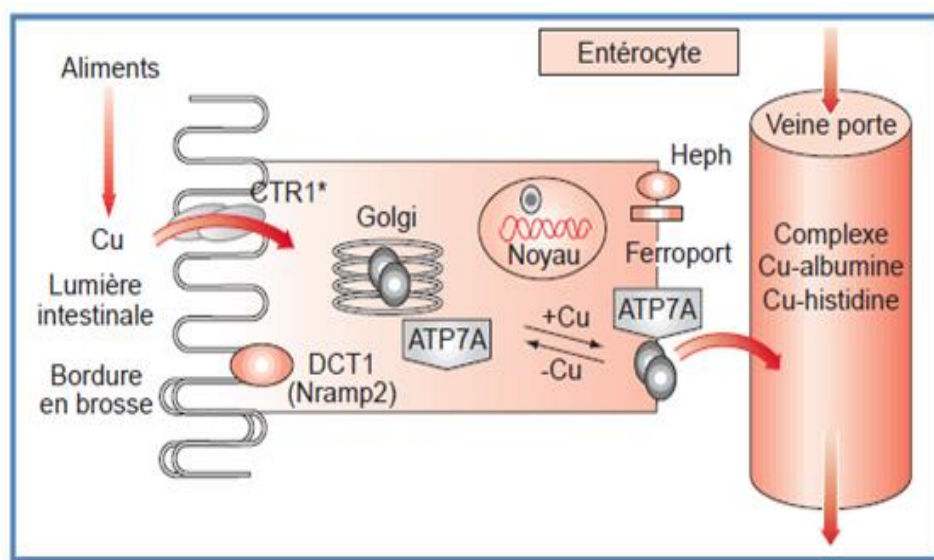


Figure 03 : Métabolisme du cuivre dans les entérocytes (GUIRAUD et *al.*, 2003).

3.2. Transport dans le foie

Il est internalisé dans les hépatocytes par le transporteur CTR1 (copper transporter 1). Dans l'hépatocyte, il est lié à la chaperonne cytosolique Atox 1 qui le transmet à la protéine ATP7B, une ATPase membranaire qui permet son transport à travers la membrane du réseau *trans*-Golgi et ainsi dans la voie sécrétoire de l'hépatocyte où il est incorporé dans la céruloplasmine (HERNANDEZ et *al.*, 2008) à raison de six atomes de cuivre au maximum par protéine puis est distribué au niveau des tissus périphériques (HUSTER., LUTSENKO.,

2007), elle contient plus de 90 % du cuivre plasmatique chez les vertébrés (GUIRAUD *et al.*, 2003). En cas d'augmentation importante du taux de cuivre dans l'hépatocyte (TROCELLOA *et al.*, 2010), ATP7B est impliqué dans l'exportation de cuivre au niveau du Golgi (VASSILIEV *et al.*, 2005) à partir des hépatocytes dans la bile (WILLIANNE *et al.*, 2012).

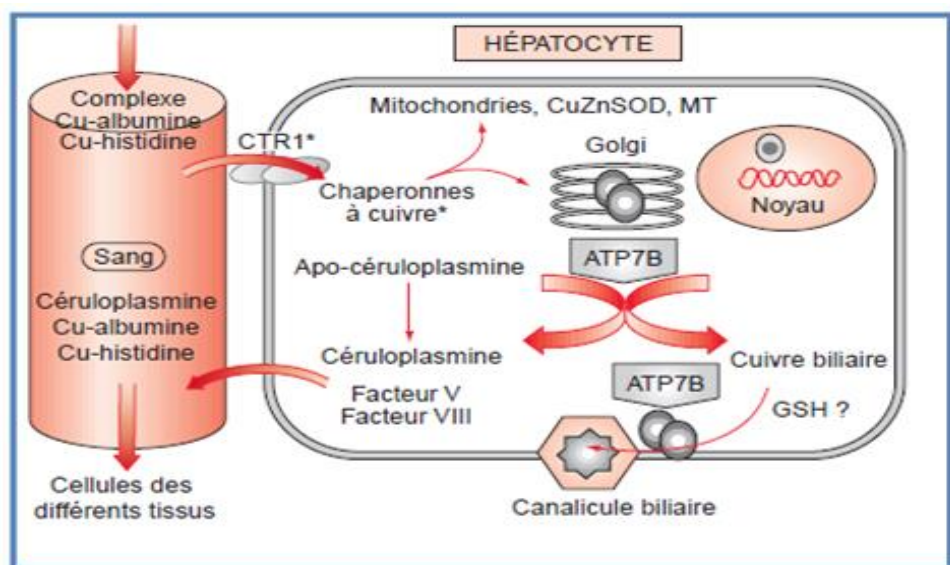


Figure 04 : Métabolisme du cuivre au niveau de l'hépatocyte (GUIRAUD *et al.*, 2003).

3.3. Transport dans le placenta

Le cuivre est transféré au fœtus via le placenta et, secondairement, via l'ingestion de liquide amniotique (TAPIERO H *et al.*, 2003). Les formes libres ou liées à des acides aminés sont probablement celles qui sont les mieux transmises (LOURO *et al.*, 2001).

L'ATP7A et l'ATP7B jouent un rôle primordial dans le transport du cuivre dans le placenta (PROHASKA., 2008). Les deux transporteurs sont présents dans les syncytiotrophoblastes du placenta et ont des rôles différents (HARDMAN *et al.*, 2004) :

- L'ATP7A, étant localisé au pôle basolatéral de la cellule, intervient dans le passage du cuivre dans la circulation sanguine fœtale.

- L'ATP7B, étant localisé au pôle apical de la cellule, intervient dans l'exportation du cuivre du placenta vers la mère pour protéger le fœtus d'une éventuelle surcharge cuprique (LUTSENKO *et al.*, 2007).

Dans le troisième tiers de gestation le taux d'insuline et d'œstrogènes augmente, ce qui induit la redirection de l'ATP7B vers le trans-Golgi (TG) alors que l'ATP7A s'accumule en plus grand nombre au pôle basolatéral de la cellule. Ainsi, le transport du cuivre de la mère au fœtus est beaucoup plus important (LA FONTAINE., MERCER., 2007). La concentration en

céruloplasmine augmente en parallèle, car les œstrogènes stimulent la synthèse de céruloplasmine. On suppose donc que l'augmentation de céruloplasmine pendant la grossesse est due au taux d'hormones élevé. Cela n'a cependant pas été prouvé (LOURO et *al.*, 2001).

3.4. Transport de cuivre dans le plasma

Dans le sang le cuivre est présent dans les globules rouges (sous forme d'érythrocupréine) et dans le plasma il est soit libre (< 5 %) ou fixé sur le sérumalbumine (2 %) (VALDIGUIE., 2000), soit surtout présent dans une α_2 -glycoprotéine, la céruloplasmine (95 %) (TROCELLOA et *al.*, 2010).

C'est une hétéroprotéine, contenant 6 à 8 atomes de cuivre selon les auteurs, pour un poids moléculaire de 135 000 d soit 0,34 % de cuivre (VALDIGUIE., 2000).

La céruloplasmine possède l'activité d'une oxydase où le cuivre serait le coenzyme. C'est une protéine de la réaction inflammatoire. Chez l'adulte les valeurs usuelles de céruloplasmine sont de 0,2 à 0,5 g/l (VALDIGUIE., 2000).

4. Répartition de cuivre dans l'organisme

L'ensemble du corps humain ne contient que 80 à 150 mg de cuivre (environ 1,3 à 2,4 mmol) dont la répartition tissulaire est très inégale. Les trois organes les plus riches en cuivre sont le foie (dont la teneur varie avec l'âge, elle est trois fois plus élevée chez le nouveau-né que chez l'adulte), le cerveau surtout dans les régions pigmentées (locus niger, coeruleus) et le rein. Dans des conditions normales, le maintien de la teneur physiologique en cuivre de l'organisme est assuré presque exclusivement par l'absorption gastro-intestinale et l'excrétion biliaire. Une quantité équivalente retourne dans le tractus gastro-intestinal par la bile (MA., BETTS., 2000).

5. Elimination

Le cuivre normalement ne s'accumule pas dans l'organisme. Les voies d'élimination sont de valeur très inégale :

- une part mineure (du fait de la faible part du cuivre diffusible) est éliminée par voie urinaire : environ 20 (xg/j) (VALDIGUIE., 2000).
- une majeure partie est éliminée par les voies biliaires et par les fèces : le cuivre fécal représente plus de 98 % du cuivre alimentaire (DE BIE et *al.*, 2007).

6. Rôle métabolique

Le cuivre est concentré dans le tissu nerveux, le foie, le cœur, le rein, il est le cofacteur de plusieurs enzymes du métabolisme intermédiaire, essentiellement des oxydases

(FRENOT., VIERLING., 2001) et impliqués dans des réactions d'oxydoréduction ou dans le métabolisme de l'oxygène.

Ce métal n'agit jamais comme ion libre, mais

- soit sous forme liée par valence à la partie protéique de métalloenzymes.
- soit sous forme de complexe non saturé pouvant se lier au substrat.

Les principales enzymes renfermant du cuivre sont la dopamine (S-hydroxylase, catalysant la synthèse de la noradrénaline (VALDIGUIE., 2000), la cytochrome C oxydase, maillon des chaînes respiratoires (KUMAR et *al.*, 2007), la céruloplasmine (impliquée dans le transport du cuivre et surtout dans une activité ferro-oxydasique maintenant le fer à l'état ferrique) (HARRIS et *al.*, 1998) et la superoxyde dismutase qui protège les cellules de l'effet toxique des radicaux libres de l'oxygène (GAMBLING et *al.*, 2011).

Le cuivre est indispensable à la synthèse du collagène, de l'élastine (macromolécule du tissu conjonctif) et de l'hémoglobine (par mobilisation du fer ferreux), il est nécessaire au fonctionnement du système nerveux central et à l'intégrité de la myéline (80 µg/g de myéline) (FRENOT., VIERLING., 2001).

7. Variations pathologiques

✓ Surcharges

L'excès comme la carence en cuivre est potentiellement délétère, pouvant être responsable de lésions cellulaires dans différents organes et en particulier dans le foie et le cerveau (BESHGETOOR., HAMBIDGE., 1998). Cependant, l'accumulation excessive d'ion cuivre dans le corps est toxique, car il agit principalement par la formation de radicaux hydroxyles hautement réactifs, ce qui conduit à des lésions des membranes cellulaires, des protéines, des mitochondries et de l'ADN (BESHGETOOR et *al.*, 1998).

✓ Carences

Une carence en cuivre, acquise lors d'une malabsorption ou d'une carence d'apport, ou liée à une maladie génétique (la maladie de Menkes) (TROCELLOA et *al.*, 2010). Les carences en cuivre peuvent survenir chez des individus dont l'alimentation contient des quantités élevées de zinc et de fer qui vont diminuer l'absorption gastro-intestinale du cuivre (PRASAD et *al.*, 1978). Les sujets présentant un syndrome de malabsorption (maladie coeliaque, mucoviscidose...) (WILLIAMS., 1983).

Les manifestations cliniques d'une carence en cuivre sont peu spécifiques ; il s'agit principalement d'anémie, neutropénie et anomalies des os avec tendance aux fractures ; ces dernières étant surtout observées dans les carences du jeune enfant (DANKS., 1988).

8. Cuivre et grossesse

Le cuivre est un élément essentiel dans tous les régimes alimentaires. Il joue un rôle important dans plusieurs processus biologique pendant la grossesse, particulièrement sur la croissance embryonnaire. Les concentrations plasmatiques de cuivre pendant la grossesse peuvent doubler ou tripler en raison de la synthèse accrue de céruloplasmine. La source de cuivre supplémentaire semble être le foie. Il semble que les œstrogènes stimulent la libération de cuivre à partir du foie (LONNERDAL., 1998).

8.1. Besoin en cuivre pendant la grossesse

La grossesse augmente les besoins du corps en cuivre, c'est pourquoi on recommande un apport journalier plus important en cas de grossesse allant de 1,38 à 2,8 mg /jour (IZQUIERDO ÁLVAREZ et *al.*, 2007).

Les interactions avec d'autres nutriments dont, le fer et le zinc, peuvent avoir des conséquences sur la disponibilité du cuivre pendant la grossesse (IZQUIERDO ÁLVAREZ et *al.*, 2007).

8.2. Grossesse et la déficience en cuivre

Une carence en cuivre peut affecter le grossesse normal. De plus. Alors que la cause de la plupart de la malformation humaine est toujours inconnue. Des carences des nombreux nutriments, dont le cuivre, peuvent en être responsables (KEEN., 1998).

Pendant la grossesse le fœtus dépend totalement de l'apport en cuivre maternel, l'importance du cuivre pour le développement prénatal est bien établie. Des scientifiques américains d'université de Michigan Medical School ont établi que le cuivre et un gène appelé Ctr 1 (code de protéine nécessaire pour aider au transport du cuivre à l'intérieur des cellules) sont essentiels pour le développement normal de l'embryon chez la souris. Des chercheurs ont suggéré qu'il était probable que les embryons humaines où ils manquent ce gène, qui est presque identique chez les souris et chez l'homme, sont avortés spontanément pendant la grossesse (LEE., 2001).

Les carences en cuivre les plus fréquentes et les plus graves sont celles survenant chez les prématurés, en particulier ceux qui ont un poids très faible à la naissance. Le nouveau-né est donc dépendant de ses réserves hépatiques. Or, le foie d'un prématuré est plus petit que celui d'un enfant mature et contient, à poids égal, moins de cuivre car celui-ci y est surtout stocké durant les derniers mois de la gestation (SUTTON et *al.*, 1985 ; WIDDOWSON et *al.*, 1974).

CHAPITRE II

Stress oxydatif

1. Stress oxydatif

1.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (molécules, atomes ou ions) dont la couche périphérique contient un électron non couplé (CAMARA et *al.*, 2006), ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (FINAUD et *al.*, 2006). Les radicaux libres sont produits dans l'organisme de manière physiologique, ils peuvent également être générés dans des circonstances pathologiques (CAMARA et *al.*, 2006).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

1. Addition d'un électron libre à un non radical ($NR + e \rightarrow R^{\bullet}$).
2. Perte d'un électron par un non radical ($NR - e \rightarrow R^{\bullet}$).
3. Scission homolytique d'une liaison covalente ($A : B \rightarrow A^{\bullet} + B^{\bullet}$) (CLARKSON., THOMPSON., 2000).

1.2. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres (CHU et *al.*, 2010) issus de l'oxygène moléculaire. Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (VALKO et *al.*, 2007). L'ERO peuvent être produites dans n'importe quel type cellulaire, et ce même en conditions normales (RUTKOWSKI et *al.*, 2007) tout comme pathologique ou par exposition environnementale (ex : tabagisme, ozone, alimentation, température corporelle...) (ALTAN., 2003).

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des ERO d'une part (SAYRE., 2005) et le niveau des systèmes de défense antioxydants de la cellule d'autre part (BONNEFONT-ROUSSELOT., 2014).

2. Production des radicaux libres

Toute réaction biochimique faisant intervenir l'oxygène moléculaire est susceptible d'être à l'origine d'une production de radicaux libres (VIGNAIS et *al.*, 2002) est susceptible de libérer des ERO. C'est ainsi que la chaîne respiratoire provoque une libération importante d'ERO, mais dont l'intensité demeure controversée (ROBERT BAROUKI., 2006). D'autres activités enzymatiques fournissent aussi des ERO, notamment les NADPH oxydases au cours de l'inflammation (DE MOFFARTS et *al.*, 2005) et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques. Ainsi, la mitochondrie (MORROW., 2000) ,la membrane

plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération d'ERO (BAROUKI., MOREL., 2001).

Les réductions mono-électroniques successives de l'oxygène donnent naissance à différentes ERO : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle ($\cdot OH$) (CARRIERE et *al*, 2006). Dans cette chimie particulière, les métaux de transition, comme le Fe^{2+} et le Cu^{2+} (Fenton), agissent comme catalyseurs dans la formation du radical hydroxyle (HALENG et *al*., 2007).

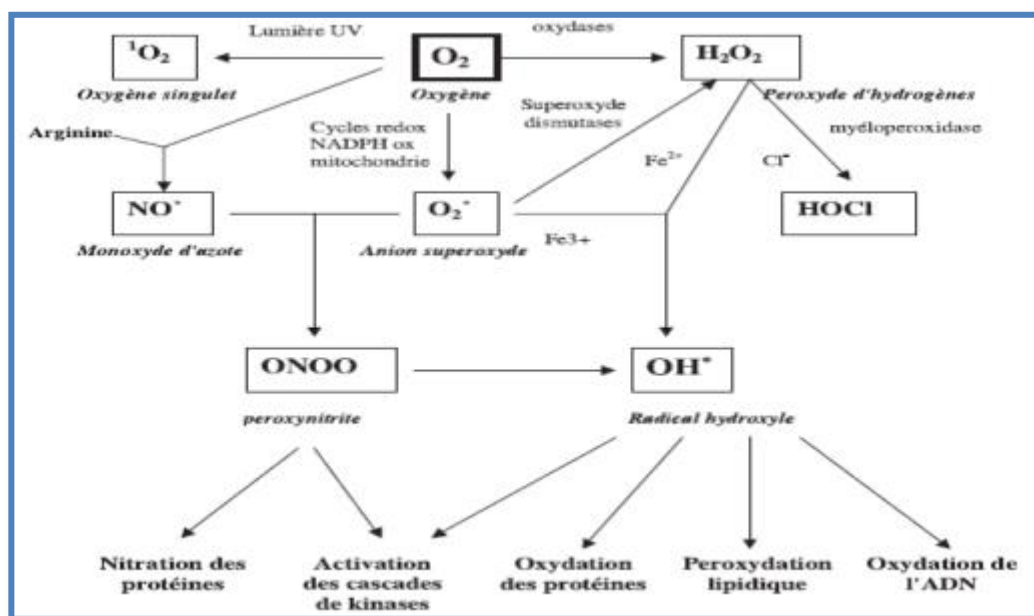


Figure 05 : Origine des différents espèces réactives de l'oxygène (FAVIER., 2003).

3. Rôle physiologiques des radicaux libres

- H_2O_2 à faible concentration il active la signalisation et pourrait être impliqué dans des réponses physiologiques comme le cycle de Krebs, la croissance, la dépolarisation membranaire, la régulation du calcium (SAYRE et *al*., 2005).

-Le rôle des ERO est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité (HALENG et *al*., 2007) impliquées dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (prolifération cellulaire normale, métabolisme normal, état redox normal pour l'expression de gènes) (DEFRAIGNE., PINCEMAIL., 2007) et jouent un rôle dans la transduction du signal intracellulaire (SERTEYN et *al*., 2002) et de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription (HUET., DURANTEAU., 2008). Citons aussi le processus de

fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule (HALENG *et al.*, 2007).

-Les oxydants jouent donc un rôle important dans l'inactivation et la destruction des micro-organismes (DE MOFFARTS *et al.*, 2005) par la peroxydation et la déstabilisation des membranes lipidiques, par l'oxydation et l'inactivation de leurs protéines de structure, et enfin par l'oxydation de leur matériel génétique (KOBAYASHI *et al.*, 2001).

4. Lésions cellulaires associées aux radicaux libres

Dans leur recherche de stabilité (CAMARA *et al.*, 2006), peuvent potentiellement réagir avec chaque composant cellulaire et provoquer son oxydation (DE MOFFARTS *et al.*, 2005) avec comme conséquence la destruction de protéines, l'apparition de cassures au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'altération de la membrane cellulaire via l'induction de phénomènes de peroxydation lipidique (PINCEMAIL *et al.*, 2005) pouvant notamment conduire à un des processus inflammatoires (HULSMANS *et al.*, 2012) l'inactivation de diverses enzymes, la modification des structures protéiques, l'oxydation des sucres (DEFRAIGNE., PINCEMAIL., 2007).

Les ERO sont des facteurs importants pour le développement et l'angiogenèse des tumeurs (GERALD *et al.*, 2005). Le production accrue d'ERO provoque des mutations ponctuelles, des différenciations cellulaires ou encore des perturbations enzymatiques (RÖSEN., 2004) qui est au niveau mitochondrial pourrait par ailleurs être à l'origine de mutations dans l'ADN mitochondrial, contribuant elles-mêmes au processus de vieillissement (BONNEFONT-ROUSSELOT., 2007).

Le stress oxydatif induit une immunodépression (ROBERT *et al.*, 2009), participe aux phénomènes dégénératifs s'il est localisé à un seul tissu, comme par exemple le cerveau, ou les articulations, ou de vieillissement lorsque l'ensemble des systèmes sont progressivement touchés (MELOV., 2000) et pourrait altérer plusieurs réactions qui affectent le développement embryonnaire (DENNERY., 2007).

L'oxydation des lipides ou peroxydation lipidique, correspond à la détérioration oxydative de doubles liaisons d'acides gras insaturés (VELASCO *et al.*, 2004), qu'ils sont particulièrement vulnérables du fait de leurs multiples doubles liaisons (SPITELLER., 2006). Ils peuvent être peroxydés de forme enzymatique ou non enzymatique (autoxydation par RL ou métaux bivalents, photo-oxydation par singulet d'oxygène). L'évaluation des produits finaux de la peroxydation lipidique se fait par l'analyse des produits secondaires comme le

malondialdéhyde (MDA) qui est utilisées comme marqueurs de la peroxydation lipidique (DEEPA et al, 2008; LAMPRECHT et al., 2009).

5. Systèmes antioxydants

Autour de cette ambiguïté entre danger et nécessité de l'oxygène et des radicaux libres, la nature a développé de puissants systèmes de défenses antioxydantes permettant de contrôler et de maîtriser le plus précisément possible ce métabolisme (LEVERVE., 2009).

5.1. Antioxydants endogènes

5.1.1. Antioxydants endogènes enzymatiques

Des enzymes comme les superoxyde dismutase (SOD) (PINCEMAIL et al., 2003), les catalases (CAT) (ROBERT et al., 2009), les glutathions peroxydases (Gpx) (BAUDIN., 2006), font partie du système de défense contre les ERO (SAYRE et al., 2005).

La SOD transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui est éliminé par la glutathion peroxydase ou la catalase (VALERY et al., 2007), par une réaction de dismutation ($O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$) (VAN RAAMSDONK., SIEGFRIED., 2012).

La catalase (CAT) présente dans les peroxysomes (MONIQUE et al., 2003) hépatiques, mais aussi dans les hématies et les mitochondries de cellules cardiaques (PUTNAM et al., 2000) est une enzyme dépendante du Fe, qui entre en compétition avec la Gpx pour l' H_2O_2 (FINAUD et al., 2006). La catalase accélère la réaction de dismutation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau (PUTNAM et al., 2000) : $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$. Tandis que la glutathion peroxydase (Gpx) est une enzyme antioxydante sélénodépendante (PINCEMAIL et al., 1999) du plasma, des fluides extracellulaires et du cytosol (MONIQUE et al., 2003) accélère la réaction d'oxydation du glutathion par l'eau oxygénée : $H_2O_2 + 2 GSH \rightarrow 2 H_2O + GSSG$ (glutathion oxydé) (GARDES-ALBERT et al., 2003). L'action des Gpx dépend aussi de la disponibilité en GSH, GR et en NADPH, ce qui démontre bien que le système antioxydant endogène agit en interdépendance (ELOSUA et al., 2003).

Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, les thioredoxine réductases ou les thioredoxine peroxydases (FAVIER., 2003).

5.1.2. Glutathion réduit (GSH)

Le GSH est formé à base d'un tripeptide (Glu-Cys-Gly ou acide glutamique-cystéineglycocolle) (DOURIS et al., 2009), Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau

intracellulaire (HALENG et *al.*, 2007) il joue un important rôle de protection des tissus et des protéines transporteuses d'ions redox actifs comme l'hémoglobine, la transferrine, la ferritine, l'albumine. Le GSH est capable de régénérer les vitamines E et C oxydées (HARGREAVES et *al.*, 2002) et peut ainsi lier certains métaux générateurs de stress oxydant en créant des liaisons thiol-métal (SUN et *al.*, 2005). Il existe sous deux forme, une forme réduit GSH, et une forme oxydée GSSG. La régénération de la fonction thiol GSH à partir de la forme oxydée se fait grâce à l'activité de la glutathion réductase (GR) (DENNERY., 2007). Les formes réduites et oxydées de glutathion (GSH et GSSG) agir de concert avec d'autres composés redox-actif (par exemple, NADPH) de régler et de maintenir le statut redox cellulaire (JONES et *al.*, 2011).

