



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :

Souad HALIS

Le : mercredi 30 septembre 2020

Thème

**Maladie d'Alzheimer: modifications biochimiques
histopathologiques et implication du stress
oxydatif**

Jury :

Mme. Halima LAMRI	MAA	Université de Biskra	Président
Mme. Mouna GUEROUI	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
M. Ahmed ATHAMNA	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019 - 2020

Remerciement

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidée dans la rédaction de ce mémoire.

Je voudrais dans un premier temps remercier, mon directeur de mémoire Dr GUEROUM, Maître de conférence B en Biochimie à l'université de Biskra, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire :

M. Bensmara qui m'a beaucoup appris sur les défis à relever dans le monde des affaires.

Il a partagé ses connaissances et expériences dans ce milieu, tout en m'accordant sa confiance et une large indépendance dans l'exécution de missions de valorisation.

M. Abbas, pour m'avoir accordé des entretiens et avoir répondu à mes questions sur le prélèvement ainsi que son expérience personnelle. Il a été d'un grand soutien dans l'élaboration de ce mémoire.

Mes parents, pour leur soutien constant et leurs encouragements.

Dédicace

A mon très cher père

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A ma très chère mère

Quoi que je fasse au que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon bras droit, merci de si bien accomplir ton rôle. Merci de de me prêter ton épaule quand j'en ai de besoin Khawla et son mari Fouad

A mes très chers frères Alla, Ahmad, Mohamed et Souhaib, et mes chères sœurs Salsabile, nadjwa, Amel et Marawaet surtout ma belle hiba

A mes chères amis Safa et Chaima et Halima

A mes chers anciles Hassan, Hani, Fayçal, Amer, Khalil, Mody, Walid et Rabiaa

A mes chères tantes Hasina, Nasira, Yamina, Fatima, Dalila, Houria, Saadia et Karima

Puisse dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

Liste d'abréviation

- **AA : Amyloïde A**
- **A β : Amyloïde B**
- **AD : Alzheimer disease**
- **ADN : Acide Désoxyribonucléique**
- **AF : Acide Formique**
- **APOA : Apolipoproréines A**
- **APOE : Apolipoproréines E**
- **APP : Protéine précurseur de l'amyloïde**
- **APPtot : Protéine précurseur de l'amyloïde totale**
- **ARN : Acide ribonucléique**
- **BBB : Brain barrierblood**
- **BACE1 : β -sécrétase-1**
- **CAT : Catalase**
- **CLHP : Chromatographie en phase liquide à haute performance**
- **CK : Créatine kinase**
- **CRP : C-reactiveprotein**
- **DHA : Docosahexaenoicacid**
- **DMSO : Sulfoxyde de diméthyle**
- **DNF : Dégénérescence neurofibrillaire**
- **DO : Densité optique**
- **DTNB : Acide 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque**
- **EILSA : Enzyme-linkedimmunosorbentassay**
- **EPA : Eicosapentaenoicacid**
- **EPN : Evaporation de nanosuspension**
- **FOX : Ferrousoxidation-xyleneol orange**
- **GSH : Glutathione**
- **GPX : Glutathioneperoxidase**
- **GR : Glutathion réductase**
- **HAMA : Anticorps anti-murine humain**
- **HDL : Lipoprotéines de haute densité**
- **HO : Hème oxygénase**
- **IgG : Immunoglobuline G**

- **IL6 : Interleukine 6**
- **IL10 : Interleukin10**
- **LCR : Liquide céphalo-rachidien**
- **LDL : Lipoprotéines de faible densité**
- **MA : Maladie d'Alzheimer**
- **MAPT : Protéine associée aux microtubules**
- **MPAC : Composé atténuant les protéines métalliques**
- **MDA : Malondialdehyde**
- **NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit**
- **NFT : Enchevêtrements neurofibrillaires**
- **NO : Oxyde nitrique**
- **OA β :Oligomère amyloïde β**
- **PBS : Phosphate Buffer Salin**
- **PS1 : Présénile 1**
- **