5.2. Antioxydants exogènes ou nutritionnels

Les antioxydants non enzymatiques existent sous la forme de les vitamines E (ZABLOCKA., JANUSZ., 2008) A, C, acide folique (ROCHETTE., 2008), caroténoïdes (ULLAH., KHAN., 2008), polyphénole (CORINO et *al.*, 2007) (acide caféique et quercétine) (MONIQUE et *al.*, 2003) et les oligoéléments ou les éléments-trace (sélénium, zinc ,cuivre, manganèse) constituent des cofacteurs nécessaires aux activités des enzymes antioxydantes (BONNEFONT-ROUSSELOT., 2007).

Les tocophérols, les rétinoïdes (PINCEMAIL et *al.*, 1999), l'ubiquinol (KINSKY., 1989), les flavonoïdes, la bilirubine ainsi que la mélatonine font partie des antioxydants lipophiles, spécialisés dans la protection des lipides et dans l'interruption des réactions en chaîne lors de la peroxydation lipidique. D'autre part, en plus du glutathion, avec l'acide urique, la vitamine C, les dérivés thiol, les protéoglycans et l'acide hyaluronique font quant à eux partie des antioxydants hydrophiles, capables de protéger de l'oxydation tant les lipides, les protéides, que l'ADN (DE MOFFARTS et *al.*, 2005).

6.Stress oxydant au cours de la grossesse

6.1.Stress et grossesse

Les phénomènes radicalaires jouent un rôle important dans la reproduction, la nidation de l'œuf fécondé et le développement de l'embryon. Mais un déséquilibre entre leur production, intense pendant la gestation, et leur élimination peut engendrer un stress oxydant (AUROUSSEAU et *al.*, 2004).

En revanche la supplémentation en fer durant la grossesse contribue à l'augmentation du stress oxydatif chez les femmes enceintes qui en prennent, notamment une augmentation du MDA plasmatique maternel et placentaire (DEVIRIM et *al.*, 2006).

Le stress oxydant est étroitement lié à la sévérité clinique des nausées et vomissements gravidique et suggère que l'évaluation des marqueurs du statut oxydant/antioxydant total serait efficace en tant que diagnostic supplémentaire de cette symptomatologie (VERIT et *al.*, 2007).

Le diabète gestationnel et la macrosomie fœtale sont associés à une chute de la régulation du statut antioxydant et que la macrosomie est associée à une altération du métabolisme lipidique (ROBLES et *al.*, 2001).

La prééclampsie et l'hypertension gravidique représentent une cause majeure de la mortalité et de la morbidité maternelle, elle est aussi souvent à l'origine des accouchements prématurés. Le stress oxydant est considéré comme l'un des facteurs inducteurs de cette pathologie. L'augmentation du niveau de la peroxydation lipidique notamment du MDA chez les patientes pré-éclamptiques est due au déclin de l'efficacité des défenses antioxydantes (SOD, catalase, glutathion peroxydase et glutathion réductase) (PATIL et *al.*, 2007; PERKINS., 2006).

6.2. Stress oxydatif et développement fœtal

La perturbation du statut vitaminique antioxydant maternel durant la grossesse peut affecter le développement fœtal (AHN et *al.*, 2007).

Les espèces oxygénées réactives (EOR) agissent autant que messagers primaires ou secondaires aussi bien sur la croissance que sur la mort cellulaire. Plusieurs études ont pu démontrer le rôle important et direct des EOR sur le développement car le statut redox agit sur la régulation de certains facteurs de transcription qui influencent la signalisation cellulaire pathologique due à une prolifération et une différenciation erronée évoluant vers l'apoptose.

Cependant, le stress oxydatif pourrait altérer plusieurs réactions qui affectent le développement embryonnaire (DENNERY., 2007).

Le stress oxydatif peut même exister pendant la vie intra-utérine chez le fœtus (MALTI et *al.*, 2014). La grossesse, est donc aussi associée à une importante augmentation du stress oxydatif (SEN et *al.*, 2014). De plus, le stress oxydatif pourrait altérer plusieurs réactions qui affectent le développement embryonnaire (FREEMAN., 2010).

6.3. Stress oxydatif et placenta

Le placenta, tissu riche en hormones, est une importante source d'agents prooxydants, mais aussi d'enzymes antioxydantes, il est cependant capable de maintenir la peroxydation lipidique sous contrôle qui augmente pendant une grossesse normale (MYATT., 2010 ;MUELLER et *al.*, 2005). En outre, des perturbations dans le compartiment maternel

peuvent affecter l'état de méthylation de gène placentaires et augmenter le stress oxydatif placentaire, entraînant des changements dans la fonction placentaire (JANSSON., POWELL., 2007).

6.4. Stress oxydatif et accouchement

Pendant l'accouchement, la femme est confrontée à un important stress oxydant, où les agents prooxydants proviennent du placenta (CINDROVA-DAVIES et *al.*, 2007). Cependant, la césarienne n'induit pas plus de stress oxydant qu'un accouchement par voie basse (HRACSKO et *al.*, 2007).

Le stress oxydant in utero peut être un facteur déterminant de la mortalité et la morbidité des nouveau-nés prématurés. La perturbation du statut redox maternel et placentaire prédispose à un accouchement prématuré. On note aussi que l'avortement spontané est multifactoriel, et parmi ses causes, le stress oxydant joue un rôle durant la grossesse (WEINBERGER et *al.*, 2006).

DEUXIÈME PARTIE



PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

Matériels et Méthodes

I. Matériels

1. Patientes et période d'étude

Notre travail a été réalisé au niveau du service de laboratoire de l'établissement spécialisée de la mère et de l'enfant- d'EL-OUED, de laboratoire d'analyse médicales de pharmacie FERHAT , de laboratoire de l'institut de l'agronomie de l'Université de MOHAMED KHIDHER Biskra ,et de laboratoire de faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université de HAMMA LAKHDAR EL-OUED .

Dans cette étude on utilisé 74 Femmes d'âge (de 20 à 38 ans) ont été divisé en 4 groupe comme suite :

- ✓ **Groupe 1 (16 femmes)** : femmes non enceintes « T0 »
- ✓ **Groupe 2 (14 femmes)** : femmes enceintes en premier trimestre de grossesse « T1 ».
- ✓ **Groupe 3 (19 femmes)** : femmes enceintes en deuxième trimestre de grossesse « T2 ».
- ✓ **Groupe 4 (25 femmes)** : femmes enceintes en troisième trimestre de grossesse « T3 ».

Dans notre étude L'échantillonnage à été réalisée durant la période depuis Novembre 2014 jusqu'à la fin Février 2015.

2. Population d'étude

Notre étude à été réalisée sur des femmes habitent dans la région d'El oued (Mih ouensa, El oued, Bayadha, Robbah, Hassani Abdelkrim, Reguiba, Magrane, Taghzout, Debila, Hassi khalifa,)selon des critères spécifiques d'acceptation des femmes.

2.1. Critère d'inclusion

Les patientes inclus dans la présente étude sont le femmes qui répondent aux caractéristiques suivantes :

- ✓ Confirmation du diagnostic de grossesse.
- ✓ Les femmes enceintes habitent dans la région d'oued souf.
- ✓ Facilitation du contact permettant un suivi rigoureux de l'expérimentation.
- ✓ Femmes témoins en bonne santé, ne présentant aucune pathologie.

2.2. Critère d'exclusion

Les femmes exclus dans la présente étude sont :

- Les femmes enceintes ont le diabète de gestation et l'hypertension artérielle .
- Les femmes enceintes ont une infection d'origine diverse.
- Les femmes enceintes ont une anémie sévère.
- Les femmes enceintes souffrant d'une pathologie en dehors de la grossesse.

3. Matériels de laboratoire

- Centrifugeuse horizontale de type SIGMA.
- Balance électronique
- Des microperfuseurs à ailettes (papillon sous cutané).
- Micropipette (de 1000µl et de 10 µl).
- Balance magnétique de type 690/5.
- Bain-marie de type MEMMERT.

4. Réactifs

EDTA, Tris, Ethanol, Méthanol, Acide salicylique, butylhydroxytoluène (DTNB), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), Acide phosphorique(H_3PO_4), acide trichloroacétique (TCA), glutathion réduit (GSH), sulfate de cuivre ($Cu SO_4$), acide ascorbique, Acide thiobarbiturique (TBA), Butylhydroxytoluène (BHT), acide chlorhydrique (HCl), acide nitrique (HNO_3).

Le kit de réactif de Glucose, le kit de réactif de l'Acide urique, le kit de réactif de Fer sérique, le kit de réactif de Bilirubine directe et totale, le kit de réactif de Protéine totale sérique sont, le kit de réactif de l'hémoglobine sont de marque SPINREACT.

II. Méthodes

1. Mise au point d'un questionnaire

Tous les patientes ont répondu à un questionnaire (Annexe) incluant :

-Les données sociales : âge, nombre des enfants et la région d'habitat .

-Les données cliniques : période de grossesse, l'existence d'avortement, accouchement césarien et traitement médicamenteux prescrit pendant la grossesse.

2. Méthode de prélèvements sanguins

Le prélèvement du sang a été réalisé le matin à jeûn. Au niveau de la veine du pli du coude.

Le sang est recueilli dans des tubes à anticoagulants (EDTA) et héparinés.

- Le tube hépariné est centrifugé à 3000 tours par minutes pendant dix minutes.

Par la suite, le plasma est récupéré pour le dosage des paramètres biochimiques : glucose, fer, cuivre, protéines et des paramètres de stress oxydatif : acide urique, bilirubine directe, MDA, GSH et pouvoir antioxydant « ORAC ».

- Le tube à (EDTA) a été utilisé pour le dosage des paramètres hématologiques et de stress érythrocytaire .

3. Méthode du dosage des paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques sont mesurés quantitativement par la méthode basé sur le Spectrophotométrie à transmission moléculaire sur le sérum des patients.



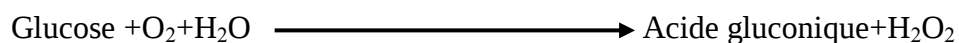
Figure 06: Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240 (photo original 2015).

3.1. Méthode de dosage de la glycémie

3.1.1. Principe

Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes (ANN., 1969):

Glucose oxydase



Peroxydase



3.1.2. Réactifs

Réactif 1	Tris pH=7.4m	92mmol/l
Tampon	Phénol	0,3 m mol/l
Réactif 2	Glucose oxydase	15 000 U/ L
Enzymes	Péroxydase	1000 U/L
	Amino-4-antipyrine 2,6 m mol/L	
Glucose CAL	Patron primaire de détection du glucose	100 mg/dl

3.1.3. Mode opératoire

Réactif de travail	Blanc	Standard	Échantillon
Réactif	1ml	1ml	1ml
Standard	--	10 µl	--
Échantillon	--	--	10 µl

1-Mélanger et incuber 10minutes à 37°C ou 20 min à 15-25 °C.

2- lire les concentration des échantillons et standard à 505nm .

3-La coloration est stable 30 minutes.

3.2. Méthode de dosage des Protéines totales sériques

3.2.1. Principe

Les ions cuivriques, dans un milieu alcalin, interagissent avec les liaisons peptidiques des protéines formant un complexe bleu violet ou l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité des protéines plasmatiques (TIETZ., 1995)

3.2.2. Réactifs

Réactif de Biuret	Tartrate au sodium-potassium	15 mmol/L
		100 mmol/L
	Iodure de sodium	5 mmol/L
	Iodure de potassium	5 mmol/L
	Sulfate de cuivre	
	Sulfate de l'en cuivre (ii)	
Etalon	Protéines totales	7 g/dl

3.2.3.Mode opératoires

Réactif de travail	Blanc	Standard	Échantillon
Réactif	1.0ml	1.0ml	1.0ml
Standard	--	25 µl	--
Échantillon	--		25 µl

1. Mélanger et incuber 5 minute à 37°C ou 10 min à la température ambiante.

2. Lire la concentration des échantillons et standard, contre le blanc à 540nm.

3. La couleur est stable pendant ou moins 30 minutes.

3.3. Méthode de dosage de Fer sérique

3.3.1. Principe

Le fer se dissocie du complexe sérique fer-transferrine en milieu acide faible .le fer libre est réduit en un ion ferreux au contact de l'acide ascorbique.les ions ferreux en présence de FerroZine forment un complexe coloré (ITANO., 1934).

Acide ascorbique



FerroZine



3.3.2. Réactifs

R1 Tampon	Acétate pH 4.9	100mmol/L
R2 Réducteur	Acide ascorbique	99.7%
R3Couler	FerroZine	40mmol/L
IRON CAL	Patron primaire de détection de fer	100 µg/dL

3.3.3. Mode opératoire

Réactif de travail	Blanc RT	Standard	Blanc Echantillon	Echantillon
RT	1.0ml	1.0ml	1.0ml	1.0ml
R3(gouttes)	1	1	--	1
Eau distillée	200 µl	--	--	--
standard	--	200 µl	--	--
Echantillon	--	--	200 µl	200 µl

1-Mélanger et incuber 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.

2-Lire la concentration du standard et l'échantillon en comparaison avec blanc du réactif à 562nm .

3-La couleur reste stable pendant moins 30 minutes.

3.4. Méthode de dosage de Cuivre sérique

3.4.1. Principe

Les nutriments Cu est dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique sur l'extrait obtenu par minéralisation des échantillons ou sur le sérum direct. Le principe consiste à aspirer les échantillons sous forme liquide dans une flamme (BUTRIMOVITZ., PURDY., 1977).



Figure 07: Spectrophotomètre d'absorption atomique de type AA 6200 (photo original 2015).

3.4. 2. Préparation des solutions étalons

➤ Solution mère de cuivre (Cu)

Dans une fiole jaugée de 200 ml contenant environ 50 ml d'eau bi-déminéralisée, on a dissout 0.57g de sulfate de cuivre, on a ajusté au volume, homogénéisé, et conservé dans un flacon brun à l'abri de la lumière, au réfrigérateur.

➤ Solution fille diélément

Dans une fiole jaugée de 100 ml contenant environ 50 ml d'eau bi-déminéralisée, on a versé 5ml de la solution mère de cuivre. On a ajusté au volume, homogénéisé. Donc, on a obtenu une solution fille à 0.1g/l. cette solution reste stable pendant 3 mois, conservée à l'abri de la lumière, au réfrigérateur.

➤ Solution étalon diélément

Dans des fioles jaugées de 10 ml contenant environ 5 ml d'eau bi-déminéralisée on a ajouté 1.5 ml d' HNO_3 . Puis un volume déterminé de la solution fille : 0.01-0.05-0.1-0.15-0.2-0.25-0.3-et 0.35 ml. On ajusté au volume et homogénéisé.

-Lire les densités optiques et la concentration de cuivre par une comparaison avec gamme d'étalon (courbe d'étalonnage) préalablement réalisée dans les mêmes conditions.

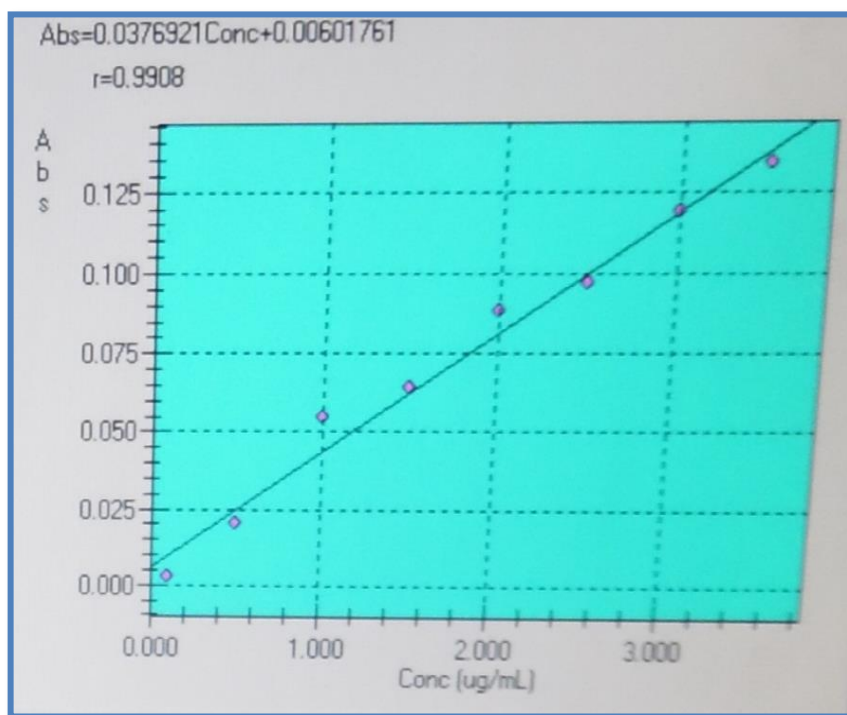


Figure 08: Courbe d'étalonnage utilisée ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ µg/ml) pour le dosage de cuivre.

4. Méthode de dosage des paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques (hémoglobine, hématocrite) sont déterminés par la méthode de Coulter en utilisant l'autoanalyseur spécifique de l'FNS.



Figure 09: Autoanalyseur pour FNS de type Mythic 18 (photo original 2015).

5. Méthode de dosage des paramètres de stress oxydatif

5.1. Méthode de préparation de l'homogénat érythrocytaire

Le tube de sang à EDTA centrifugé à 3000 tours par minutes pendant dix minutes. Puis, 1 ml de culot est lysés par addition 2 ml d'eau distillée glacée, après mélanger et incubé 10 minutes au réfrigérateur, centrifugé à 4000 tours par minutes pendant dix minutes, après cette centrifugation les débris cellulaires sont éliminés, et l'homogénat érythrocytaire est ensuite récupéré afin de doser des paramètres de stress oxydatif.

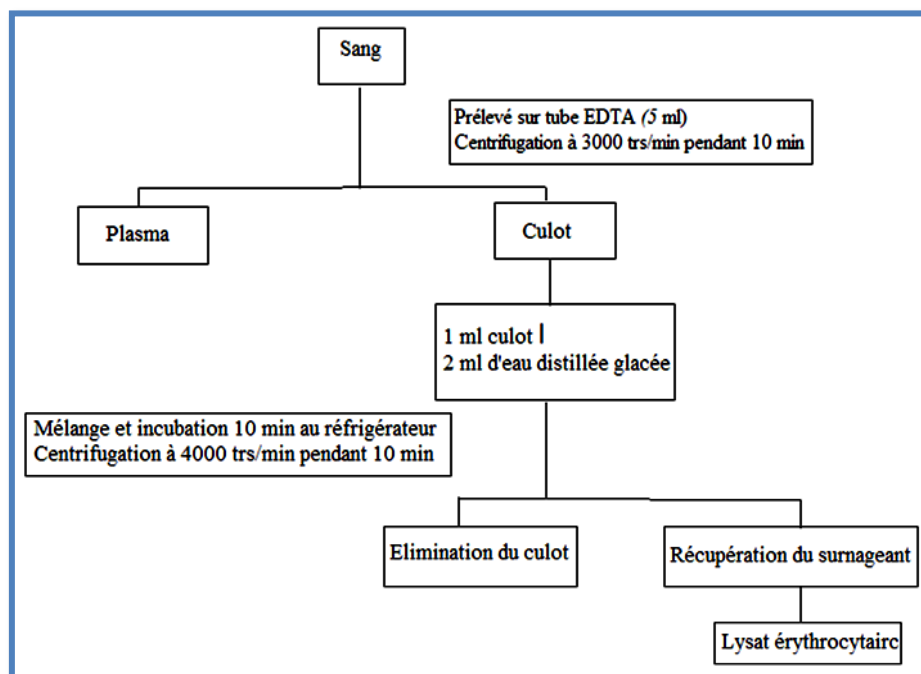


Figure 10 : Préparation de l'homogénat érythrocytaire.

5.2. Méthode de dosage du Malondialdéhyde (MDA)

5.2.1. Principe

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532 nm. (YAGI., 1976).

5.2.2. Réactif

375 mg de TBA, 20g de TCA, 0.01g de BHT, 25 ml de HCL 1 N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100ml et le volume complété à l'eau distillé jusqu'au de jauge.

5.2.3. Mode opératoire

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 100µl d'échantillon, 400 µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/min pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1.53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en µmol/l.

5.3. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH)

5.3.1. Principe

Le dosage de la concentration de glutathion réduit par la mesure de la densité optique résulte de la formation de l'acide 2-nitro-5 mercocapturique à partir de la réduction de l'acide dithio-bis2-nitrobenzoïque ce qu'on appelle réactif de d'Ellman avec les groupements SH existent dans le GSH (WEAK., CORY., 1988)

- A 800 µL d'homogénat érythrocytaire ou sérum sont ajoutés 200 µL de l'acide salicylique (0.25%). Mélanger avec l'agitateur et laisser 15 minute dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5 minutes. 500 µL de surnageant sont ensuite mélangés avec 1000 µL de tampon tris (tris 0.4 mol, NaCl 0.02 mol pH=8,9) et 25µL de DTNB (0,01 mol.L⁻¹). Après 5min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue à $\lambda = 412 \text{ nm}$.

5.3.2. Calcule

$$(\text{GSH})(\text{nM} / \text{mg de HB}) = \frac{\text{D.O} \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de Hémoglobine}}$$

13133: constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.

DO: la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

1.525ml: volume total de mélange.

0.5ml: volume de solution surnagente.

1: volume de mélange de protéine.

0.8ml: volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.

(GSH): concentration de glutathion.

5.4. Détermination du pouvoir antioxydant ORAC

5.4.1. principe

Le pouvoir antioxydant total du plasma, c'est à dire sa capacité à absorber les radicaux oxygènes libres (ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity) est estimé par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse induite par les radicaux libres in vitro en présence du plasma . Cette méthode est basée sur le suivi en fonction du temps de l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres. (BLACHE., PROST., 1992).

5.4.2. Traitement des globules rouges

- Centrifuger le sang du donneur à 2000 t/min pendant 10 min et éliminer le plasma.
- Laver délicatement 1 volume du culot avec 2 volumes d'eau physiologique (sans lyser les GR), puis centrifuger à nouveau à 2000t/min pendant 5 min.

5.4.3. Mode opératoire

➤ Tube blanc

- On ajouter 1 ml de GR : 20 μ l de CuSO_4 (2mM), 20 μ l d' H_2O_2 (30%) et 2 ml d'eau physiologique , puis remuer délicatement.
- Incuber 5 min à T° ambiante, centrifuger pendant 5 min à 2000t/min.
- Lire la DO à 450 nm du surnageant puis le remettre dans le tube et remuer délicatement.
- Répéter cette opération toutes les 10 min pendant 2 h.

➤ Tube étalon

- On ajouter à 1ml de GR : 20 μ l de CuSO_4 (2mM),20 μ l d' H_2O_2 (30%) et 2 ml d'eau physiologique , et 20 μ l de vitamine C (400 μ M) puis remuer délicatement.
- Incuber 5 min à T° ambiante, centrifuger pendant 5 min à 2000t/min.
- Lire la DO à 450 nm du surnageant puis le remettre dans le tube et remuer délicatement.
- Répéter cette opération toutes les 10 min pendant 2 h.

➤ Tube test

- On ajouter à 1ml de GR : 20 μ l de CuSO_4 (2mM),20 μ l d' H_2O_2 (30%) et 2 ml d'eau physiologique , et 20 μ l sérum (400 μ M) puis remuer délicatement.
- Incuber 5 min à T° ambiante, centrifuger pendant 5 min à 2000t/min.
- Lire la DO à 450 nm du surnageant puis le remettre dans le tube et remuer délicatement.

- Répéter cette opération toutes les 10 min pendant 1 h(t0, t10, t20, t30, t40, t50, t60, et faire la moyenne de ces dernières :

- $\Sigma DO = \Sigma(t_0, t_{10}, t_{20}, t_{30}, t_{40}, t_{50}, t_{60})/7$

- Pour calculer le pouvoir antioxydant total en utilisant deux méthodes.

5.4.4. Calcule

1- Méthode 01 :

$$\text{ORAC (UI)} = \frac{\Sigma(\text{DO blanc} - \text{DO échantillon}) \Delta t}{\Sigma(\text{DO blanc} - \text{DO étalon}) \Delta t}$$

2- Méthode 02 :

L'ORAC de chaque échantillon est calculé en mesurant la surface nette de protection sous courbe cinétique de l'hémolyse. Ainsi :

$$\text{ORAC} = S_{\text{blanc}} - S_{\text{échantillon}} / S_{\text{blanc}} - S_{\text{antioxydant}}$$

Où S : aire sous la courbe cinétique de l'hémolyse

Antioxydant : vitamine C (2 μM)

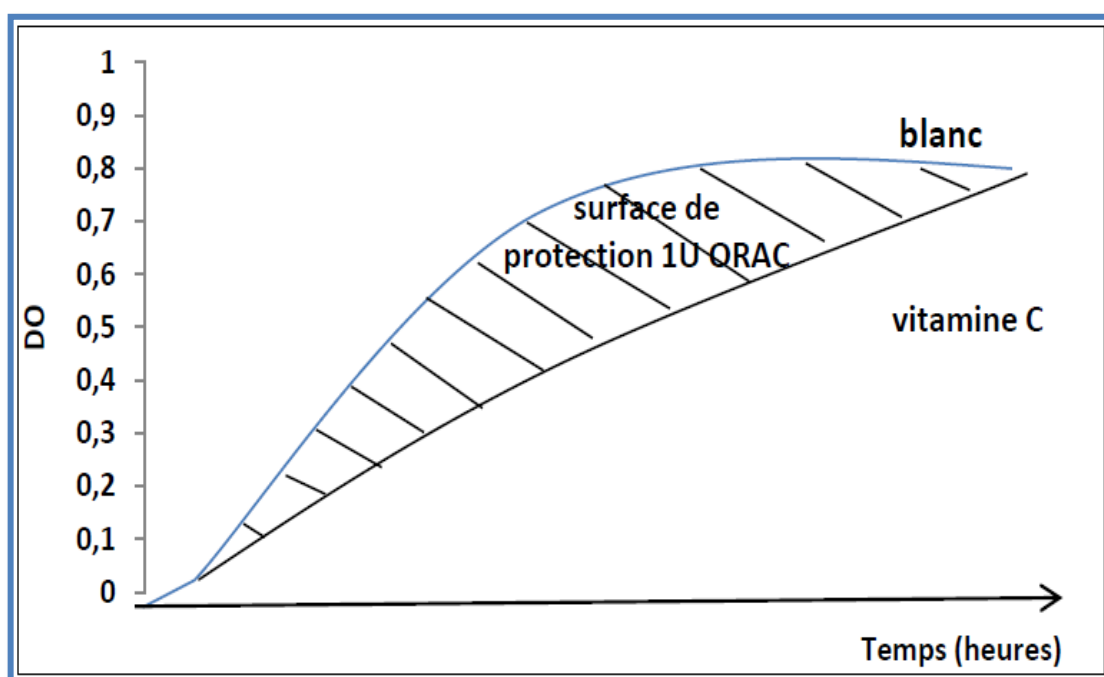
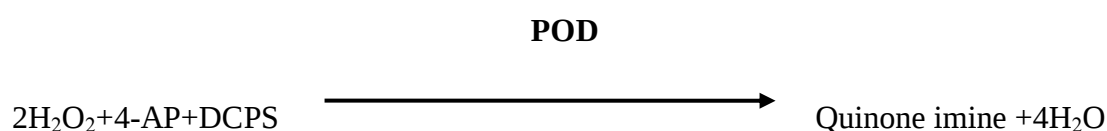
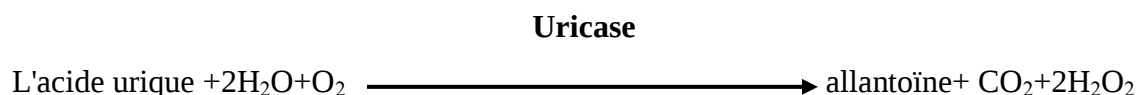


Figure 11 : La courbe cinétique de l'hémolyse.

5.5. Méthode de dosage de l'acide urique

5.5.1. Principe

L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et de peroxyde d'hydrogène ($2\text{H}_2\text{O}_2$), ce dernier en présence de peroxydase (POD) 4-aminophenazone (4-AP) et le 2-4 dichlorophéno-sulfonâtes (DCPS) forme un composé rose (FOSSATI., 1980)



5.5.2. Réactifs

R 1 tompon	Phosphate pH 7.4	50 mmol/L
	2-4 dichlorophénol-sulfonate (DCPS)	4 mmol/L
R 2 Enzymes	Uricase	60 U/L
	Peroxydase (POD)	660 U/L
	Ascorbate Oxydase	200 U/L
	4 - Aminophenazone (4-AP)	1 mmol/L
Etalon	D'acide urique	6 mg/dl

5.5.3. Mode opératoire

Réactif de travail	Blanc	Etalon	Échantillon
RT	1.0ml	1.0ml	1.0ml
Etalon	--	25 µl	--
Échantillon	--	--	25 µl

1. Mélanger et incuber 5 minute à 37°C ou 10 à 15-25°C.
2. Lire la concentration des échantillons de standards, contre le blanc à 520nm.
- 3-La couleur est stable pendant au moins 30 minutes.

5.6. Méthode de dosage de bilirubine

5.6.1. Principe

La bilirubine est converti en couleur jaune d' azobilirubine acide sulfanique et mesurée par photométrie. des deux fractions présente dans le sérum, ilirubine-glucuronide bilirubine libre et faiblement lié à l'albumine, seuls les anciens réagit directement en solution aqueuse (bilirubine directe), Tandis que la bilirubine libre nécessite solubilisation avec du diméthylsulfoxyde (DMSO) à réagir (bilirubine indirecte) .Dans le dosage de la bilirubine indirecte est également déterminée, les résultats correspondent à la bilirubine totale. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de bilirubine dans l'échantillon (KPLAN.,1984).

5.6.2. Réactifs

R 1 (D)	Acide sulfanilique	30 mmol/l
	Acide chlorhydrique (HCL)	150 mmol/l
R 2 (T)	Acide sulfanilique	30 mmol/l
	Acide chlorhydrique (HCL)	50mmol/l
	Diméthylsulfoxyde	7mmol/l
R 3	Nitrite de sodium	29 mmol/l

5.6.3. Mode opératoire

Réactif de travail	Blanc	B Total
R 1 (D)	--	--
R 2 (T)	1.5ml	1.5ml
R 3	--	50 µl
Echantillon/calibrateur	100 µl	100 µl

1-Mélanger et incuber 5 min à 15-25⁰C.

2-Lire la concentration à 555nm

III. Méthode d'analyse statistique

L'évaluation statistique est effectuée par le test T de student. Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types (ES) .

Alors, on utilise des logiciels **MINITAB** et **EXCEL** qui nous aident pour faire les tests.

Les moyennes sont considérées comme significativement différentes lorsque $P < 0,05$.

CHAPITRE II

Résultats et discussion

I. Résultats

1. Effet de la grossesse sur les paramètres biochimiques chez les femmes

Tableau 02: la concentration de glucose (g/l), des protéines totales (g/l), de fer (mg/l) et du cuivre (µg/ml) dans le sérum des femmes enceintes et des femmes témoins.

Paramètre	Groupes			
	T0	T1	T2	T3
	Moy ± ES	Moy ± ES	Moy ± ES	Moy ± ES
Glycémie (g/l)	0,86 ± 0,01	0.89±0,03 ^{Ns}	0,78± 0,03 ^{Ns}	0,83 ±0,04 ^{Ns}
Protéine (g/l)	70.95± 2,06	79.99±2,52 ^{**}	79,21± 2,32 ^{**}	70,29 ± 2,00 ^{Ns}
Fer (mg/l)	1.09± 0,13	1.22± 0,15 ^{Ns}	1,15± 0,12 ^{Ns}	0,80± 0,11 [*]
Cuivre(µg/ml)	1,88± 0,22	2,42± 0,26 [*]	3,36± 0,48 ^{**}	3,40± 0,27 ^{***}

Comparaison avec le groupe témoin (T0): ^{*} P < 0.05; ^{**} P < 0.01; ^{***} P < 0.001 ; ^{Ns} P > 0.05.

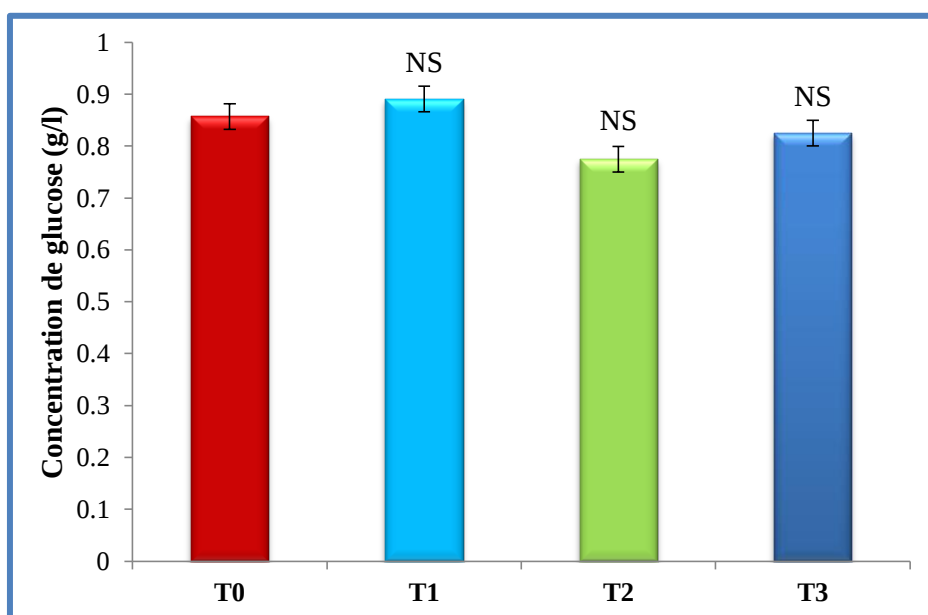


Figure 12 : Concentration sérique du glucose chez les femmes enceintes pendant les trois trimestre de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0) : ^{Ns} P > 0.05.

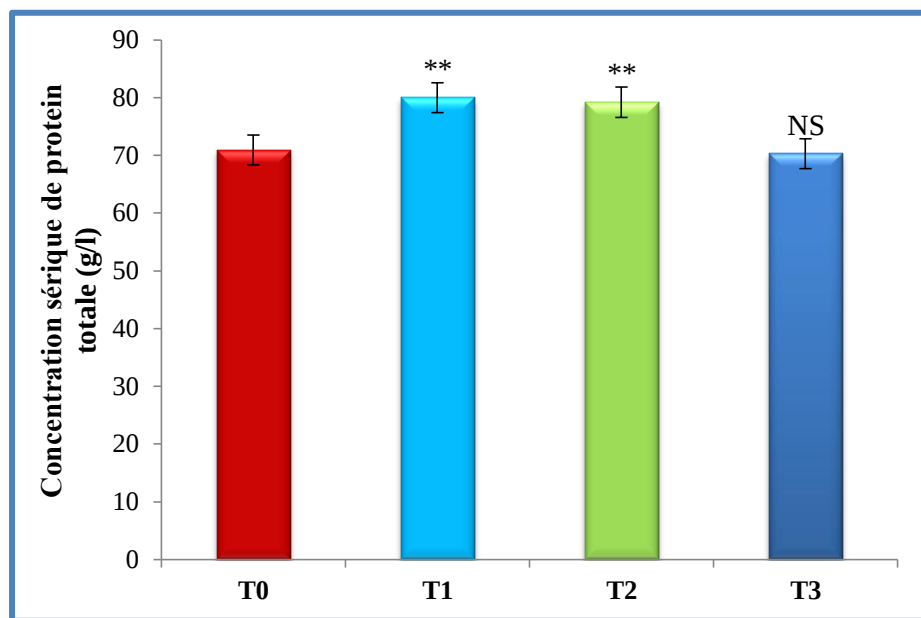


Figure 13 : Concentration des protéines totales sériques chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): ** P < 0.01; ^{NS} P > 0.05.

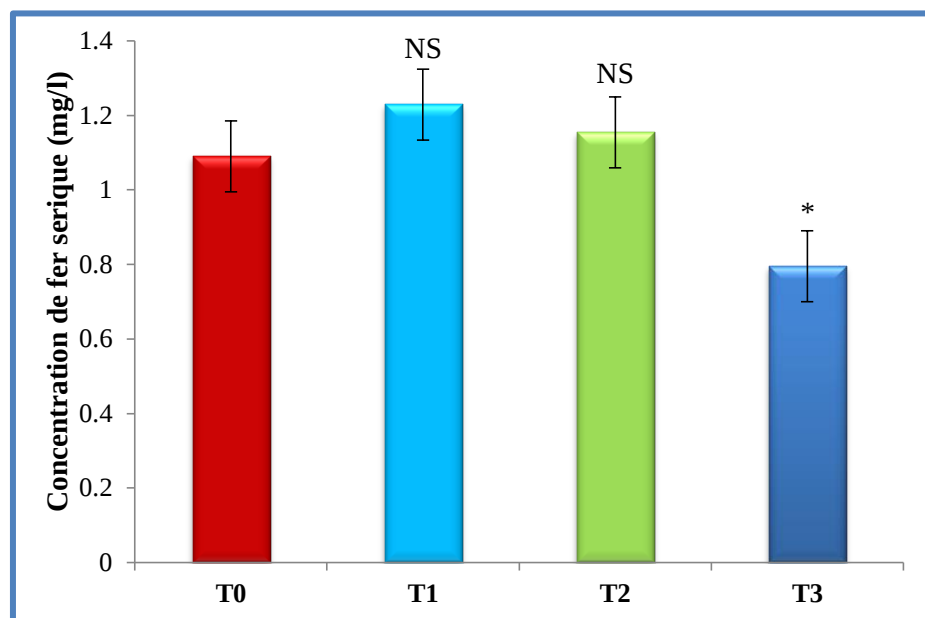


Figure 14 : Concentration de fer sérique chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): * P < 0.05 ; ^{NS} P > 0.05.

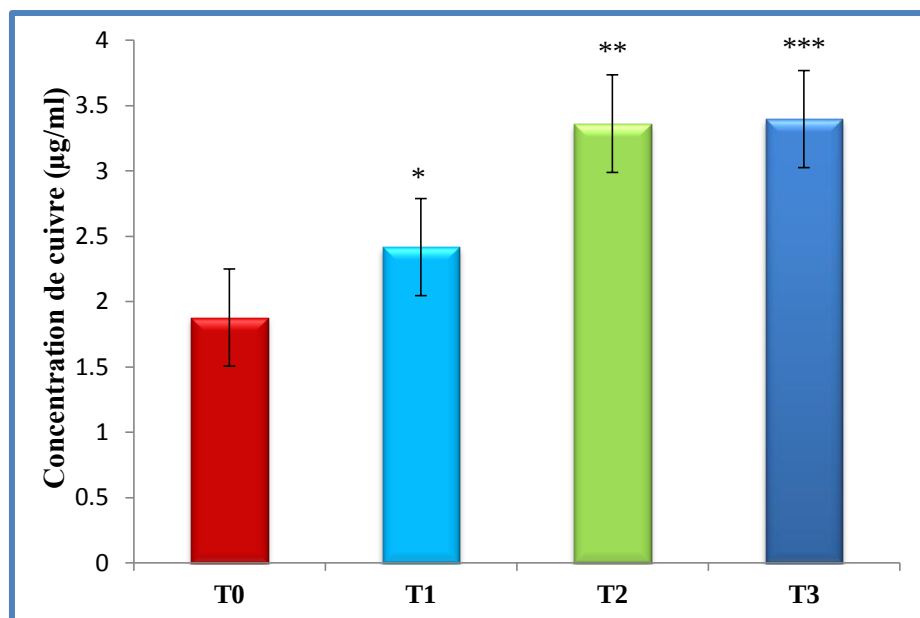


Figure 15 : Concentration de cuivre sérique chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): **P < 0.01; ***P < 0.001 ; *P < 0.05; ^{NS}P > 0.05.

➤ Les résultats obtenus présentés dans le tableau (02) et la figure (12) montrent qu'il n'y a aucune variation significative ($P > 0.05$) de la glycémie chez les femmes pendant les 03 trimestres de grossesse (T1, T2, T3) par rapport aux femmes témoins.

➤ Notre résultats (Tableau 02 et figure 13) montrent aussi que la concentration de la protéine sérique est augmentée de façon hautement significative ($P < 0.01$) chez les femmes pendant les deux premier trimestres de grossesse (T1, T2) et ne présente aucune variation significatif dans le dernier trimestre (T3) par rapport aux femmes témoins.

➤ Par ailleurs nos résultats (Tableau 02 et figure14) illustrent que le fer sérique n'a aucune variation significative pendant les deux première trimestre (T1,T2) mais une chute de fer sérique ($p < 0.05$) pendant le troisième trimestres (T3) de grossesse chez les femmes par rapport aux femmes témoins.

➤ D'autre part les résultats de cuprémie présentés dans le tableau (02) et la figure (15) montrent qu'il y a augmentation significative ($P < 0.01$) chez les femmes pendant le premier trimestres de grossesse (T1) par contre on a signalé une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) et très hautement significative ($P < 0.001$) chez les femmes en deuxième (T2) et en troisième trimestres (T3) de grossesse respectivement par rapport aux femmes témoins.

2. Effet de la grossesse sur les paramètres hématologique chez les femmes

Tableau 03: Concentration d'hémoglobine (g/dl) et d'Hématocrite (%) dans le sang des femmes enceintes et des femmes témoins.

Paramètre	Groupes			
	T0	T1	T2	T3
	Moy±ES	Moy±ES	Moy±ES	Moy±ES
Hémoglobine(g/dl)	12.86±0,19	12.11± 0,23 [*]	11,44± 0,38 ^{**}	9,86±0,25 ^{***}
Hématocrite (%)	36,26± 0,71	35,88±0,80 ^{Ns}	34,47±1,33 ^{Ns}	28,31±0,62 ^{***}

Comparaison avec le groupe témoin (T0): ^{*} P < 0.05; ^{**} P < 0.01; ^{***} P < 0.001 ; ^{Ns} P > 0.05.

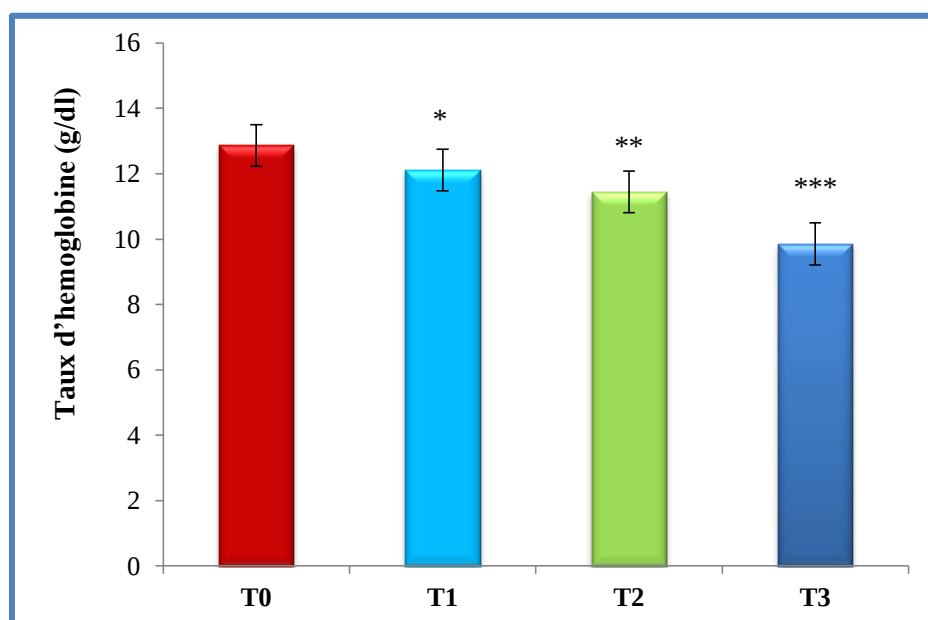


Figure 16 : Taux d'hémoglobine chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): ^{*} P < 0.05 ; ^{**} P < 0.01; ^{***} P < 0.001.

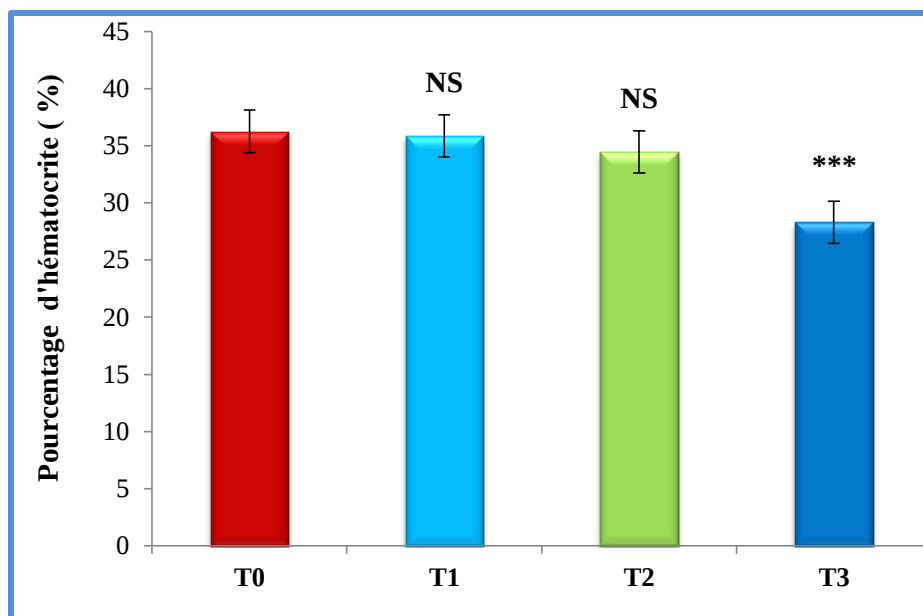


Figure 17 : Pourcentage de l'hématocrite chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): *** $P < 0.001$; ^{NS} $P > 0.05$.

➤ Le Tableau (03) et la figure (16) indiquent que le taux d'hémoglobine est diminuée de façon significative ($P < 0.05$) hautement significative ($P < 0.01$) très hautement significative ($P < 0.001$) chez les femmes pendant les trimestres de grossesse (T1,T2, T3) successivement par rapport aux témoins.

➤ Selon nos résultats illustrés dans le Tableau (03) et la figure (17), on note que le pourcentage d'hématocrite est diminuée chez les femmes pendant les trois trimestres de grossesse (T1,T2, T3) de façon non significative ($P > 0.05$) dans les 2 premiers et de façon très hautement significative dans le dernière trimestre ($P < 0.001$) par rapport aux témoins.

3. Effet de la grossesse sur les paramètres de stress chez les femmes

3.1. Effet de la grossesse sur les paramètres de stress oxydatif sérique chez les femmes

Tableau 04 : La concentration du glutathion réduit (mmol/ml), des Malondialdéhyde ($\mu\text{mol/ml}$), et de pouvoir antioxydant « ORAC » (UI), d'acide urique ($\mu\text{g/l}$) et de Bilirubine totale ($\mu\text{g/l}$) dans le sérum des femmes enceintes et des femmes témoins.

Paramètre	Groupes			
	T0	T1	T2	T3
	Moy $\pm$ ES	Moy $\pm$ ES	Moy $\pm$ ES	Moy $\pm$ ES
GSH(mmol/ml)	0.26 $\pm$ 0,03	0.19 $\pm$ 0,018 ^{**}	0,22 $\pm$ 0,02 ^{**}	0,29 $\pm$ 0,02 ^{Ns}
MDA($\mu\text{mol/ml}$)	1.82 $\pm$ 0,21	1.69 $\pm$ 0,15 ^{Ns}	1,57 $\pm$ 0,10 ^{Ns}	1,93 $\pm$ 0,11 [*]
ORAC(UI)	1.26 $\pm$ 0,18	1.11 $\pm$ 0,15 ^{Ns}	1,33 $\pm$ 0,10 ^{Ns}	1,13 $\pm$ 0,08 [*]
A,urique($\mu\text{g/l}$)	36.62 $\pm$ 3,84	36.10 $\pm$ 3,60 ^{Ns}	36,98 $\pm$ 2,92 ^{Ns}	28,09 $\pm$ 2,21 ^{***}
BT($\mu\text{g/l}$)	7.33 $\pm$ 0,29	6.45 $\pm$ 0,3 ^{Ns}	5,40 $\pm$ 0,51 ^{**}	10,31 $\pm$ 2,04 ^{Ns}

Comparaison avec le groupe témoin (T0): * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001 ; ^{Ns}P > 0.05.

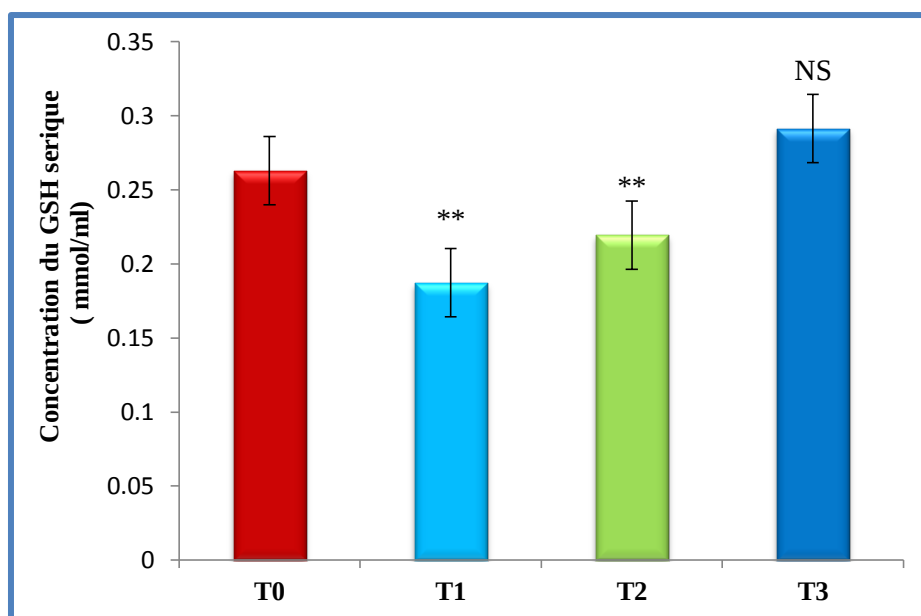


Figure 18 : Concentration du glutathion réduit sérique GSH chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): ** P < 0.01; ^{Ns}P > 0.05.

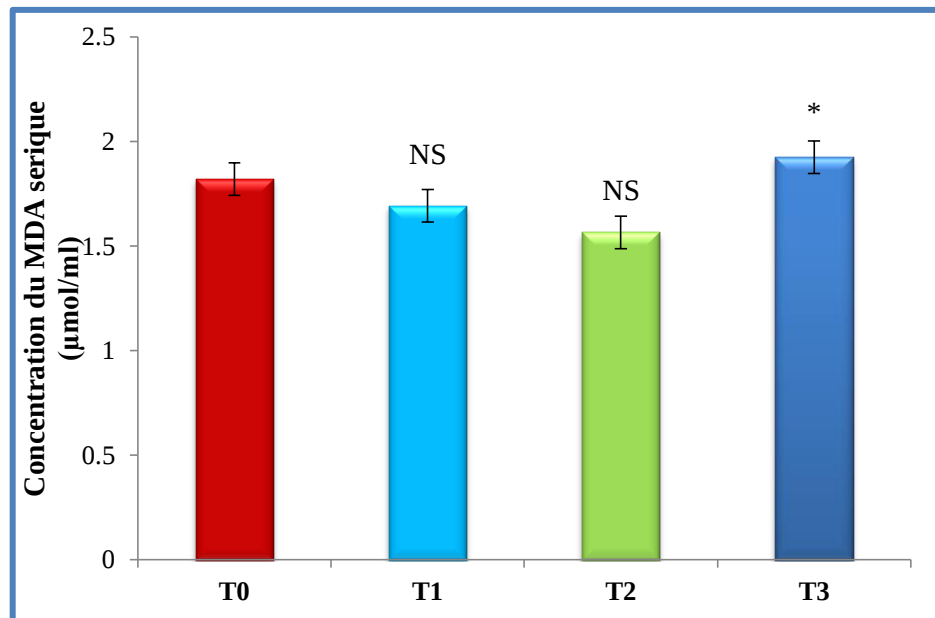


Figure 19 : Concentration de Malondialdéhyde « MDA » sérique chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): *P < 0.05; ^{NS}P > 0.05.

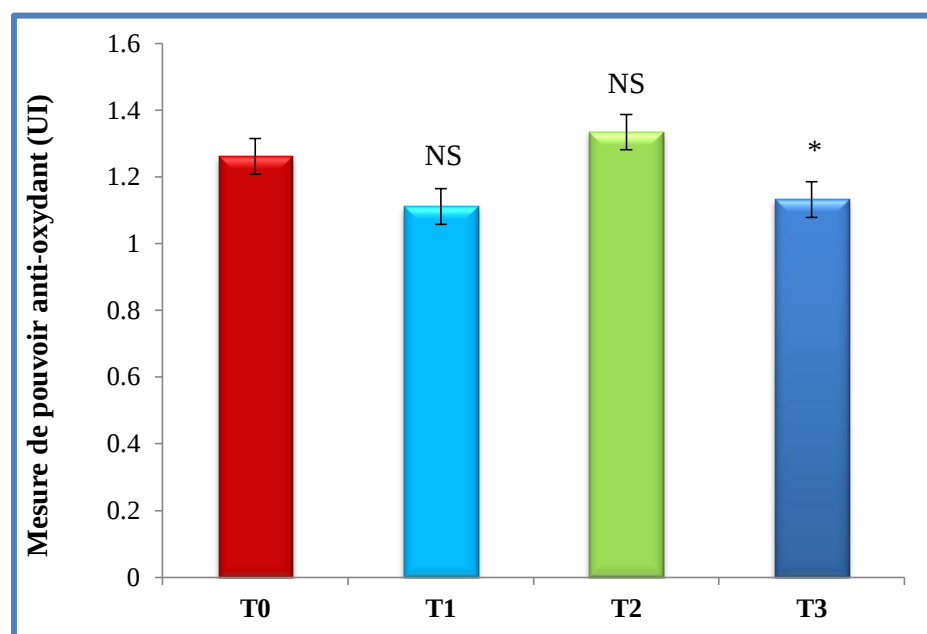


Figure 20 : Mesure de pouvoirs antioxydant « ORAC » chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): *P < 0.05; ^{NS}P > 0.05.

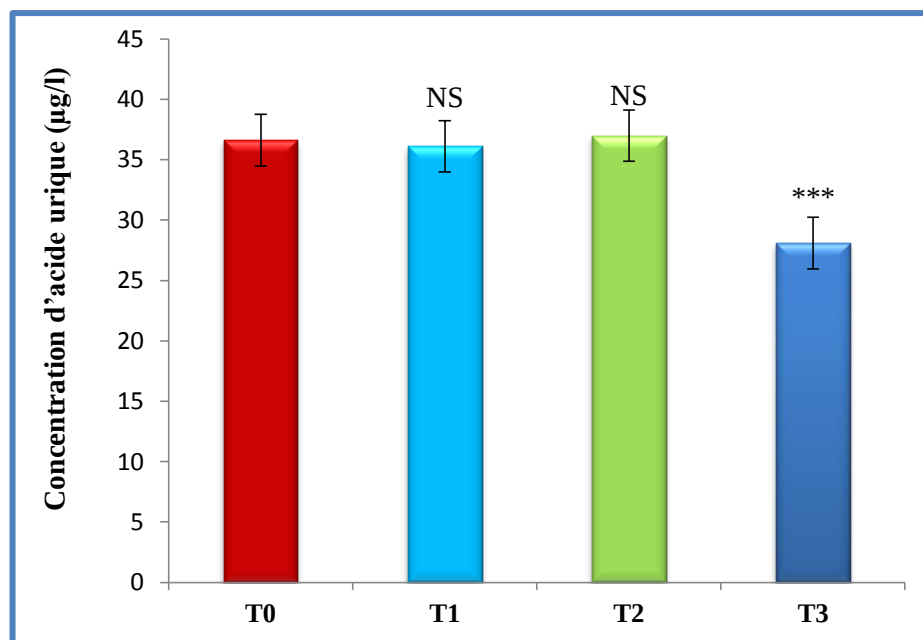


Figure 21 : Concentration d'acide urique chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): *** $P < 0.001$; ^{NS} $P > 0.05$.

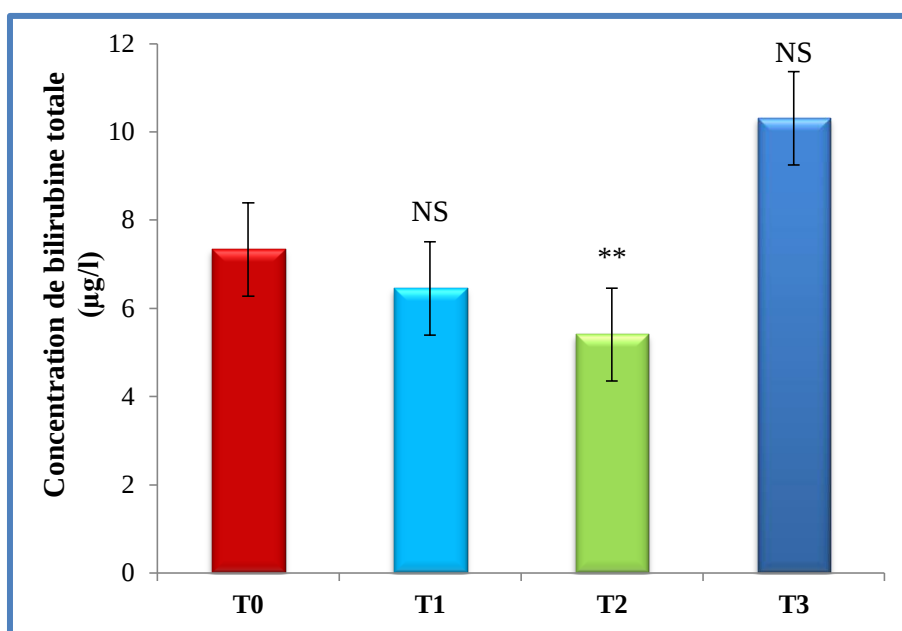


Figure 22 : Concentration de Bilirubine totale chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): ** $P < 0.01$; ^{NS} $P > 0.05$.

➤ Les résultats obtenus présentés dans le tableau (04) et la figure (18) montrent qu'il y a une diminution hautement significative ($P < 0.01$) de concentration de glutathion

réduit sérique chez les femmes pendant les deux premiers trimestres (T1,T2), tendit que pas une variation significative ($P > 0.05$) pendant le troisième trimestre de grossesse par rapport aux femmes témoins.

➤ Les résultats de la peroxydation lipidique illustrés dans le Tableau(04) et la figure(19) montrent qu'il n'y a pas une variation significative ($P > 0.05$) de la concentration de Malondialdéhyde sérique chez les femmes pendant les deux premiers trimestres de grossesse (T1,T2), par contre il y a une augmentation significative ($P < 0.05$) pendant le dernier trimestre de grossesse par rapport aux femmes témoins.

➤ Notre résultats concernant le pouvoir antioxydant totale du sérum des femmes enceintes présentés dans le Tableau (04) et la figure(20) montre qu'il ne fait une variation significative ($P > 0.05$) au cours de premier et deuxième trimestre de grossesse par contre ce pouvoir est significativement diminué ($P < 0.05$) pendant le troisième trimestre de grossesse chez les femmes.

➤ Nos résultats de l'uricémie présentés dans le tableau (04) et la figure (21) montrent qu'il n'y a aucune variation significative ($P > 0.05$) de la concentration d'acide urique pendant les 02 premiers trimestres de grossesse (T1 ,T2,) mais à partir du troisième trimestre on a signalé une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) par rapport aux témoins.

➤ En fin concernant le taux de la bilirubine totale On a obtenus d'après nos résultats (Tableau 04 et figure 22) une diminution de façon hautement significative ($P < 0.01$) pendant le deuxième trimestres de grossesse (T2) chez les femmes par contre on n'observe aucune variation significatif de la bilirubine chez les femmes enceintes au cours du premier et le troisième trimestre de grossesse (T1,T3) par rapport aux femmes témoins.

3.2. Effet de la grossesse sur les paramètres de stress oxydatif érythrocytaires chez les femmes

Tableau 05: La concentration de Glutathion réduit ($\mu\text{mol/mg HB}$), des Malondialdéhyde (nmol/mg HB) dans l'homogénat érythrocytaire des femmes enceintes et des femmes témoins.

Paramètre	Groupes			
	T0	T1	T2	T3
	Moy $\pm$ ES	Moy $\pm$ ES	Moy $\pm$ ES	Moy $\pm$ ES
MDA(nmol/mg HB)	12.55 $\pm$ 1,46	13.89 $\pm$ 1,29 ^{NS}	16,88 $\pm$ 2,14 [*]	26,37 $\pm$ 2,66 ^{***}
GSH($\mu\text{mol/mg HB}$)	2.11 $\pm$ 0,19	1.42 $\pm$ 0,11 ^{***}	1,51 $\pm$ 0,14 ^{***}	1,81 $\pm$ 0,09 ^{**}

Comparaison avec le groupe témoin (T0): ^{*} $P < 0.05$; ^{**} $P < 0.01$; ^{***} $P < 0.001$; ^{NS} $P > 0.05$.

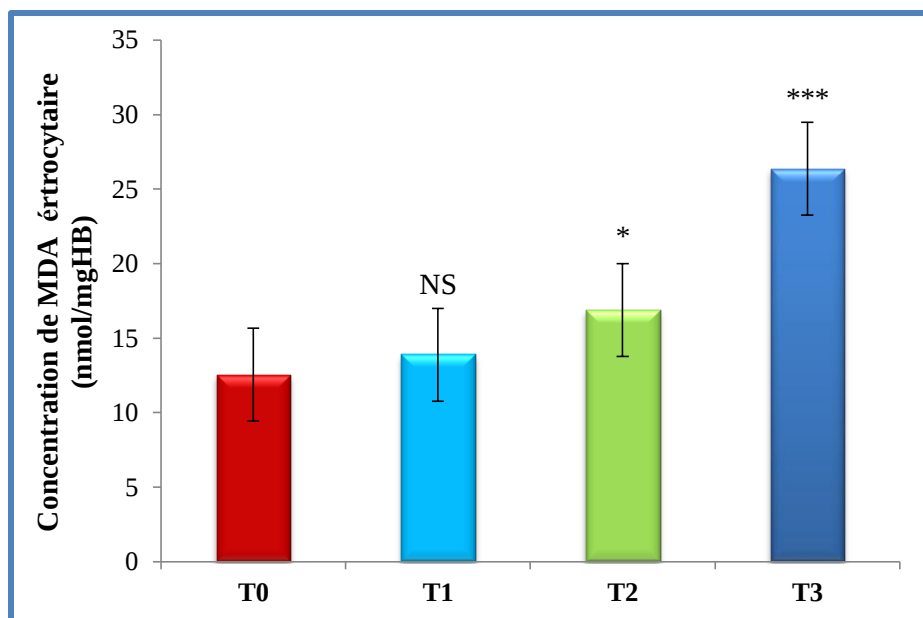


Figure 23 : Concentration de Malondialdéhyde « MDA » érythrocytaire chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$; ^{NS} $P > 0.05$.

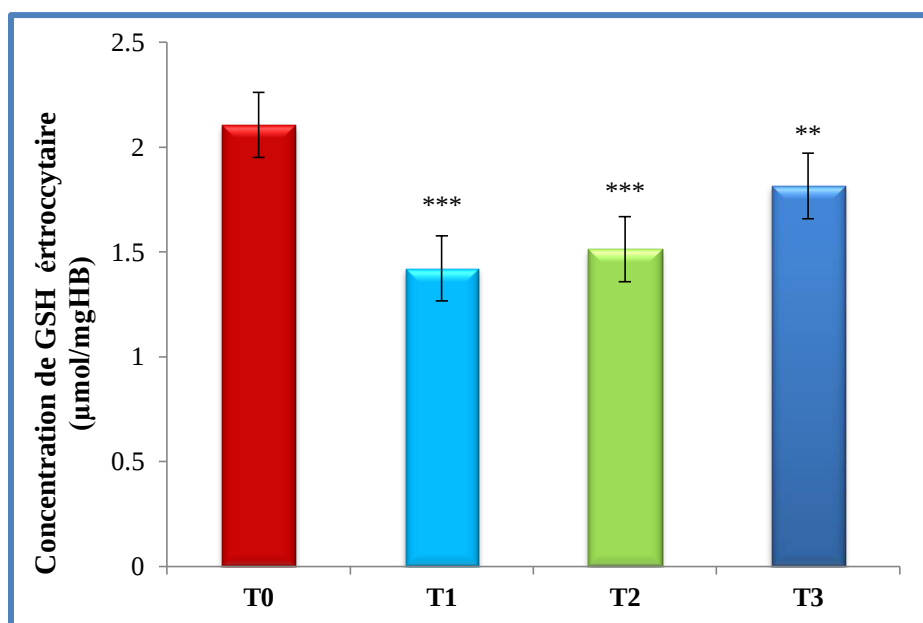


Figure 24 : Concentration de GSH érythrocytaire chez les femmes enceintes pendant les trois trimestres de grossesse et les femmes témoins. Comparaison avec le groupe témoin (T0): ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ^{NS} $P > 0.05$.

➤ La concentration de Malondialdéhyde érythrocytaire est augmentée de façon significative ($P > 0.05$) et hautement significative ($P < 0.001$) au cours de 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de grossesse respectivement et pas de variation significative chez les femmes

enceinte pendant le 1^{er} trimestre de grossesse par rapport au femmes témoins (Tableau 05 et figure 23).

➤ Les résultats obtenus présentés dans le tableau (05) et la figure (24) montrent qu'il y a une diminution très hautement significative de concentration de glutathion érythrocytaire chez les femmes pendant les deux premiers trimestres de grossesse (T1,T2), et une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) pendant le troisième trimestre par rapport aux femmes témoins.

4. Effet d'une supplémentation de fer chez les femmes enceintes

4.1. Caractérisation de population d'étude supplémentation de fer

la population étudié de 58 femmes enceintes divisé en deux groupes dans chaque trimestre de grossesse comme suite :

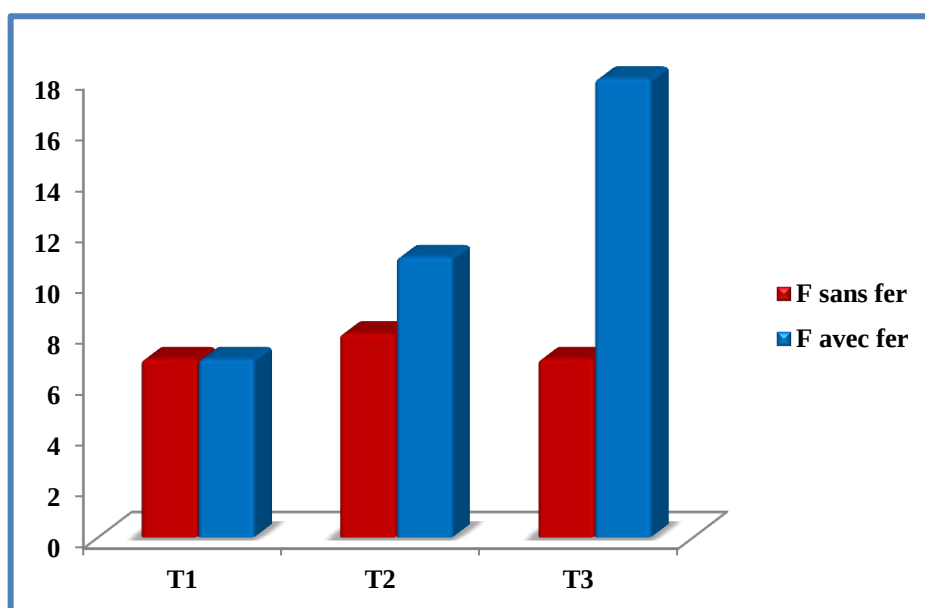


Figure 25 : Répartition de population d'étude supplémentés et non supplémentées de fer pendant leurs grossesse durant les trois trimestres de grossesse.

4.2. Effet d'une supplémentation de fer sur la concentration de fer sérique

Tableau 06: Concentration de fer sérique (mg/l) chez les femmes enceintes supplémentées et non supplémentées de fer.

Paramètre	Trimestre	Groupes	
		Femmes sans fer	Femmes avec fer
		Moy $\pm$ ES	Moy $\pm$ ES
Fer sérique (mg/l)	T1	1.24 $\pm$ 0.24	1,21 $\pm$ 0.20 ^{NS}
	T2	1.20 $\pm$ 0.22	3.96 $\pm$ 1.48 ^{NS}
	T3	0.52 $\pm$ 0.05	6.57 $\pm$ 1.11 ^{***}

Comparaison avec le groupe des femmes non supplémentées (T0): *** $p < 0.001$; ^{NS} $P > 0.05$.

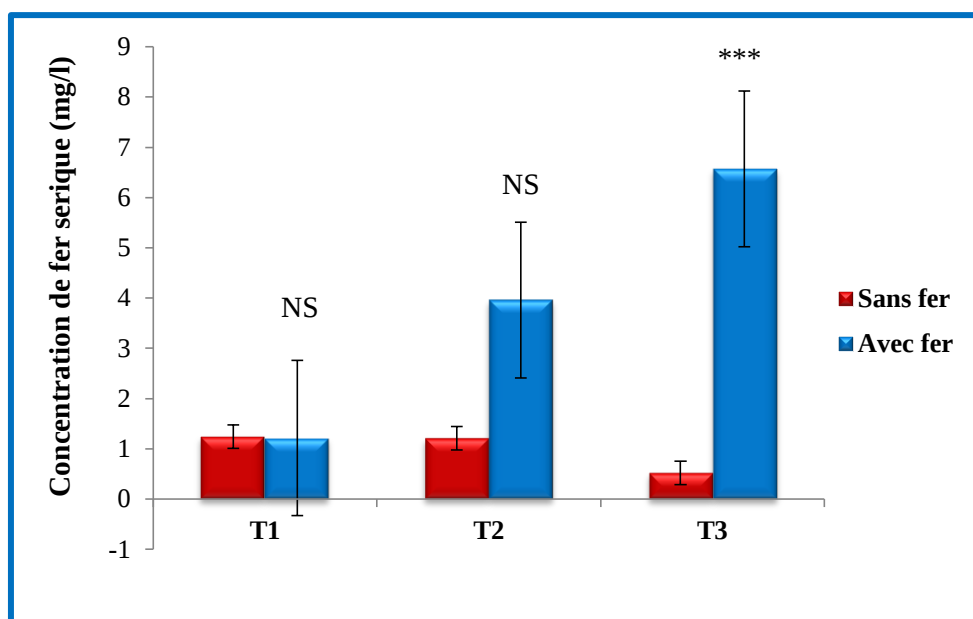


Figure 26 : Concentration de fer sérique chez les femmes enceintes supplémentées de fer pendant les trois trimestres de grossesse. Comparaison avec le groupe des femmes non supplémentées de fer (T0): ^{NS} $P > 0.05$. *** $p < 0.001$

➤ Les résultats obtenus présentés dans le tableau (06) et la figure (26) montrent qu'il n'y a aucune variation significative ($P > 0.05$) de la concentration de fer sérique pendant le premier trimestre (T1) et le deuxième trimestre de grossesse (T2), et une augmentation très hautement significative ($P < 0.001$) pendant le troisième trimestre de grossesse chez les femmes enceintes supplémentées de fer par rapport aux femmes enceintes non supplémentées.

4.3. Effet d'une supplémentation de fer sur les paramètres de stress oxydatif sériques chez les femmes enceintes

Tableau 07 : La concentration des glutathions réduits (mmol/ml), des Malondialdéhyde ($\mu\text{mol/ml}$) et de pouvoir antioxydant « ORAC » (Oxygen radical absorbance capacity) (UI) dans le sérum chez les femmes enceintes supplémentées et non supplémentées de fer.

Paramètre	Trimestre	Groupes	
		Femmes sans fer	Femmes avec fer
		Moy $\pm$ ES	Moy $\pm$ ES
MDA ($\mu\text{mol/ml}$)	T1	1,81 $\pm$ 0.24	1,56 $\pm$ 0.48 ^{Ns}
	T2	1,46 $\pm$ 0.14	1,69 $\pm$ 0.39 ^{Ns}
	T3	1.58 $\pm$ 0.18	2,04 $\pm$ 0.50 ^{***}
GSH (mmol/ml)	T1	0,20 $\pm$ 0.01	0,14 $\pm$ 0.02 ^{Ns}
	T2	0,19 $\pm$ 0.02	0,56 $\pm$ 0.16 ^{Ns}
	T3	0,26 $\pm$ 0.04	0,52 $\pm$ 0.17 ^{Ns}
ORAC (UI)	T1	143 0.225	0,7 $\pm$ 0.17 ^{**}
	T2	1,14 $\pm$ 0.163	1,35 $\pm$ 0.16 ^{Ns}
	T3	1,07 $\pm$ 0.202	1,59 $\pm$ 0.26 ^{Ns}

Comparaison avec le groupe des femmes non supplémentées (T0): *** P < 0.001 ; ** P < 0.01;

^{Ns}P > 0.05.

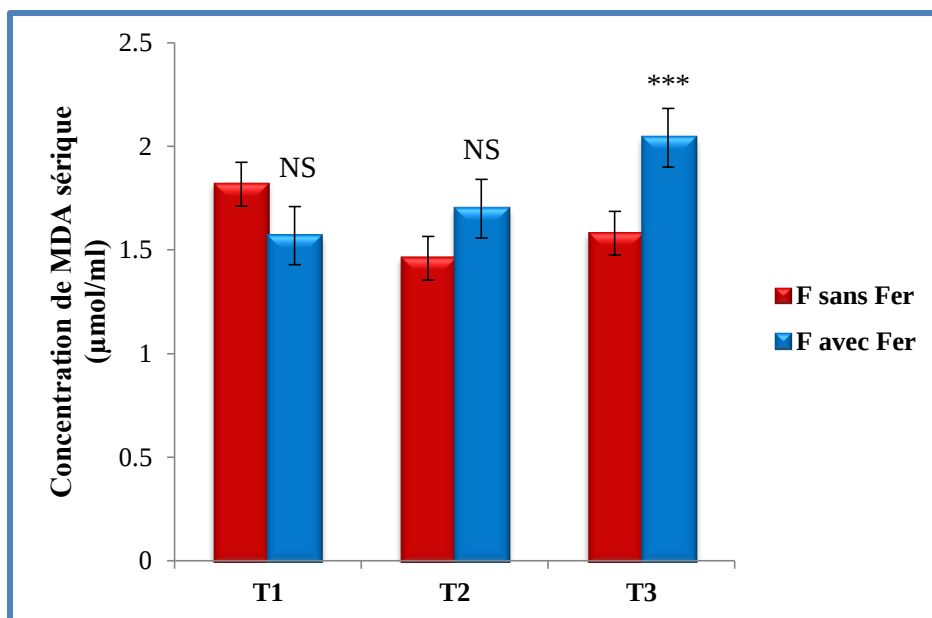


Figure 27 : Concentration de Malondialdéhyde « MDA » sérique chez les femmes enceintes supplémentées de fer pendant les trois trimestres de grossesse . Comparaison avec le groupe des femmes non supplémenté de fer (T0): *** $P < 0.001$; ^{NS} $P > 0.05$.

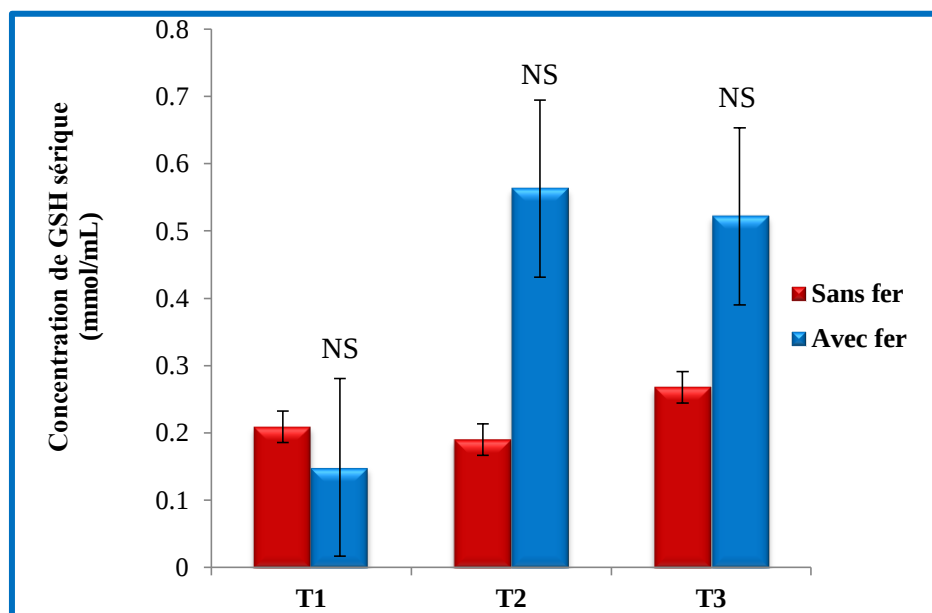


Figure 28 : Concentration de GSH sérique chez les femmes enceintes supplémentées de fer pendant les trois trimestres de grossesse . Comparaison avec le groupe des femmes non supplémentées de fer (T0); ^{NS} $P > 0.05$.

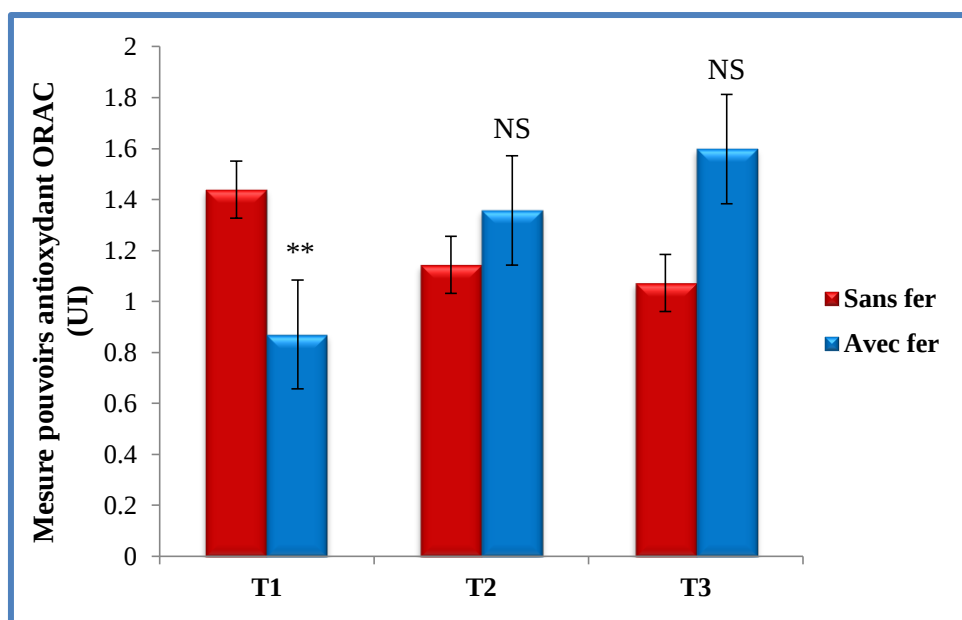


Figure 29 : Mesure de pouvoir antioxydant « ORAC » chez les femmes enceintes supplémentées de fer pendant les trois trimestres de grossesse . Comparaison avec le groupe des femmes non supplémentées de fer (T0): ** $P < 0.01$; ^{NS} $P > 0.05$.

➤ Notre résultats (Tableau 07 et figure 27) de comparaison entre des femmes supplémentées de fer avec les femmes non supplémentées montrent qu'il n'y a aucune variation significative ($P > 0.05$) de la concentration de Malondialdéhyde sérique pendant le premier trimestre (T1) et le deuxième trimestre de grossesse (T2), et une augmentation très hautement significative ($P < 0.001$) pendant le troisième trimestre de grossesse.

➤ Les résultats obtenus présentés dans le tableau (07) et la figure (28) montrent qu'il n'y a aucune variation significative ($P > 0.05$) de la concentration de glutathion réduit sérique chez les femmes enceintes supplémentées de fer par rapport aux femmes enceintes non supplémentées pendant les trois trimestres de grossesse.

➤ D'après nos résultats aussi (Tableau 07 et figure 29) on note que le pouvoir antioxydant « ORAC » est diminuée de façon hautement significative ($P < 0.01$) chez les femmes supplémentées de fer pendant le premier trimestre (T1) et pas de variation significative ($P > 0.05$) pendant les deux derniers trimestres de grossesse (T2, T3), par rapport aux femmes non supplémentées de fer .

4.4. Effet d'une supplémentation de fer sur les paramètres de stress oxydatif érythrocytaires chez les femmes enceintes

Tableau 08 : Concentration de Glutathions réduit ($\mu\text{mol/mg HB}$), des Malondialdéhyde (nmol/mg HB) dans l'homogénat érythrocytaire chez les femmes enceintes supplémentées et non supplémentées de fer.

Paramètre	Trimestre	Groupes	
		Femmes sans fer	Femmes avec fer
		Moy $\pm$ ES	Moy $\pm$ ES
MDA (nmol/mg HB)	T1	15.59 $\pm$ 1.59	12,19 $\pm$ 5.14 ^{Ns}
	T2	13.99 $\pm$ 1.60	20,84 $\pm$ 12.35 ^{Ns}
	T3	24.31 $\pm$ 2.88	27,07 $\pm$ 15.51 [*]
GSH ($\mu\text{mol/mg HB}$)	T1	1,49 $\pm$ 0.143	1,34 $\pm$ 0.43 ^{Ns}
	T2	1,42 $\pm$ 0.134	1,63 $\pm$ 0.76 ^{Ns}
	T3	1,86 $\pm$ 0.207	1,74 $\pm$ 0.43 ^{***}

Comparaison avec le groupe des femmes non supplémentées (T0): *** P < 0.001 ; ^{Ns} P > 0.05.

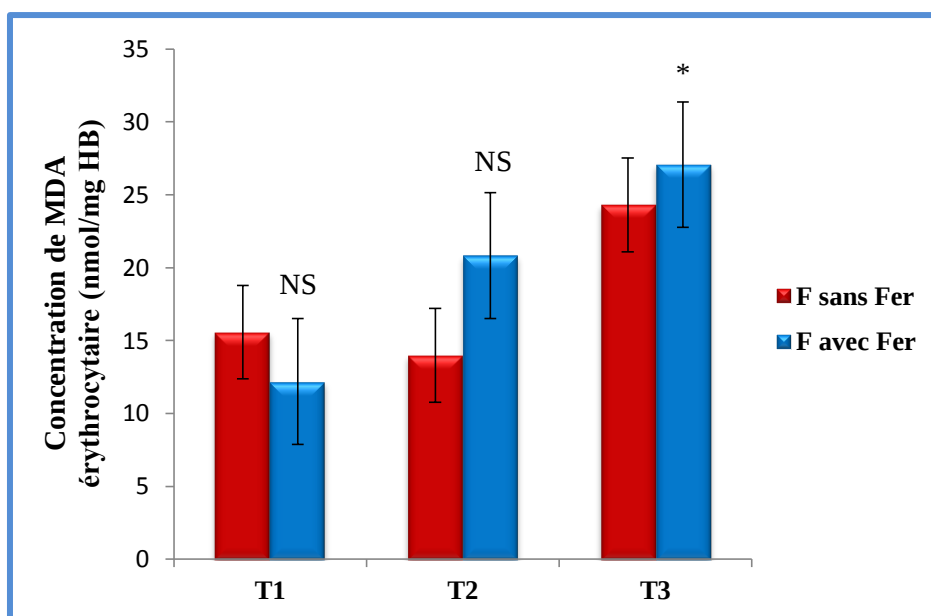


Figure 30 : Concentration de Malondialdéhyde « MDA » érythrocytaire chez les femmes enceintes supplémenté de fer pendant les trois trimestres de grossesse . Comparaison avec le groupe des femmes non supplémentées de fer (T0): * P < 0.05; ^{Ns} P > 0.05.

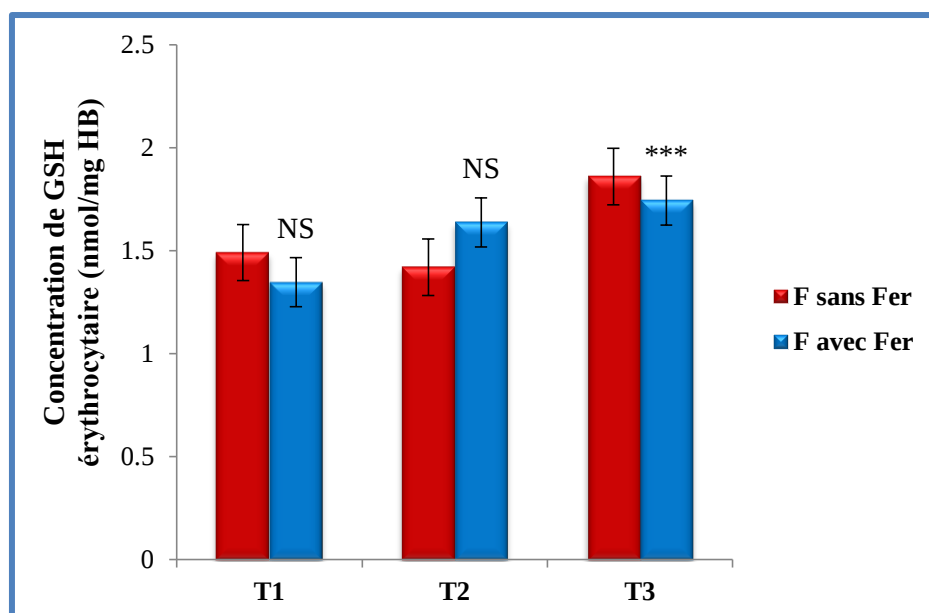


Figure 31 : Concentration de GSH érythrocytaire chez les femmes enceintes supplémentées de fer pendant les trois trimestres de grossesse . Comparaison avec le groupe des femmes non supplémentées de fer (T0); *** $P < 0.001$; ^{NS} $P > 0.05$.

➤ Nos résultats (Tableau 08 et figure 30) indiquent qu'il n'y a aucune variation significative de Concentration Malondialdéhyde érythrocytaire chez les femmes supplémentées de fer pendant les premier (T1) et le deuxième trimestre de grossesse (T2), et une augmentation de façon significative ($P < 0.05$) pendant le troisième trimestre par rapport aux femmes non supplémentées.

➤ Les résultats obtenus présentés dans le tableau (08) et la figure (31) montrent qu'il n'y a aucune variation significative ($P > 0.05$) de concentration de glutathion réduit érythrocytaire chez les femmes supplémentées de fer pendant les deux premiers trimestre (T1.T2) , et une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) pendant le troisième trimestre par rapport aux femmes non supplémentées .

II. Discussion

La grossesse est un état physiologique chez les femmes qui s'accompagne des modifications physiologiques et organiques dès la fécondation jusqu'à l'accouchement.

L'objectif de notre travail est de contribuer à l'amélioration de la qualité de la surveillance de la grossesse contre les altérations métaboliques et le stress oxydant chez les femmes enceintes dans la région d'El oued.

D'après les résultats de notre étude, on ne constate aucune variation significative de la glycémie pendant les trois trimestres de grossesse. Cela est dû aux critères d'exclusion de la population étudiée qui ne montrent aucunes maladies métaboliques chroniques dont le diabète.

Nous avons constaté aussi des taux bas de fer sérique pendant le 3^{ème} trimestre de grossesse témoignant d'une carence martiale. Notre résultat est en accord avec l'étude de MALEK-MELLOULI et *al* (2013) qui a été montrée une diminution significative du fer sérique du 1^{er} au 3^{ème} trimestre de la grossesse, grâce à une étude réalisée sur 86 femmes regroupées en ; 56 femmes enceintes et 30 femmes non enceintes. On peut expliquer ces résultats comme suite: Le fer joue un rôle capital dans l'organisme, comme élément constitutif de l'hémoglobine et de la myoglobine, et dans de nombreuses réactions enzymatiques et métaboliques (HARVEY., 2011). La diminution observée de la concentration de fer sérique due à l'élévation de besoins au cours de la grossesse. Environ 1000 mg de fer est nécessaire pour couvrir les besoins de la femme enceinte (BUTTE., KING., 2005) à cause de l'élévation de la masse érythrocytaire, croissance fœtale, fonctionnement placentaire et les pertes métaboliques et physiologiques (MILMAN., 2006). Les besoins en fer augmentent au fur et à mesure de cette situation passant d'environ de 1mg par jour au premier trimestre à 8mg par jour au troisième trimestre (BOTHWELL., 2000). Malgré l'augmentation de l'absorption de fer en fin de grossesse, les apports alimentaires ne sont habituellement pas suffisants pour compenser ces pertes, puisque le transfert actif du fer de la mère vers le fœtus se poursuit, même en cas de carence maternelle (THERESA et *al.*, 2000). La multiparité est un autre facteur qui provoque des déplétions successives des réserves en fer, sans reconstitution intermédiaire satisfaisante (DIALLO et *al.*, 1999).

Concernant les analyses hématologiques les résultats obtenus montrent que le taux d'hémoglobine est diminué progressivement pendant les trois trimestres de grossesse. Notre résultat est en accord avec la recherche de (BEUCHER et *al.*, 2011). Ce résultat peut être corrélé à l'hémodilution progressive (le volume plasmatique augmente plus rapidement que la masse érythrocytaire) (AYOUBI et *al.*, 2012) qui est une modification physiologique chez toutes les femmes enceintes pour compenser les besoins liés au fœtus et à son environnement.

(ATUL et *al.*, 2003). Au troisième trimestres de grossesse, en revanche on observe une baisse des valeurs sur l'hémogramme (hémoglobine et hématocrite) qui est expliqué probablement par la phénomène d'hémodilution (MILMAN et *al.*, 2007), on peut expliquer aussi ces résultats par la carence en fer qui traduit généralement par une anémie gravidique ferriprive (MILMAN., 2008).

Dans notre étude on a trouvé une diminution de la concentration de bilirubine totale. Nos résultats sont désaccords avec les résultats de nombreux travaux (CARLTON., SINHA., 1970; ANANTH et *al.*, 1986) réalisés sur l'évolution des taux de la bilirubine selon l'âge gestationnel. Ces derniers travaux montrent une élévation graduelle de la concentration de la bilirubine durant la grossesse (GILLAIN et *al.*, 2008). La diminution observé de la concentration de la bilirubine peut être expliquer par l'élévation de la peroxydation lipidique chez la femme enceinte car la bilirubine est capable de piéger les ROO[•] et l'oxygène singulet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (HALENG et *al.*, 2007). Sa augmentation au 3^{ème} trimestre est le résultat de la baisse de la concentration de l'hémoglobine au cours du troisième trimestre de la grossesse par ce que la bilirubine est un métabolite final du catabolisme oxydatif de l'hème (TRIVIN., 1998) et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales (HALENG et *al.*, 2007).

Dans notre travail les résultats obtenus montrent une augmentation de protéines sérique au cours de 1^{er} et 2^{ème} trimestre de la grossesse. Les protéines sériques maintiennent la pression osmotique plasmatique. Les principales causes d'une hyperprotidémie observé dans notre résultat peut être due à la déshydratation intracellulaire et une augmentations du volume extracellulaire (QUINLAN et *al.*, 1994), et peut aussi revenir à la vasopressine qui a un rôle antidiurétique essentiel qui permet au corps de contrôler l'expansion de son volume extracellulaire et son osmolarité plasmatique, et permet en restriction hydrique de stimuler la réabsorption rénale d'eau avant de stimuler la prise de boisson par la soif (BLANCHARD., 2004). Au cours de la grossesse, le seuil de sécrétion de la vasopressine diminue puisque le placenta exprime sur sa face maternelle une enzyme, l'ocytocinase, responsable d'une augmentation de la clairance métabolique de l'ocytocine et de la vasopressine, la régulation physiologique de l'osmolalité plasmatique est donc simplement décalée vers les valeurs basses (DAVISON et *al.*, 1988) et donc à une réabsorption d'eau moins importante et à un débit urinaire plus élevé. Ce «reset de l'osmostat» explique qu'au cours des deux premier trimestres de la grossesse, l'osmolalité plasmatique diminue (NICOLET-BAROUSSE et *al.*, 2002) et la concentration plasmatique en protéine augmente.

Concernant la concentration de cuivre sérique nos résultats montrent une élévation de cet élément pendant les deux derniers trimestres de grossesse. Plusieurs études est en accord avec nous parmi lesquelles; SHEILA (1981) qui a observé des niveaux élevés de la concentration de cuivre sérique du deuxième et troisième trimestre de grossesse, alors que certaines études ont rapportés atteindre des niveaux élevée dans le 9^{ème} mois de la grossesse (SHEILA et *al.*, 1981). Ceci peut être attribué à des niveaux accrus d'œstrogène qui contribue à la synthèse et la libération de la céruloplasmine (LUNET et *al.*, 2008) qui assure 90% de son transport plasmatique (AFONSO et *al.*, 2007) et aussi à l'augmentation de l'absorption de cuivre au niveau intestinale (LINDER et *al.*, 1998 ; MC ARDLE.,1995). Durant la grossesse, la cuprémie augmente (AYOUBI et *al.*, 2012) associée à l'augmentation des besoins en cuivre du fœtus qui est pourvue par une répression de l'expression d'ATP7B et sa relocalisation dans le réseau trans-golgien d'une part, et une stimulation d'ATP7A par l'insuline et les œstrogènes d'autre part (HARDMAN et *al.*, 2004). Il est bien établi que 75% du taux de cuivre est transféré à travers le placenta de la mère au fœtus dans les 10 à 12 dernières semaines de grossesse (KELLEHER., LÖNNERDAL., 2003).

Dans notre travail les résultats de l'analyse du stress oxydatif montrent une augmentation remarquable de MDA sérique et érythrocytaire chez les femmes enceintes par rapport aux femmes témoin. Notre étude est en accord avec de nombreuses études comparées aux femmes enceintes et non enceintes en bonne santé (DJORDJEVIC et *al.*, 2004; NAKAI et *al.*, 2000); ont été trouvées des concentrations plus élevées des marqueurs de la peroxydation lipidique (MDA) chez les femmes enceintes principalement durant le troisième trimestre de grossesse. De plus l'étude de ARIKAN (2001) qui a été réalisée chez 40 femmes regroupées en ; 20 femmes enceintes et 20 femmes non enceintes en bonne santé, ils trouvent des concentrations significativement élevée de Malondialdéhyde sérique et érythrocytaire au cours de troisième trimestre de grossesse. Le Malondialdéhyde (MDA) est un aldéhyde formé lors de coupure d'acide gras polyinsaturé à partir de composé non lipidique lorsqu'ils sont exposés à l'action de radicaux hydroxyle en présence des métaux (MIWA et *al.*, 2000). Il représente un indicateur le plus fréquemment utilisés de la peroxydation lipidique (NIELSENA et *al.*, 1997) et un marqueur sensible au stress oxydant (TERRIER-LENGLET et *al.*, 2011). Donc l'explication de l'élévation de l'MDA est basée sur les produits de peroxydation lipidique produite dans le placenta durant la grossesse pourrait passer dans le sang maternel et agir en tant que agents déclenchant des dommages dans d'autres tissus (SAINZ et *al.*, 2000) parce que ; le placenta humain produit des peroxydes lipidiques qui sont sécrétée principalement du côté maternel du placenta restent dans la circulation maternel

quelque temps (WALSH ET WANG., 1993a) et des marqueurs de peroxydation lipidique accrue sont observés pendant la grossesse normale (ERISIRI et *al.*, 2009). En outre, la concentration des marqueurs de peroxydation lipidique est baissée de sang maternel après le placenta a livré pendant l'accouchement (SAINZ et *al.*, 2000). On peut expliquer aussi l'augmentation de l'MDA sérique et érythrocytaire par l'élévation de cuivre sérique qui est un métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement des réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) (DELATTRE et *al.*, 2005). Lorsqu'il est en excès, il devient un agent pro-oxydant influençant l'oxydation des lipides (FRENOT., VIERLING., 2001). La carence en glutathion réduite observée dans nos résultats entraînent une diminution de l'activité de glutathion peroxydase catalysant la réduction des hydroperoxydes « H_2O_2 , ROOH » (produits de l'oxydation des acides gras polyinsaturés) par le glutathion (FLOHÉ., 1989; ROTRUCK et *al.*, 1973), cela conduit à l'augmentation de la dégradation d'hydroperoxyde en Malondialdéhyde (MDA) et 4-hydroxynonanal (4-HNE) principalement (MARNETT., 1999). L'hydroperoxyde peut se décomposer en radicaux libres extrêmement oxydants tels que $OH^\cdot$ ou $RO^\cdot$ en présence de complexes de métaux réducteurs non liés aux protéines (Fe^{+2}, Cu^{+1}) (RICHARD et *al.*, 1997). D'autre part, lors d'une hypoxie, la diminution d'oxygène au niveau du dernier complexe mitochondrial (Complexe IV-cytochrome oxydase) impliquerait une diminution de l'activité de ce complexe et une production accrue d'ERO au niveau du complexe III mitochondrial avec une élévation brutale de la quantité d'anion superoxyde (O_2^-) qui s'échappe de la mitochondrie (CHANDEL et *al.*, 1998; DURANTEAU et *al.*, 1998). Cette diminution de l'activité de la cytochrome oxydase s'accompagne d'une diminution du métabolisme cellulaire (DUPICA et *al.*, 2010). Et cela peut expliquer l'élévation de concentration de l'MDA sérique et érythrocytaire au cours du troisième trimestre de grossesse.

Dans notre résultat on a signalé une diminution de concentration sérique et érythrocytaire de glutathion réduit (GSH). Notre résultat est en accord avec l'étude WALSH et WANG (1993b) qui ont rapporté une carence de l'activité de glutathion peroxydase (GPx) pendant la grossesse grâce à la diminution de concentration de son cofacteur le glutathion pour convertir la peroxydation lipidique. Le NADPH est nécessaire au maintien d'un état redox normal de rapport GSSG/GSH (JONES et *al.*, 2011) qui est considérée comme indicatif de stress oxydatif (CHANDRA., 2011). Donc la concentration intracellulaire de GSH diminue probablement due à l'augmentation de la demande cellulaire en NADPH. En outre l'élévation de MDA associée à l'augmentation des sources des radicaux libres importants dont la NADPH oxydase qui est un complexe enzymatique membranaire dans la paroi vasculaire catalyse la

réaction d'oxydation du NADPH par le dioxygène (O_2), ce qui produit du $NADP^+$, du H^+ et de O_2^- (YANG et *al.*, 2012) il y'a aussi l'activation de système thiorédoxine NADP-dépendant, où elles sont associées au NADPH et à une enzyme dénommée NADP-thiorédoxine réductase (ZAHID et *al.*, 2008). L'activation de ces enzymes s'accompagne peut être par une baisse des ressources en NADPH au détriment d'autres réactions qui nécessitent également ce cofacteur, parmi lequel la glutathion réductase (OLIVIER et *al.*, 2004). Car la quantité de NADPH disponible pour régénérer le GSSG en GSH est largement diminuée réduisant considérablement le système de défense antioxydant non enzymatique (GSH) (DINCER et *al.*, 2002; MADDUX et *al.*, 2001).

Dans cette étude, on a signalé un taux bas d'acide urique sérique chez les femmes pendant le troisième trimestre de grossesse par rapport aux femmes non enceintes. Nos résultats sont en désaccord avec l'étude de HILL (1978) qui montre que l'altérations de la clairance rénale de l'acide urique est le responsable de la diminution prononcée de l'uricémie au cours des 20 premières semaines de gestation. Les résultats obtenu dans notre étude peut être lié le plus souvent à l'état de stress oxydatif confirmé par l'élévation de l'MDA sérique et érythrocytaire. L'acide urique est le produit de la dégradation final des purines (VOET., VOET., 2004), il provient par deux voies : endogènes et exogènes. À pH physiologique, la majorité d'acide urique ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux ($OH^\bullet$, $ROO^\bullet$, $NOO^\bullet$...) (MORTIMER., YOUNG., 1978) et d'ERO. Donc l'acide urique joue un rôle d'un antioxydant naturel important et sa diminution peut aggraver le stress oxydatif à cause de la demande accrues de ce piègeur. D'autre part, la diminution d'acide urique peut être lié à l'augmentation du volume plasmatique et sa clairance rénal élevé (USHAR., NOZER., 1998).

Dans notre travail, la capacité de plasma à absorber les radicaux oxygènes libres (ORAC) diminue pendant le 3^{ème} trimestre de grossesse chez les femmes enceintes comparés aux femmes témoins. Le pouvoir antioxydant total ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) est utilisé sous des diverses formes pour mesurer l'efficacité antioxydant globale d'un milieu. Il reflète l'action de plusieurs antioxydants dont sa composition varie en fonction du marqueur utilisé (WATSON et *al.*, 2005). Ces résultats peut être expliquer par la diminution de la protection antioxydant, notamment la diminution des taux maternels en acide urique et les teneurs érythrocytaires et sérique en GSH. On note que l'ORAC possède une synergie avec plusieurs antioxydants comme l'albumine, l'acide urique, la ferritine, les oligo-éléments, les vitamines et les enzymes antioxydants.

Nos résultats montrent que les femmes enceintes sont associées à des perturbations du statut oxydant/ antioxydant. Elles présentent des teneurs élevées en les marqueurs de peroxydation lipidique sérique et érythrocytaire (MDA) associée à une réduction de la défense antioxydant (ORAC), Acide urique et GSH sérique et érythrocytaire dans le troisième trimestre de grossesse « T3 ». Nos résultats sont en accord avec les travaux de recherche publiés de (AHN et *al.*, 2007; PERKINS et *al.*, 2006) qui montrent une diminution de la capacité de défense anti oxydatif chez les femmes enceintes surtout au 3^{ème} trimestre de grossesse.

Selon DEBIER (2007), la grossesse est souvent associée à un stress oxydatif qui réduit les vitamines antioxydantes et entraîne parfois des accouchements prématurés.

Les résultats obtenus montrent que un supplément de fer notamment en troisième trimestre de grossesse chez les femmes provoque l'élévation de la peroxydation lipidique sérique et érythrocytaire on peut expliquer ces résultats comme suite : Le fer peut être toxique si son niveau et / ou la distribution ne sont pas correctement régulé. La toxicité ferreuse est développée par la production des ROS qui sont formés pendant le métabolisme cellulaire normale (LUSHCHAK., 2011). Le H_2O_2 est généré à partir de transformation de l'anion superoxyde par voie enzymatique (superoxyde dismutase) et non enzymatique. Les deux molécules ($O_2^{\bullet -}$ et H_2O_2) se trouvent dans les espaces extracellulaires et dans le sang. H_2O_2 est un composé non chargé de faible masse moléculaire capable de traverser librement les membranes biologiques et diffusant à distance considérable à partir de son site de production. Ces molécules sont réduites par son interagissent avec des métaux de transition comme le fer, qui conduisent à la production des radicaux fortement réactifs. La réaction la plus importante de H_2O_2 avec Fe (II) libre ou mal ligandé est la réaction de Fenton, générant des ions hydroxyles hautement réactifs. En outre, l'acide ascorbique possède de nombreuses interactions connues avec des ions métalliques. L'acide ascorbique peut remplacer $O_2^{\bullet -}$ à l'intérieur de la cellule pour réduire le Fe (III) en Fe (II), ce qui facilite la réaction de Fenton. Fe (II) en faisant réagir avec des acides gras insaturés en présence d' H_2O_2 peuvent initier la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques et les lipoprotéines produisant le $HO^{\bullet}$ conduisant des dysfonction cellulaire (DE LA ROSA et *al.*, 2008). Cependant, toute petite quantité de «Fer libre» suite à des niveaux élevés en fer supplémenté ou par des mécanismes spécifiques qui fonctionnent pendant la carence ou dysrégulation de l'homéostasie du fer, peut augmenter le risque que le fer induit le stress oxydatif (KAPRALOV et *al.*, 2009).

Conclusion

La femme enceinte est exposée à des risques importants de complications qui peuvent affecter sa santé et celle de son nouveau-né. Nos résultats montrent que les femmes enceintes présentent des altérations métaboliques caractérisées par une variation des marqueurs biochimique et hématologique comme la diminution du taux d'hémoglobine, d'hématocrite et de fer sérique associé à une élévation de la bilirubine totale et de cuivre sérique. Ces altérations métaboliques durant la grossesse sont associées le plus souvent au développement d'une anémie ferriprive. Par ailleurs, on a observé dans notre travail un déséquilibre de la balance oxydante/antioxydante chez les femmes enceintes. Celui-ci est marqué par des variations du système de défense antioxydant caractérisé par une diminution de la concentration de l'acide urique sérique, GSH sérique, GSH érythrocytaire et le pouvoir antioxydant totale (ORAC). Notre travail révèle aussi des élévations des marqueurs de l'oxydation des biomolécules (MDA sérique et MDA érythrocytaire) en relation avec l'augmentation de cuivre sérique associé à la grossesse. Ces altérations sont dues au fait que la grossesse est un cas physiologique caractérisé par une fragilité de défense vis-à-vis des agents prooxydants ce qui provoque une perturbation de statut oxydant/antioxydant. Ces perturbations peuvent être responsables, pendant la grossesse, d'importantes complications materno-fœtales (Pré-éclampsie, Fausse couche, avortement, diabète gestationnel....), et justifient l'intérêt d'une surveillance particulière.

D'autre part notre résultats montre clairement le rôle d'un supplément de fer en troisième trimestre de grossesse sur le développement de la peroxydation lipidique ce qui favorise la progression du stress oxydatif ceci attire l'attention sur la supplémentation systématique de fer sans contrôle des besoins réelle de la femme enceinte en différentes période de grossesse. À la lumière de ce travail, une surveillance stricte, délicate et périodique est essentielle chez les femmes enceintes en absence ou en présence de complications. La diététique est un facteur limitant de l'apparition des altérations métaboliques et de stress oxydatif chez les femmes pendant les trois trimestres de grossesse.

Enfin, la grossesse est une période favorisée pour l'éducation nutritionnelle. Il y'a maintenant suffisamment de preuves pour conclure que des interventions pour corriger les altérations métaboliques et le stress oxydatif ont des effets biologiques positifs. Il est utile aussi de rechercher des effets sur la santé des femmes enceintes. Enlever ou éviter des sources ajoutées de radicaux libres (ex : fumer, ou mauvais contrôle alimentaire, l'obésité) auront probablement plus de chances de réussir que des tentatives pour corriger le stress oxydatif.

Une prise en charge du statut antioxydant au cours de la grossesse est nécessaire pour l'évaluation favorable de ce cas physiologique. Toutefois des nouvelles études sont nécessaires pour contrôler la physiologie des systèmes biologiques et le mécanisme d'adaptation de l'organisme à la grossesse pour bien comprendre les mécanismes de réduire les complications associées au développement de stress oxydatif chez les femmes au cours de différentes périodes de grossesse.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

1. AFONSO M.P., MSC A., FIGUEIREDO R.C.B., B.SC.A., ANASTÁCIO A.S, D.SC.A., PORTO DA SILVEIRA C.L., D.SC.B., DONANGELO C.M., PH.D.A., 2007- Zinc and copper metabolism in pregnancy and lactation of adolescent women. *Nutrition*. vol. 23 : 248-253.
2. AHN Y.M., KIM Y.J., PARK H., PARK B., LEE H., 2007- Prenatal vitamin C status is associated with placental apoptosis in normal-term human pregnancies. *Placenta*. vol. 28(1) : 31-38.
3. ALTAN O., PABUCCUOGLU A., ALTAN A., KONYALIOGLU S., BAYRAKTAR H., 2003- Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *British Poultry Science*. vol. 44 : 545-550.
4. ANANTH U., WARSOFF S.L., COULEHAN J.M., WOLF P.H., QUEENAN J.T., 1986- Mid trimestre amniotic fluid delta optical density at 450nm in normal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. vol. 155 : 664-666.
5. ANDERSON G.J., FRAZER D.M., 2005- Recent advances in intestinal iron transport. *Curr Gastroenterol Rep*. vol. 7 : 365-372.
6. ANN T.P., 1969- *Clin Biochem*. vol. 6 (1) : 24-33. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 41010.
7. ARIKAN S., KONUKOĞLU D., ARIKAN Ç., AKÇAY T., DAVAS I., 2001- Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Maternal and Cord Blood . *Gynecol Obstet Invest*. vol. 51(3) : 145-149.
8. ARLETA J.B., POUCHOTA J., LASOCKID S., BEAUMONT C., HERMINE O., 2012- Supplémentation en fer : indications, limites et modalités. *Revue de médecine interne* . vol. 34(1) : 26-31.
9. ARREDONDO M., MUNOZ P., MURA C.V., NUNEZ M.T., 2003- DMT1, a physiologically relevant apical Cu¹⁺ transporter of intestinal cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. vol. 284(6) : 1525-1530.
10. ATUL B., MEHTA A., VICTOR HAFBFRAND I., ROCOUR M., 2003- *Hématologie*. 1ère édition. Ed. De Boeck, Paris. 208 p.
11. AUROUSSEAU B., DURAND D., GRUFFAT D., 2004- Contrôle des phénomènes oxydatifs pendant la gestation chez les monogastriques et les ruminants. *INRA Prod Anim*. vol. 17 : 339-354.

12. AYOUBI J.M., HIRT R., BADIOU W., HININGER-FAVIER I., ZRAIK-AYOUBI F., BERREBI A., PONS J.C., 2012- Nutrition et femme enceinte. Gynécologie/ Obstétrique. vol. 5(042) : 1-14.
13. BAROUKI R., 2006- Stress oxydant et vieillissement. Medecine/Sciences. vol. 22(3) : 266-272.
14. BAROUKI R., MOREL Y., 2001- Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress : mechanisms and biological implications. Biochem Pharmacol. vol. 61 : 511-516.
15. BAUDIN B., 2006- Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. MT Cardio . vol. 2(1) : 43-52.
16. BAUDINA B., 2012- Homéostasie du fer et aspects nutritionnels. Revue Francophone des Laboratoires. vol. 2012(442) : 55-59.
17. BEAUMONT C., 2004- « Mécanismes moléculaires de l'homéostasie du fer ». Médecine /sciences. vol. 20(1) : 68-72.
18. BEAUMONT C., 2005- La ferroportine, une nouvelle molécule pour la régulation du métabolisme du fer. Hématologie. vol. 10(6) : 453-463.
19. BEAUMONT C., CANONNE-HERGAUX F., 2005- Erythrophagocytosis and recycling of heme iron in normal and pathological conditions; regulation by hepcidin. Transfus. Clin Biol. vol. 12 : 123-130.
20. BEAUMONT C., KARIM Z., 2013- Actualité du métabolisme du fer. Revue de médecine interne. vol. 34(1) : 17-25.
21. BEAUMONT C., NICOLAS G., VAULONT S., 2003- L'hepcidine, un régulateur majeur du métabolisme du fer. Hématologie . vol. 9(1) : 27-36.
22. BEGUIN Y., 2002- Le métabolisme du fer. Hématologie. vol. 8(7-11) : 7-11.
23. BESHGETOOR D., HAMBIDGE M., 1998- Clinical conditions altering copper metabolism in humans. Am J Clin Nutr. vol. 67 : 1017S-1021S.
24. BEUCHER G., GROSSETTIB E., SIMONET T., LEPORRIERD M., DREYFUS M., 2011- Anémie par carence martiale et grossesse : Prévention et traitement. La Revue Sage-Femme. vol. 10(4) : 152-167.
25. BLACHE D., PROST M., 1992- Free radical attack: Biological test for human resistance capability. In proceeding of the college park on chemical evolution. Chemical Analyses Laboratory. NASA, WASHINGTON. 82-98.
26. BLANCHARD A., 2004- La vasopressine : physiologie et physiopathologie. MAPAR. vol. 15 : 303-316.

27. BONNEFONT-ROUSSELOT D., 2007- Stress oxydant et vieillissement. SPECTRA BIOLOGIE.vol. 4(157) : 23-26.
28. BONNEFONT-ROUSSELOT D., 2014- Obésité et stress oxydant. Obésité. vol. 9(1) : 8-13.
29. BOTHWELL T.H., 2000- Iron requirements in pregnancy and strategies to meet them. Am J Clin Nutr. vol. 72(1) : 257S-64S.
30. BRAUN J.P., BACHELLERIE R., GUELFY J.F., LEBRETON P., 2001- Métabolisme du fer et exploration de ses troubles chez le chien. Revue Méd Vét. vol. 152(7) : 515-521.
31. BREWER G.J., YUZBASIVAN-GURKAN V., 1992- Medicine. vol. 71 : 139-164.
32. BRISSOT P., BARDOU-JACQUET E., LATOURNERIE M., ROPERT-BOUCHET M., ISLAND M.L., LOREAL O., 2011- Hereditary iron overload. Pathol Biol. vol. 58 : 316-323.
33. BUETTNER GR., JURKTEWICZ BA., 1996- Catalytic metals, ascorbate and free radicals: Combination to avoid. Radiat Res. vol. 145 : 532-541.
34. BUTRIMOVITZ G.P., PURDY W.C., 1977- The determination of zinc in blood plasma by atomic absorption spectrometry. Anal Chim Acta. vol. 94 : 63.
35. BUTTE N.F., KING J.C., 2005- Energy requirements during pregnancy and lactation. Public. Health Nutr. vol. 8 : 1010-1027.
36. CAMARA C.M., DJESSOU P., MONDÉ A.A., LOHOUES E.C., DJOHAN Y. F., AKA A., SESS ED., 2006- Evaluation des marqueurs. du stress oxydant dans une population de Hanseniens en Côte d'Ivoire. Sciences et Médecine .CAMES - Série A. vol. 4 : 40-43.
37. CARLTON M.A., SINHA R., 1970- Liquor bilirubin values in early pregnancy. J Obstet Gynaecol Br Commenw. vol. 77 : 211-215.
38. CARRIERE A., GALINIER A., FERNANDEZ Y., CARMONA M.C., PENICAUD L., CASTEILLA L., 2006- «Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie » .Médecine/Sciences. vol. 22(1) : 47-53.
39. CATTAN D., 2004- Régulation de l'absorption du fer : données nouvelles. Hépatologie. vol. 1(2) : 82-97.
40. CHANDEL N.S., MALTEPE E., GOLDWASSER E., MATHIEU C.E., SIMON M.C., SCHUMACKER P.T., 1998- Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced transcription. Proc Natl Acad Sci U S A. vol. 95 : 11715-11720.
41. CHANDRA M., 2011- Mini-review: metabolic functions and molecular structure of glutathione reductase. International Journal of Pharmaceutical Sciences. vol. 9(2) : 104-115.
42. CHU W.L., Lim Y.W., RADHAKRISHNAN A.K., LIM P.E ., 2010- Protective effect of aqueous extract from Spirulina platensis against cell death induced by free radicals. BMC Complementary and Alternative Medicine.vol. 10(53) : 2-8.

43. CINDROVA-DAVIES T., YTJNG H.W., JOHNS J., SPASIC-BOSCOVIC O., KOROLCIUK S., JAUMAUX E., BURTON G.J., CHARMCK-JONES D.S., 2007- Oxidative stress, gene expression, and protein changes induced in the human placenta during labor. *Am J Pathol.* vol. 171(4) : 1168-1179.
44. CLARKSON P.M., THOMPSON H.S., 2000- Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *American Journal of Clinical Nutrition.* vol. 72(2) : 637-646.
45. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français, 1997- Supplémentation au cours de la grossesse. Ed. Omniplan Saclay, Paris. 20p.
46. CORINO C., ROSSI R., MUSELLA M., CANNATA S., PASTORELLI G., 2007- Growth performance and oxidative status in piglets supplemented with verbascoside and teupolioside. *ITAL J ANIM SCI.* vol. 6 (1) : 292-294.
47. CRICHTON R., 2001- Inorganic biochemistry of iron metabolism: The importance of iron for biological systems. 2nd Edition. Ed. John Wiley and Sons, England. 355p.
48. DANKS D.M., 1988- Copper deficiency in humans. *Annu Rev Nutr.* vol. 8 : 235-257.
49. DAVISON J., SHIELLS E., PHILIPS P., 1988- Lindheimer M., Serial evaluation of vasopressin release and thirst in human pregnancy. Role of human chorionic gonadotrophin in the osmoregulatory changes of gestation. *J Clin Invest.* vol. 81 : 798-706.
50. DE BIE P., MULLER P., WIJMENG C., KLOMP L., 2007- Molecular pathogenesis of Wilson and Menkes disease: correlation of mutations with molecular defects and disease phenotypes. *J Med Genet.* vol. 44 : 673-688.
51. DEBIER C., 2007- Vitamin E during pre-and postnatal periods. *Vitam Hot-M.* vol. 76 : 357-373.
52. DEEPA D., JAYAKUMARI B., THOMAS S.V., 2008- Lipid peroxidation in women with epilepsy. *Annals of the Indian Academy of Neurology.* vol. 11 : 44-46.
53. DEFRAIGNE J.O., PINCEMAIL J., 2007- Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Rev Med Liege.* vol. 10(4) : 1-10.
54. DE LA ROSA L.C., MOSHAGE H., NIETO N., 2008- Hepatocyte Oxidant Stress and Alcoholic Liver Disease. *Rev ESP Enferm Dig.* vol. 100(3) : 156-163.
55. DELATTRE J., BEAUDEUX J.L., BONNEFONT-ROUSSELOT D., 2005- Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. 1^{ère} Edition. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris. 547p.
56. DE MOFFARTS B., KIRSCHVINKI N., PINCEMAIL J., LEKEUX P., 2005- Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Ann Méd Vét.* vol. 9(149) : 1-9.

57. DENNERY P.A., 2007- Effects of oxidative stress on embryonic development. Birth Defects Res C Embryo Today . vol. 81(3) : 155-162.
58. DEVRIM E., TARHAN I., ERGUDER I.B., DURAK I., 2006- Oxidant /antioxidant status Of placenta, blood, and cord blood samp les from pregnant women supplemented with iron. J Sos Gynecol Investig. vol. 13(7) : 502-505.
59. DIALLO D., BLOT I., TCHERNIA G., 1999- Iron deficiency during pregnancy : effects on the newborn. Hématologie. vol. 5(3) : 216-222.
60. DINCER Y., ALADEMIR Z., ILKOVA H., AKCAY T., 2002- Susceptibility of glutathione and glutathione-related antioxidant activity to hydrogen peroxide in patients with type 2 diabetes: effect of glycemic control. Clin Biochem. vol. 35 : 297-301.
61. DINE G., FUMAGALLI G., VAN LIERDE F., GENTY V., 2010- Érythropoïèse et métabolisme du fer : interactions et applications biomédicales. BIOTRIBUNE. vol. 34 : 22-32.
62. DIXIT A., GIRLING J.C., 2008- Obesity and pregnancy. Jûbstet Gynecol.vol. 28(1) : 14-23.
63. DJORDJEVIC A., SPASIC S., JOVANOVIC-GALOVIC A., DJORDJEVIC R., GRUBOR-LAJISIC G., 2004- Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products. J Matern-Fetal Neonatal Med. vol. 16 : 367-372.
64. DOURIS P.C., ELOKDA A.S., HANDRAKIS J.P., PRINCIPAL S., RONDO E., BOVELL J., COUGHLIN W.P., MASTROIANNI C.N., WONG M.J., ZIMMERMAN T., 2009- Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. J Strength Cond Res. vol. 23(5) : 1518-1523.
65. DUPICA L., HUETC O., HARROISB A., DURANTEAUB J., 2010- Hypoxie et fonction mitochondriale. Réanimation . vol. 19(5) : 399-405.
66. DURANTEAU J., CHANDEL N.S., KULISZ A., SHAO Z., SCHUMACKER P.T., 1998- Intracellular signaling by reactive oxygen species during hypoxia in cardiomyocytes. J Biol Chem. vol. 273 : 11619-11624.
67. ELOSUA R., MOLINA L., FITO M., ARQUER A., SANCHEZ-QUESADA J.L., COVAS M.I., ORDONEZ-LLANOS J., MARRUGAT J., 2003- Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. Atherosclerosis. vol. 167(2) : 327-334.
68. ERISIRI M., BENZER F., FATIH M., KANDEMIR L., 2009- Changes in the Rate of Lipid Peroxidation in Plasma and Selected Blood Antioxidants before and during Pregnancy in Ewes. ACTA VET BRNO. vol. 78 : 237-242.
69. EVANS J.L., 2007- Antioxidants: do they have a role in the treatment of insulin resistance. Indian Journal Medical Research. vol. 125(12) : 355-372.

70. FATEMI N., SARKAR B., 2002- Molecular mechanism of copper transport in Wilson disease. *Environ Health Perspectol.* 110 : 695-698.
71. FAVIER A., 2003- Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique.* 108-115.
72. FAVIER M., HININGER-FAVIER I., 2004- Faut-il supplémenter en fer les femmes enceintes ?. *Gynecol Obstet Fertil.* vol. 32 : 245-250.
73. FERNÁNDEZ-BALLART J. 2000. Iron metabolism during pregnancy. *Clin Drug Invest.* vol. 19(1) : 9-19.
74. FIETEN H., LEEGWATER P.A.J., WATSON A.L., ROTHUIZEN J., 2011- Canine models of copper toxicosis for understanding mammalian copper metabolism. *Mamm Genome.* vol. 23(1-2) : 62-75.
75. FILLET G., 2009- Anémies ferriprives- Métabolisme du fer : Traitement martial. *Hématologie.* vol. 7 : 55-61.
76. FLOHÉ L., 1989- The selenoprotein glutathione peroxidase. In : *Glutathione : chemical, biochemical and medical aspects* (Dolphin D, Avramovic O and Poulson R., eds) Part A. John Wiley and Sons. 643-731.
77. FINAUD J., LAC G., FILAIRE E., 2006- Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports med.* vol. 36(4) : 327-358.
78. FOSSATI P., 1980- *Clin Chem.* vol. 26:227-231. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001010.
79. FREEMAN D., 2010- Effects of maternal obesity on fetal growth and body composition: implications for programming and future health. *Seminar in Fetal and Neonatal Medecine.* vol. 15 : 113-118.
80. FRENOT M., VIERLING E., 2001- *Biochimie des aliments. Diététique du sujet bien portant* 2^{ème} édition. Ed. Centre Régional de Documentation Pédagogique d' Aquitaine, France. 305 p.
81. GAMBLING L., KENNEDY ETH C., MCARDLE J., 2011- «Iron and copper in fetal development». *Semin Cel/ Dev Biol.* vol. 22(6): 637-644.
82. GARCIA H.C., VRIGNAUD C., GARCIA C., CEPPA F., 2009- From gene to disease: copper transporting P ATPases alteration. *Pathologie Biologie.* vol. 57(3) : 272-279.
83. GARDES-ALBERT M., BONNEFONT-ROUSSELOT D., ABEDINZADEH Z et JORE D., 2003- Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. *L'actualité chimique.* 91-96.

84. GERALD D., YANIV M., MECHTA-GRIGORIOU F., 2005- « Stress oxydatif et angiogenèse : Rôle majeur d'AP-1 / Oxidative stress and angiogenesis :major role of AP-1 ». Médecine/ Sciences. vol. 21(3) : 233-235.
85. GIBSON R., 1994- Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. Am J Clin Nutr. vol. 59 (1) : 1223S-1232S.
86. GILLAIN N., MINONA J.M., SCHAAPSB J.P., RETZB C., 2008- Concentration de la bilirubine dans le liquide amniotique et indice de Liley au cours du deuxième trimestre de la grossesse . Immuno-analyse et biologie spécialisée. vol. 23(1) : 35-44.
87. GONCALVES A., BEAUMONT C., 2005- La ferroportine, une nouvelle molécule pour la régulation du métabolisme du fer. Hématologie. vol. 10(6) : 453-63.
88. GUIRAUD P., FAVIER A., HORN N.,2003- Métabolisme du cuivre. Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Endocrinologie-Nutrition. vol. 10(359) : 1-10.
89. HALENG J., PINCEMAIL J., DEFRAIGNE J.O., CHARLIER C., CHAPELLE J.P., 2007- Le stress oxydant . Rev Med Liege. vol. 62(10) : 628-638 .
90. HARDMAN B., MANUELPIILLAI U., WALLACE E.M., VAN DE WAASENBURG S., CATER M., MERCER JF., ACKLAND ML., 2004- Expression and localization of menkes and Wilson copper transporting ATPases in human placenta. Placenta. vol. 25 : 512-517.
91. HARGREAVES B.J., KRONFELD D.S., WALDRON J.N., LOPES M.A., GAY L.S., SAKER K.E., COOPER W.L., SKLAN D.J., HARRIS P.A., 2002- Antioxidant status and muscle cell leakage during endurance exercise. Equine Vet J Suppl. vol. (34) : 116-121.
92. HARRIS Z.L., KLOMP L.W., GITLIN J.D., 1998- Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis. Am J Clin Nutr . vol. 67 : 972S-977S.
93. HARVEY T., 2011- Conséquences de la carence martiale au cours de la grossesse. Revues générales Obstétrique. vol. 158 : 1-7.
94. HERKLOTZ R., HUBER A., 2010- Diagnostic de laboratoire des troubles du métabolisme du fer. Forum Med Suisse. vol. 10(30-31) : 500-507.
95. HERNANDEZ S., TSUCHIYA Y., GARCIA-RUIZ JP., 2008- ATP7B copper-regulated traffic and association with the tight junctions : Copper excretion into the bile. Gastroenterology. vol. 134 : 1215-1223.
96. HILL L.M., 1978- Metabolism of uric acid in normal and toxemic pregnancy. Mayo Clinic Proceedings. vol. 53(11) : 743-751.
97. HIROZ P., ANTONINO A., DOERIG C., PACHE I., MORADPOUR D., 2011- La maladie de Wilson : un caméléon clinique auquel il faut penser. Rev Medical Suisse. vol. 7 : 1690-1695.

98. HRACSKO Z., SAFAR Z., ORVOS H., NOVAK Z., PAL A., VARGA I S., 2007- Evaluation of oxidative stress markers after vaginal delivery or cesarean section. *In Vivo*. vol. 21(4) : 703-706.
99. HUET O., DURANTEAU J., 2008- Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres
Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species. *Réanimation*. vol. 5(17) : 387-392.
100. HULSMANS M., VAN DOOREN E., HOLVOET P., 2012- Mitochondrial reactive oxygen species and risk of atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. Vol. 14 : 264-76.
101. HUSTER D., LUTSENKO S., 2007- Wilson disease: not just a copper disorder. Analysis of a Wilson disease model demonstrates the link between copper and lipid metabolism. *Mol Biolsyst*. vol. 3 : 814-816.
102. IGOR N., ZELKO., THOMAS J., MARIANI., and RODNEY J.F., 2002- Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine*. vol. 33(3) : 337-349.
103. Institute of Medicine., 2001- Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc . National Academy Press. vol. 727(7) : 224-234.
104. ITANO M., 1934- Iron and iron- binding capacity. vol. 70 : 516-522. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 100247.
105. IZQUIERDO ÁLVAREZ S., CASTAÑÓN S.G, RUATA M.L.C., 2007- Updating of normal levels of copper, zinc and selenium in serum of pregnant women. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. vol. 21(1) : 49-52.
106. JANSSON T. POWELL T.L., 2007- Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Lin Sci(Lond)*. vol. 113(1) : 1-13.
107. JONES D.P., PARK Y., GLETSU-MILLER N., 2011- Dietary sulfur amino acid effects on fasting plasma cysteine/cystine redox potential in humans. *Nutrition*. vol. 27(2) : 199-205.
108. KAPLAN A., 1984- Clin Chem. pp:436-650 Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001044.
109. KAPRALOV A., VLASOVA I.I., FENG W., MAEDA A., WALSON K., TYURIN VA., HUANG Z., ANEJA RK., CARCILLO J., BAYIR H., KAGAN VE., 2009- Peroxidase Activity of Hemoglobin. Haptoglobin Complexes. Covalent Aggregation and Oxidative Stress in Plasma and Macrophages. *J Biol Chem*. vol. 284(44) : 30395-30407.
110. KEEN C.L., 1998- Effect of copper deficiency on prenatal development and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr*. vol. 67 : 1003S.

111. KELLEHER S.L., LÖNNERDAL B., 2003- Marginal maternal Zn intake in rats alters mammary gland Cu transporter levels and milk Cu concentration and affects neonatal Cu metabolism. *J Nutr.* vol. 133 : 2141-2148.
112. KINSKY N., 1989- Antioxydants function of carotenoides. *Free Rad Biol Med.* vol. 7 : 617.
113. KOBAYASHI T., TSUNAWAKI S., SEGUCHI H., 2001- Evaluation of the process for superoxide production by NADPH oxidase in human neutrophils: evidence for cytoplasmic origin of superoxide. *Redox Rep.* vol. 6 : 27-36.
114. KUMAR N., BUTZ J., BURRITT M., 2007- Clinical significance of the laboratory determination of low serum copper in adults. *Clin Chem Lab Med.* vol. 45 : 1402-1410.
115. KUO Y.M., ZHOU B., COSCO D., GITSCHIER J., 2001- The copper transporter CTR1 provides an essential function in mammalian embryonic development. *Proc Natl Acad Sci.* vol. 98 : 6836-6841.
116. LA FONTAINE S., MERCER J.F., 2007- Trafficking of the copper-ATPases, ATP7A and ATP7B: role in copper homeostasis. *Arch Biochem Biophys.* vol. 463(2) : 149-67.
117. LAMBERT J.F., BERIS P., 2009- Pathophysiology and differential diagnosis of anaemia. In: Beaumont C, Beris P, Beuzard Y, Brugnara C, editors. Disorders of erythropoiesis, erythrocytes and iron metabolism. Ed. ESH, Paris. 139p.
118. LAMPRECHT M, GREILBERGER J, OETTL K., 2004- Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. *Nutrition.* vol. 20(7-8) : 728-730.
119. LEBANE D., AIT OUYAHIA B., VERT P., BREART G., 2009- Programme National Périnatalité . Ed. AMDS, Alger. 99p.
120. LEE J., 2001- Essentiality role for mammalian copper transporter Ctr1 in copper homeostasis and embryonic development. *Proc Natl Acad Sci.* vol. 98(12) : 6842-6847.
121. LEVALLOIS M.P., 2003- Larousse médical. 1^{ère} édition. Ed. Larousse, Paris. 499p.
122. LEVERVE X., 2009- Stress oxydant et antioxydants ?. *Médecine et Nutrition. Cahiers de nutrition et de diététique.* vol. 44(5) : 219-224.
123. LINDER M.C., WOOTER L., CERVEZA P., COTTON S., SHULZE R., LOMELI N., 1998- Copper transport. *Am J Clin Nutr.* vol. 67 : 965-971.
124. LONNERDAL B., 1998- Copper nutrition during infancy and childhood. *Am J Clin Nutr.* vol. 67 : 1046S-1053S.
125. LOREAL O., BRISSOT P., 2002- L'hepcidine : le Graal du métabolisme du fer ? Hpcidin: the Grail of iron metabolism. *Gastroentérologie Clinique et Biologique.* vol. 26(8-9) : 805-807.

126. LOURO M.O., COCHO J.A., TUTOR J.C., 2001- Assessment of copper status in pregnancy by means of determining the specific oxidase activity of ceruloplasmin. Clin Chim Acta. vol. 312(1-2) : 123-127.
127. LUNET N., RODRIGUES T., CORREIA S., BARROS H., 2008- Adequacy of prenatal care as a major determinant of folic acid, iron, and vitamin intake during pregnancy. Cad Saúde Pública. vol. 24(5) : 1151-1157.
128. LUSHCHAK V.I., 2011- Adaptive Response to Oxidative Stress: Bacteria, Fungi, Plants & Animals. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. vol. 153(2) : 175-190.
129. LUTSENKO S., BARNES N.L., MEE Y., BARTEE., OLEG Y., DMITRIEV., 2007- Function and Regulation of Human Copper-Transporting ATPases. Physiol Rev. vol. 87(10) : 1011–1046.
130. MADDUX B.A., SEE W., LAWRENCE J.C., JR., GOLDFINE A.L., GOLDFINE I.D., EVANS J.L., 2001- Protection against oxidative stress-induced insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentrations of alpha-lipoic acid. Diabetes. vol. 50 : 404-410.
131. MA J., BETTS NM., 2000- Zinc and copper intakes and their major food sources for older adults in 1994-1996 continuing survey of food intakes by individuals (CSFII). J Nutr . vol. 130 : 2838-2843.
132. MALEK-MELLOULI M., BEN AMARA F., LOUSSAIEF W., REZIGA H., 2013- statut du fer chez la femme enceinte et ses variations au cours de la prééclampsie. La tunisie Medicale. vol . 91(010) : 577-582.
133. MALTI N., MERZOUK H., MERZOUK S.A, LOUKIDI B., KARAOUZENE N., MALTI A., NACER M., 2014- Oxidative stress and maternal obesity : feto-placental unit interaction. Placenta. vol. 35(6) : 411-416.
134. MARNETT L.J., 1999- Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdéhyde . Mutation Research. vol. 424(0027) : 83-95.
135. MARRO S., CHIABRANDO D., MESSANA E., STOLTE J., TURCO E., TOLOSANO E., 2011- Heme controls ferroportin1 (fpn1) transcription involving bach1, nrf2 and a mare/are sequence motif at position -7007 of the fpn1 promoter. Haematologica. vol. 95 : 1261-1268.
136. MASATAKE I., KUNIHICO T.B., YOSHIHIRO S., TOKUMITSU W., NAOYUKI M., KENJI K., MASAMITSU F., TOSHIHIRO S., 1998- Analysis of functional domains of Wilson disease protein (ATP7B) in Saccharomyces cerevisiae . FEBS Letters. vol. 428 : 281-285.
137. MATON F., 2008- Fer et Sport. Nutrition and Diététique. vol. 1(927) : 1.
138. MC ARDLE H.J., 1995- The metabolism of copper during pregnancy: a review. Food Chem. vol. 54 : 79-84.

139. MCKIE A.T., BARROW D., LATUNDE-DADA G.O., 2001- An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* . vol. 291 : 1755-1759.
140. MELOV S., 2000- Mitochondrial oxidative stress. Physiologic consequences and potential for a role in aging. *Ann N Y Acad Sci*. vol. 908 : 219-225.
141. MEYER B.J., STEWART F.M., BROWN E.A., COONEY J., NILSSON S., OLIVECRONA G., RAMSAY J.E., GRIFFIN B.A., CASLKE M.J., FREEMAN D.J., 2013- Maternal obesity is associated With the formation of small dense LDL and hypoadiponectinemia in the third trimester. *J clin Endocrinol Metab*. vol. 98(2) : 643-562.
142. MILMAN N., 2006- Iron and pregnancy -a delicate balance. *Ann Hematol*. vol. 85 : 559-565.
143. MILMAN N., 2008- Prepartum anaemia: prevention and treatment. *Ann Hematol* . vol. 87 : 949-59.
144. MILMAN N., BERGHOLT T., BYG K.E., ERIKSEN L., HVAS A.M., 2007- Reference intervals for haematological variables during normal pregnancy and postpartum in 434 healthy Danish women. *Eur J Haematol*. vol. 79 : 39-46.
145. MILMAN N., OVESEN L., BYG K., 1999- Iron status in Danes updated 1994. I : Prevalence of iron deficiency and iron overload in 1332 men aged 40-70 years. Influence of blood donation, alcohol intake, and iron supplementation. *Ann Hematol*. vol. 78 : 393-400.
146. MIWA I., ICHMURA N., SUGIURA M., 2000- Inhibition of glucose-induced insulin secretion by 4-hydroxy 2-nonenal and other lipid peroxidation products. *Endocrinology*. vol. 141 : 2761-2772.
147. MOLLER L.B., CARSTEN PETERSEN B., CONNIE LUND A., HORN N., 2000- Characterization of the hCTR1 gene: genomic organization, functional expression, and identification of a highly homologous processed gene. *Gene*. vol. 257(1) : 13-22.
148. MONIQUE G.A., BONNEFONT-ROUSSELOT D., ABEDINZADEH Z., JORE D., 2003- Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. *l'actualité chimique*. (269-270) : 91-96.
149. MORROW J.D., 2000- The isoprostanes: their quantification as an index of oxidant stress status in vivo. *Drug Metab Rev* . vol. 32 : 377-385.
150. MORTIMER L., YOUNG B.K., 1978- Estrogens in Pregnancy. *Vitamins & Hormones*. vol. 35(8) : 109-147.
151. MUELLER A., KOEBNICK C. BINDER H. HOFFMANN I. SCHILD R.L. BECKMANN MW. DITTRICH R ., 2005-Placental defense is considered sufficient to control lipid peroxidation in pregnancy. *Med Hypotheses*. vol. 64(3) : 553-557.
152. MYATT L., 2010- Reactive oxygen and nitrogen species and functional adaptation of the placenta. *Placenta*. 31(1) : 66S-69S.

153. NAKAI A., OYA A., KOBE H., ASAKURA H., YOKOTA A., KOSHINO T., ARAKI T., 2000- Changes in maternal lipid peroxidation levels and antioxidant enzymatic activities before and after delivery. *J Nippon Med Sch.* vol .67 : 434-439.
154. NEMETH E., TUTTLE M.S., POWELSON J., VAUGHN M.B., DONOVAN A., WARD D.M., 2004- Hecpidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science.* vol. 306 : 2090-2093.
155. NICOLAS G., BENNOUN M., DEVAUX I., BEAUMONT C., GRANDCHAMP B., KAHN A., 2001- Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in Upstream Stimulatory Factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* vol. 98 : 8780-8785.
156. NICOLET-BAROUSSE L., SHARSHAR T., PAILLARD M., BLANCHARD A., 2002- La vasopressine : une hormone aux multiples fonctions. *Médecine thérapeutique.* vol. 7(10) : 757-764.
157. NIELSEN F., BO BORG M., BO NIELSEN J., ANDERSEN H.R., GRANDJEAN P., 1997- Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry.* vol. 43(7) : 1209-1214.
158. O'LEARY J.A., NOVALIS G.S., VOSBURGH G.J., 1966- Maternal serum copper concentration in normal and abnormal gestations. *Obstet Gynecol.* vol. 28 : 112-117.
159. OLIVIER B., AMANDA E., GREENE., JIANRONG L.I., HONG W, JOSEPH J., VOLPE., PAUL A., ROSENBERG., 2004- Glutathione Peroxidase–Catalase Cooperativity Is Required for Resistance to Hydrogen Peroxide by Mature Rat Oligodendrocytes. *The Journal of Neuroscience.* vol. 24(7) : 1531-1540.
160. OLIVIER L., BARDOU-JACQUET É., ISLAND M.L., FATIH N., DOYARD M., DETIVAUD L., BRISSOT P., 2012- Métabolisme du fer. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* vol.47(3) : 117-124.
161. OLIVIER L., BRICE C., PIGEON C., BRISSOT P., 2001- Métabolisme du fer. *Médecine thérapeutique.* vol. 7(5) : 340-345.
162. OLIVIER L., PIGEON C., DEUGNIER Y., PIERRE BRISSOT., 2000- Métabolisme du fer. *Gastroentérologie Clinique et Biologique.* vol. 24(5) : 56-61.
163. OMAR S., FEKI M., KAABACHI N., 2006- Le métabolisme du fer : revue générale et récents développements. *Ann Biol Clin.* vol. 64(6) : 523-34.
164. PAPANIKOLAOU G., TZILIANOS M., CHRISTAKIS J.I., BOGDANOS D., TSIMIRIKA K., MACFARLANE J., 2005- Hecpidin in iron overload disorders. *Blood .* vol. 105 : 4103-4105.

165. PARK J.E., O'BRIEN K.O., CHANG S.C., WITTER F.R., MANCINI J., HARRIS L., 2005- Serum copper concentrations in pregnant African-American adolescents. *FASEB J* . vol. 19 : 982.
166. PATIL S.B., KODLIWADMATH M.V., KODLIWADMATH S.M., 2007- Role of lipid peroxidation and enzymatic antioxidants in pregnancy-induced hypertension. *Clin Exp Obstet Gynecol*.vol. 34(4) : 239-241.
167. PENA M.M., LEE J., THIELE D.J., 1999- A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution. *J Nutr*. vol. 129(7) : 1251-1260.
168. PERKINS A.V., 2006- Endogenous anti-oxidants in pregnancy and preeclampsia. *Aust NZJ Obstet Gynaecol*. vol. 46(2) : 77-83.
169. PERRIN AE, SIMON C, 2002- Nutrition de la femme enceinte. *Cah Nutr Diet*.vol. 37(1) : 59-64.
170. PINCEMAIL J., LECOMTE J., COLLART E., CASTIAUX J.P.,DEFRAIGNE J.O., 2003- Stress oxydant, antioxydants et exercice physique . *MEDECINE INTERNE* . vol. 6 (5) : 1-3.
171. PINCEMAIL J., MEURISSE M., LIMET R., DEFRAIGNE J.O., 1999- Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*. vol . 4(4) : 1-4.
172. PORTNOY M.E., ROGERS R.S, CULOTTA V.C., 2001- Metal transporters that contribute copper to metallochaperones in *Saccharomyces*. *Mol Genet Genomics*. vol. 265 : 873-882.
173. PRASAD A.S., BREWER G.J., SCHOOMAKER E.B., RABBANI P., 1978- Hypocupremia induced by zinc therapy in adults. *JAMA*. vol. 240 : 2166-2168.
174. PROHASKA J.R., 2008- Role of copper transporters in copper homeostasis. *Am J Clin Nutr*. vol. 88(1) : 826S-829S.
175. PUIG S., THIELE D.J., 2002- Molecular mechanisms of copper uptake and distribution. *Curr Opin Chem Biol*. vol. 6(2) : 171-180.
176. PUTNAM C.D., ARVAI A.S., BOURNE Y., TAINER J.A., 2000- Active and inhibited human catalase structures: ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. *J Mol Biol* vol. 296 : 295-309.
177. QUINLAN G.J., MUMBY S., PEPPER J., GUTTERIDGE J.M., 1994- Plasma 4-hydroxy-2-nonenal levels during cardiopulmonary bypass, and their relationship to the iron-loading of transferrin. *Biochem Mol Biol Int* . vol. 34 : 1277-1282.
178. RICHARD M.J., BELLEVILLE F., CHALAS J., CEBALLOS-PICOT I., VITOUX D., BOYER M.J., CHAUDIERE J., FAVIER A., 1997- Glutathione peroxydase: their interest in clinical chemistry. *Annales de Biologie Clinique*. vol. 55(3) : 195-208.

179. ROBERT F., BEBIN K., GARRAU J.M., GUEROT J.F., FORET R., BRACK M., GARREL C., 2009- Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage. 41 : 173-178.
180. ROBLES R., PALOMITNTTO N., POBLES A., 2001- Oxidative stress in the neonate. Early Human Development. vol. 65 : 75-81.
181. ROCHETTE L., 2008- Stress oxydant et sepsis. Réanimation . vol. 3 : 1-4.
182. RÖSEN P., 2004- Diabetes und oxidativer Stress. Blickpunkt der Mann. vol. 23(3) : 2-24.
183. ROTRUCK J.T., POPE A.L., GANTHER H.E., SWANSON A.B., HAFEMAN D.G., HOEKSTRA W.G., 1973- Selenium : biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science. vol. 179 : 588-590.
184. RUTKOWSKI R., PANCEWICZ S.A., RUTKOWSKI K., RUTKOWSKA J., 2007- Reactive oxygen and nitrogen species in inflammatory process. Pol Merkur Lekarski. vol. 23 : 131-136.
185. RYMER J.C., 1996- Aspects récents du métabolisme du fer ; les outils biochimiques de son exploration. Hématologie. vol. 2(1) : 45-56.
186. SAINZ R.M., REITER R.J., MAYO J.C., CABRERA J., TAN D.X., QI W., GARCIA J.J., 2000- Changes in lipid peroxidation during pregnancy and after delivery in rats: effect of pinealectomy. Journal of Reproduction and Fertility . vol. 119 : 143-149.
187. SANTINI V., GIRELLI D., SANNA A., MARTINELLI N., DUCA L., CAMPOSTRINI N., 2011- Hepcidin levels and their determinants in different types of myelodysplastic syndromes. Clin Drug Invest. vol. 19(1) : 9-19.
188. SAYRE L.M., MOREIRA P.I., SMITH M.A., PERRY G., 2005- Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. Ann Ist Super Sanità. vol. 41(2) : 143-164.
189. SCHENKEN J.G., JIENGREIS E., POLISHIEK W.Z., 1969- Serum copper levels in normal and pathological pregnancies. Am J Obstet Gynecol. vol. 933-937.
190. SEN S., LYER C., MEYDANI S.N., 2014- Obesity during pregnancy alters maternal oxidant balance and micronutrient status. J perinatol. vol. 34(2) : 105-111.
191. SERTEYN D., MOUITHYS-MICKALAD A. FRANCK T. GRULKE S. LAMY M. DEBY C. DEBY-DUPONT G., 2002- La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. Ann Méd Vét. vol. 17(146) : 137-153.
192. SHEILA C., VIR M., SC., PH D., A H G., LOVE M.D., F.R. C.P., THOMPSON W., B SC., M.D., M.R.C.O.G., 1981- Serum and hair concentrations of copper during pregnancy. Ame Jor of Clinical Nutrition. vol. 34 : 2382-2388.
193. SILBERNAGL S., LANG F., 2002- Atlas de poche de physiopathologie.1ère édition. Ed. Corlet.SA.Condé sur-Noireau, France. 406p.

194. SPITELLER G., 2006- Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radical Biology Medicine*. vol. 41(3) : 362-387.
195. SUN Q., WANG X.R., DING S.M., YUAN X.F., 2005- Effects of interactions between cadmium and zinc on phytochelatin and glutathione production in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environ Toxicol*. vol. 20 : 195-201.
196. SUTTON A.M., HARVIE A., COCKBURN F., FARQUHARSON J., LOGAN R.W., 1985- Copper deficiency in the preterm infant of very low birth weight: four cases and a reference range for plasma copper. *Arch Dis Child* . vol. 60 : 644-651.
197. TAPIERO H., TOWNSEND D.M., TEW K.D., 2003- Trace elements in human physiology and pathology. Copper. *Biomed Pharmacother*. vol. 57(9) : 386-398.
198. TERRIER-LENGLLET A., NOLLET A., LIABEUF S., BARRETO D.V., BRAZIER M., HORST-DIETER L., VANHOLDER R., CHOUKROUN G., MASSY Z.A., 2011- Le malondialdéhyde est-il un facteur prédictif de mortalité chez les patients ayant une maladie rénale chronique ?. *Néphrologie et Thérapeutique*. vol. 7(4) : 219-224.
199. THERESA O., SCHOLL ., REILLY T., 2000- Anemia, Iron and Pregnancy Outcome. *J. Nutr*. vol. 130 : 443S-447S.
200. TIETZ N.W., AMERSON A.B., 1995- Clinical guide to laboratory tests .Ed. Saunders, Michigan. P: 931. Cité par fiche technique SPINREACT. Ref: 1001290.
201. TRIVIN F., 1998- Physiologie de la bilirubine. Hépatologie. In: EMC. Hépatologie: Elsevier Masson.
202. TROCELLOA J.M., CHAPPUISB P., EL BALKHIA S., POUPONC C.J., LEYENDECKERA A., CHAINEA P., WOIMANTA F., 2010- Anomalies du métabolisme du cuivre chez l'adulte. *La Revue de medecine interne*. vol. 31 (11) : 750–756.
203. ULLAH M.F., KHAN M.W., 2008- Food as medicine: potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic compounds. *Asian Pac J Canc Prev*. vol. 9 : 187-196.
204. USHAR K., NOZER K., 1998- Pregnancy induced hypertension . 1^{ère} édition. Ed. Harcshlal R Seneviratne; Chandrikan Wijeyaraine, India. 15671p.
205. VALDIGUIE P., 2000- Biochimie clinique. 2^{ème} édition. Ed. U.E , France. 355p.
206. VALERY A., ROMUALD C., DRAGOSLAV M., COLLIN P., LOMRI A., 2007- Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales . *Revue du rhumatisme*. vol. 74(7) : 636-643.

207. VALKO M., LEIBFRITZ D., MONCOL J., CRONIN M.T.D., MAZUR M., TELSER J., 2007- Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* vol. 39 : 44-84.
208. VAN RAAMSDONK J.M., SIEGFRIED., 2012- Hekimi Superoxide dismutase is dispensable for normal animal life span. *PNAS Genetics.* vol. 109(15) : 5785-5790.
209. VASSILIEV V., HAITIS Z.L., ZATTA P., 2005- «Ceruloplasmin in neurodegenerative diseases». *Brain Res Brain Res Rev.* vol. 49(3) : 633-640.
210. VAULONT S., 2014- Le métabolisme du fer : vers de nouveaux horizons. *Annales d'Endocrinologie.* vol. 75(5-6) : 252.
211. VELASCO J., MARMESAT S., MARQUEZ-RUIZ G., DOBARGANES M.C., 2004- Formation of short-chain glycerol-bound oxidation products and oxidised monomeric triacylglycerols during deep-frying and occurrence in used frying fats. *Eur J Lipid Sci Technol.* vol. 106 : 728.
212. VERIT F.F., EREL O., SAV M., CEUX N., CÂDIRCI D., 2007- Oxidative stress is associated with clinical severity of nausea and vomiting of pregnancy. *Am J Perinatol.* vol. 24(5) : 283-289.
213. VIGNAIS P.V., 2002- The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell Mol Life Sci.* vol. 59 : 1428-1459.
214. VOET D., VOET J.G., 2004- Biochimie. 2ème édition. Ed. De Boeck. 1600p.
215. VULPE C.D., KUO Y.M., MURPHY T.L., 1999- Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet .* vol. 21 : 195-199.
216. WALDVOGEL S., ABRAMOWSKI., FAVRAT B., VAUCHER P., CORNUZ J., TISSOT J.D., 2013- Marqueurs diagnostiques de la carence en fer : lequel choisir ?. *Rev Med Suisse .* vol. 9 : 380-383.
217. WALSH S.W., WANG Y., 1993a- Deficient glutathione peroxidase activity in preeclampsia is associated with increased placental production of thromboxane and lipid peroxides *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* vol. 169 : 1456-1461.
218. WALSH SW., WANG Y., 1993b- Secretion of lipid peroxides by the human placenta. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* vol. 169 : 1462-1466.
219. WATSON T.A., CALLISTER R., TAYLOR R.D., SIBBRITT D.W., MACDONALD-WICKS L.K., GARG M.L., 2005- Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise. *Med Sci Sports Exerc.* vol. 37(1) : 63-71.
220. WECKBEKER G., CORY J.G., 1988- Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters.* vol. 40 : 257-264.

221. WEINBERGER B., NTSAR S., ANWAR M., OSTFELD B., HEGYI T., 2006- Lipid peroxidation in cord blood and neonatal outcome. *Pediatr In.* vol. 48(5) : 479-783.
222. WEISS G., GOODNOUGH L.T., 2005- Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* . vol. 352 : 1011-23.
223. WIDDOWSON E.M., DAUNCEY J., SHAW J., 1974- Trace elements in fetal and early post-natal development. *Proc Nutr Soc.* vol. 33 : 275-284.
224. WILLIAMS D.M., 1983- Copper deficiency in humans. *Semin Hematol.* vol. 20 : 118-128.
225. WILLIANNE I.M., PRIM DE BIE V., CATHARINA G.K., WICHERS PETER V.E., BERGHE V.D., VAN DER PLAATS R., BERGER R., WIJMENGA C., LEO W.J., KLOMP., VAN DE SLUIS B., 2012- The copper-transporting capacity of ATP7A mutants associated with Menkes disease is ameliorated by COMMD1 as a result of improved protein expression. *Cellular and Molecular Life Sciences.* vol. 69 : 149-163.
226. YAGI K., 1976- Simple Fluorometric Assay for lipoperoxyde in blood plasma. *Biochemical. Medecine.* vol. (15) : 212-216.
227. YANG C.S., LEE J.S., RODGERS M., MIN C.K., LEE J.Y., KIM H.J., LEE K.H., KIM C.J., OH B., ZANDI E., YUE Z., KRAMNIK I., LIANG C., JUNG J.U., 2012- Autophagy Protein Rubicon Mediates Phagocytic NADPH Oxidase Activation in Response to Microbial Infection or TLR Stimulation. *Cell Host & Microbe.* vol. 11 : 264-276.
228. ZABLOCKA A., JANUSZ M., 2008- The two faces of reactive oxygen species. *Postepy Hig Med Dosw.* vol. 62 : 118-124.
229. ZACHARSKI L.R., ORNSTEIN D.L., WOLOSHIN S., 2000- Association of age, sex, and race with body iron stores in adults : Analysis of NHANES III data. *Am Heart J.* vol. 140 : 98-104.
230. ZAHID A., AFOULOUS S., CAZALIS R., 2008- Thioredoxin h system and wheat seed quality. *Cereal Chemistry.* vol. 85(6) : 799-807.
231. ZELKO I.N., MARIANI T.J., FOLZ R.J., 2002- Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine.* vol. 33(3) : 337.

Annexes



Annexe 01

Fiche questionnaire

Concernant les femmes témoins et les femmes enceintes de notre étude

1.Femme :

2.Age :

3.Trimestre de grossesse : 1^{ère} 2^{ème} 3^{ème}

4.Maladies associés à la grossesse :Oui

Non

4.1.Si oui les quelles ?

5.Avortement :

Oui

Non

Si oui

5.1. Quelle est le nombres d'avortement:

5.2. Quelle est le type d'avortement : Naturelle

Provoqué

6.Avortement dans la famille :

Oui

Non

7.Opération dans l'accouchement : Oui

Non

8.Nombre des enfants :

9 .Notion de consanguinité :

Oui

Non

10.Région d'habitat :

11.Age de puberté :

12.Période de mariage :

13. Boire de thé :

Oui

Non

14.Traitement par des herboristes : Oui

Non

Annexe 02

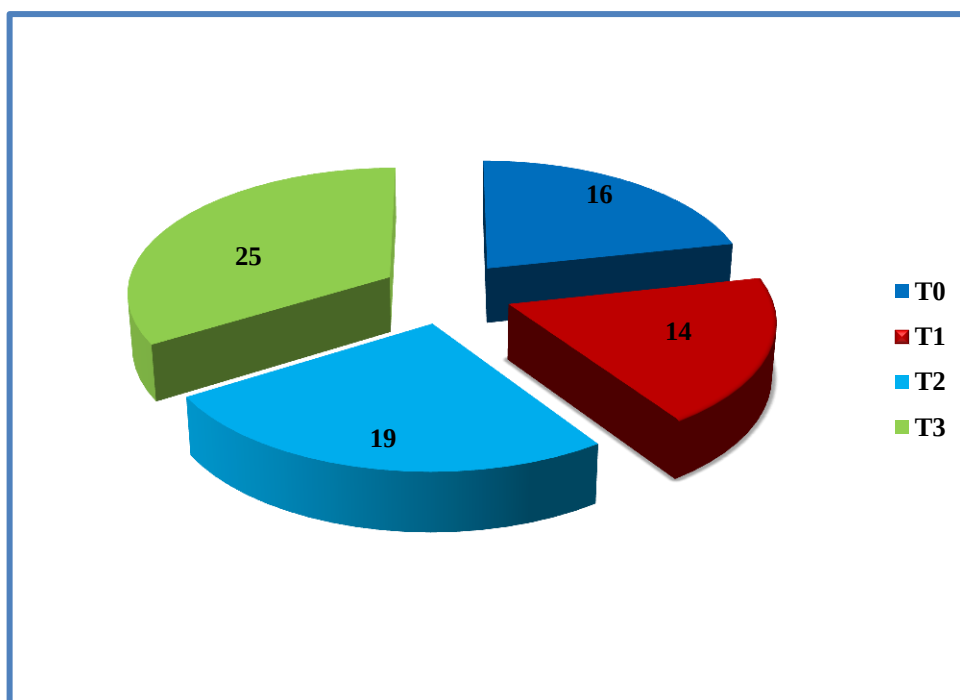


Figure 32 : Répartition des populations d'étude des femmes enceintes et des témoins.

Annexe 03

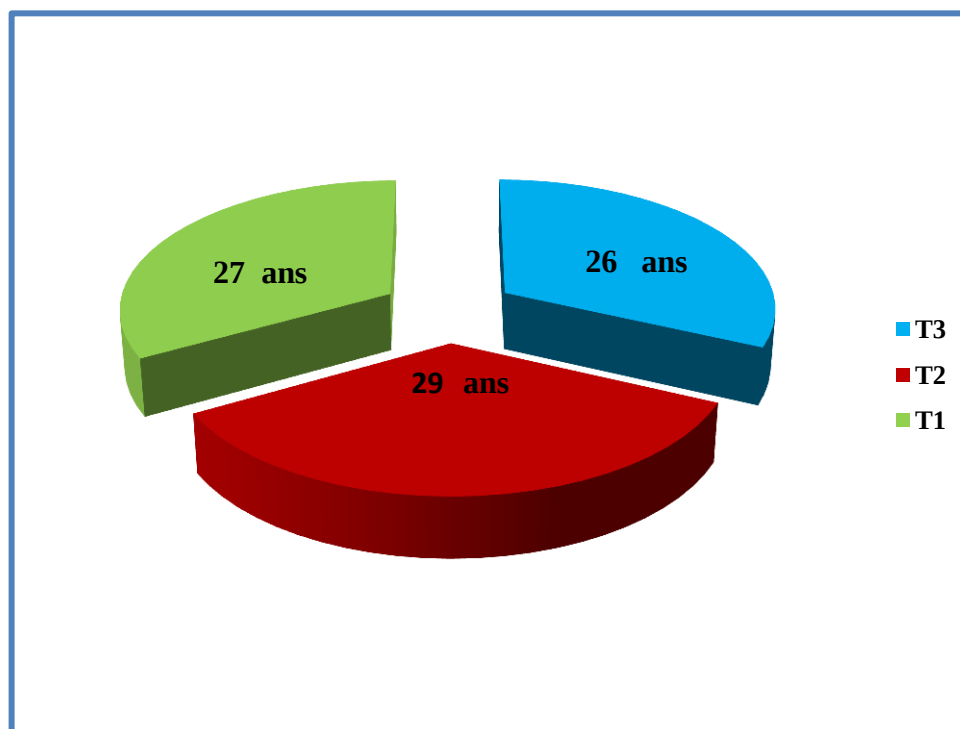


Figure 33 : Répartition de l'âge des femmes enceintes pendant les trois trimestre de grossesse.

Annexe 04

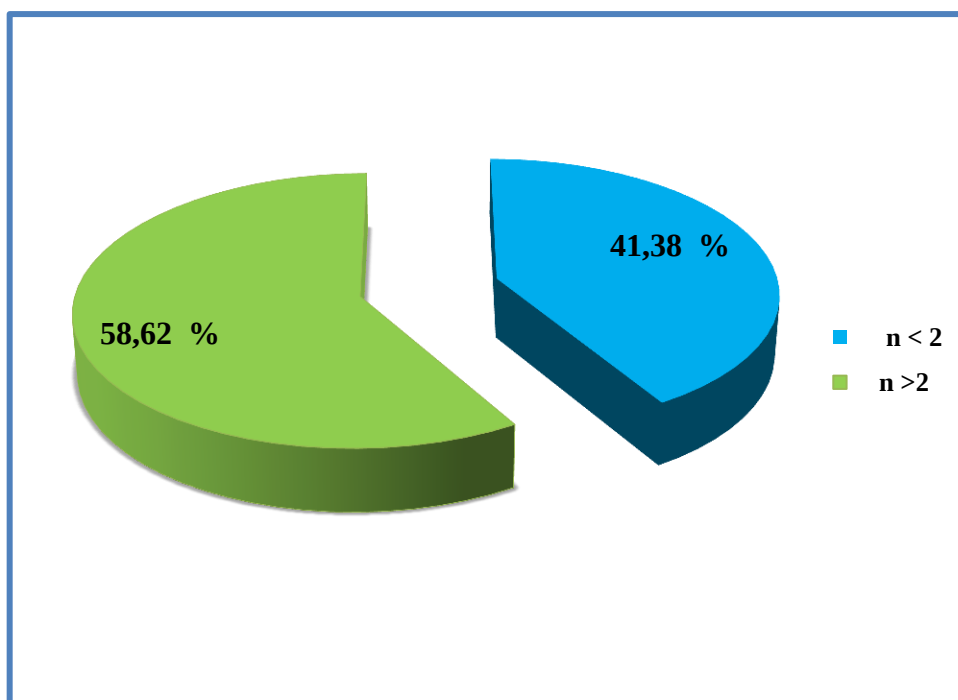


Figure 34 : Répartition du nombre de bébé des femmes enceintes .

Annexe 05

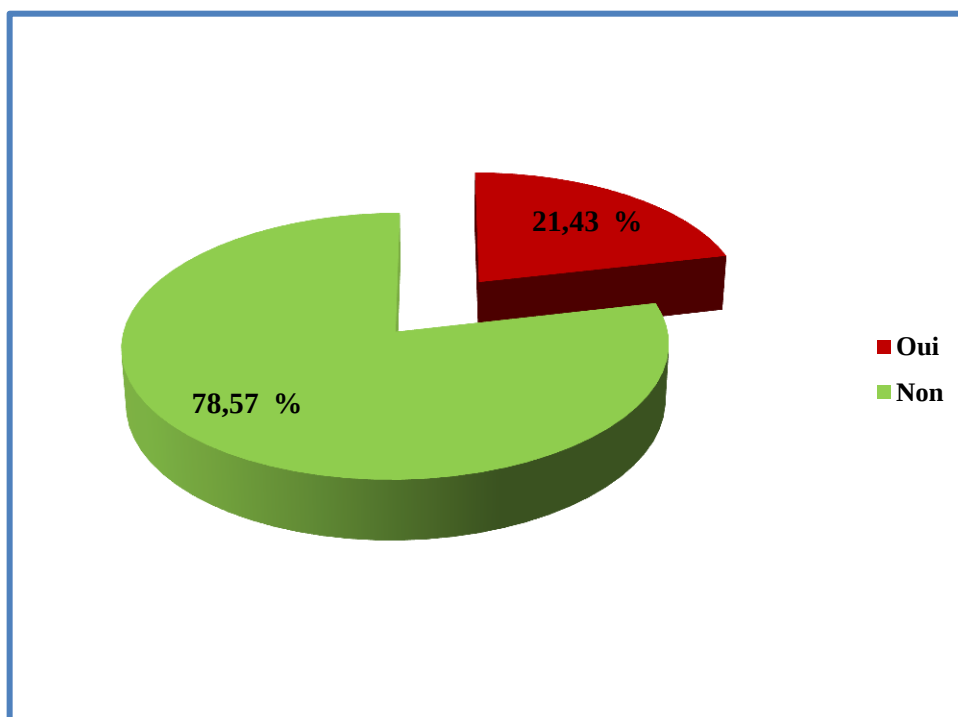


Figure 35 : Pourcentage de l'état d'avortement chez les femmes enceintes pendant le premier trimestre de grossesse.

Annexe 06

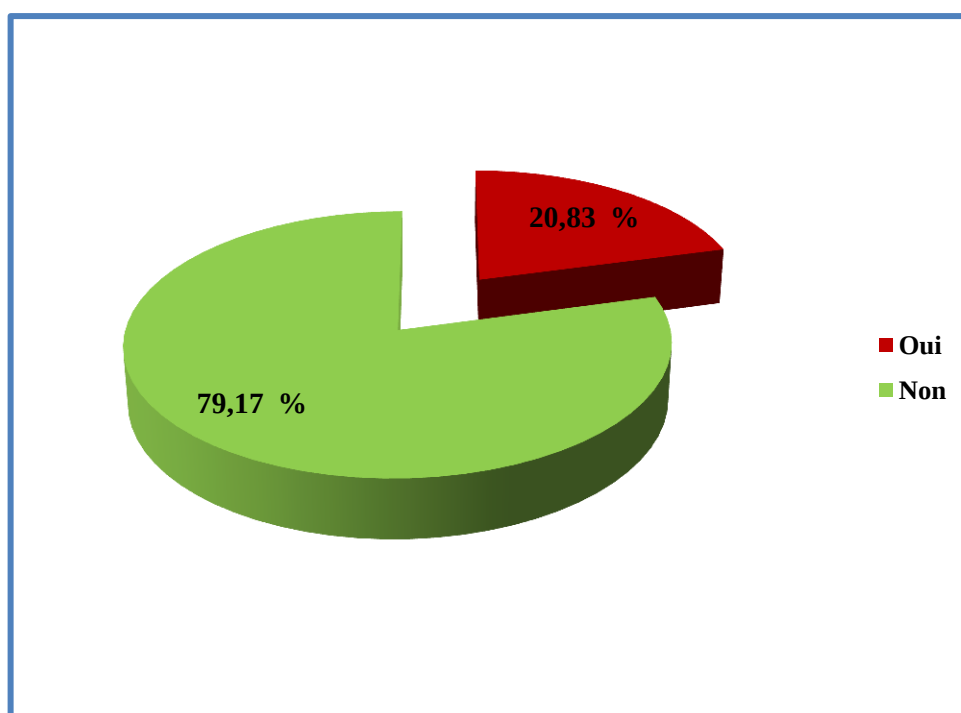


Figure 36 : Pourcentage de l'état d'avortement chez les femmes enceintes pendant le deuxième trimestre de grossesse.

Annexe 07

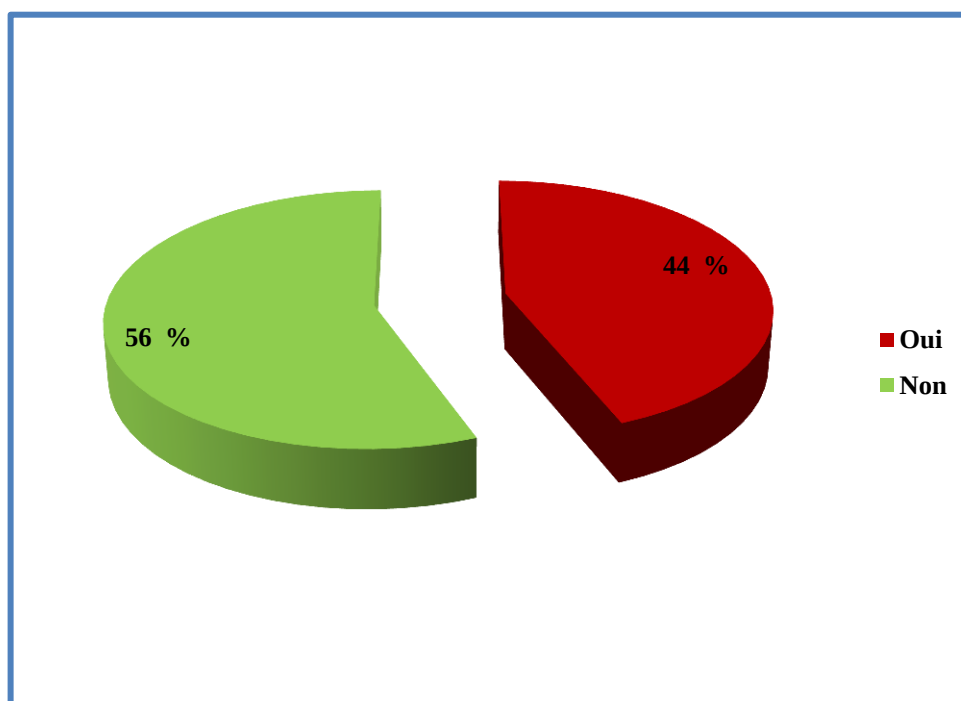


Figure 37: Pourcentage de l'état d'avortement chez les femmes enceintes pendant le troisième trimestre de grossesse.

Résumé

Le but de notre travail est de contribuer à l'amélioration de la qualité de la surveillance de la grossesse contre les altérations métaboliques et le stress oxydant chez les femmes enceintes dans la région d'El oued. Notre étude a été réalisée sur 74 femmes ayant une moyenne d'âges de 20 à 38 ans inclus des femmes non enceintes (témoins) et des femmes enceintes en différents trimestres de grossesse. Les résultats de notre étude montrent une grave altération métabolique caractérisée par une normo glycémie et une variation de la concentration des protéines, de fer et de cuivre sérique chez les femmes enceintes notamment pendant le troisième trimestre de grossesse par rapport aux femmes non enceintes. Par ailleurs notre résultat montre aussi une diminution progressive du taux d'hémoglobine et d'hématocrite à la longue de période de grossesse chez les femmes enceintes en comparaison avec les témoins. En effet l'augmentation de la peroxydation lipidique et la diminution significative de GSH, acide urique et pouvoir antioxydant totale ORAC au niveau de sérum et érythrocytes des femmes enceintes notamment pendant le troisième trimestre de grossesse montre clairement l'évolution de l'état de stress oxydatif associé à la grossesse chez les femmes enceintes d'une part et le rôle d'un supplément systématique de fer sur le développement de cet état chez les femmes enceintes d'autre part. En conclusion, la présente étude suggère que la grossesse est un état physiologique caractérisé par une perturbation métabolique et un stress oxydant contribue à l'initiation et la progression des complications associées à la grossesse. Toutefois, un supplément contrôlé en fer et un régime équilibré riche en antioxydants pourrait corriger l'anémie et le stress oxydatif et améliorer la qualité de la vie d'une femme pendant la grossesse pour assurer une bonne santé de la mère et un bon développement fœtal.

Mots clés : Grossesse, fer, cuivre, stress oxydatif.

المخلص

الهدف من هذا العمل هو المساهمة في تحسين نوعية مراقبة الحمل من الاختلالات الأيضية و الإجهاد التأكسدي لدى النساء الحوامل من منطقة واد سوف. هذه الدراسة أجريت على 74 عينة شملت مجموعة من النساء الغير حوامل والنساء الحوامل في مختلف مراحل الحمل تتراوح أعمارهن ما بين 20 و 38 سنة. نتائج هذه الدراسة تظهر اختلالات أيضية حادة تميزت بمعدل طبيعي لنسبة السكر في الدم و اختلالا في تركيز البروتين، الحديد والنحاس في مصل الدم لدى النساء الحوامل خاصة في الثلث الأخير من الحمل مقارنة بالنساء الغير حوامل. بالإضافة إلى ذلك نتائجنأ أظهرت انخفاض تدريجي وحاد في معدل الهيموغلوبين و الهيماتوكريت طوال فترة الحمل مقارنة مع النساء الغير حوامل. إن الزيادة في أكسدة الدهون من جهة و انخفاض في معدلات حمض اليوريك، الجلوتاثيون المختزل و إجمالي مضادات الأكسدة في مصل الدم للنساء الحوامل خاصة خلال الثلث الثالث من الحمل تدل بوضوح على تطور حالة الإجهاد التأكسدي المرتبطة بالحمل ودور كمكاملات الحديد في تطوير هذه الحالة. في الختام، هذه الدراسة تشير إلى أن الحمل هو حالة فزيولوجية تتميز باختلالات أيضية وبإجهاد تأكسدي يساهم في ظهور وتطور المضاعفات المرتبطة بالحمل. ومع ذلك فإن تناول كمكاملات الحديد تحت الرقابة والحمية الغذائية الغنية بمضادات الأكسدة يمكن أن تصحح فقر الدم و حالة الإجهاد التأكسدي وتحسن في نوعية حياة المرأة الحامل لضمان حالة صحية جيدة للام و الجنين معا.

الكلمات المفتاحية: الحمل، الحديد، النحاس، الإجهاد التأكسدي.

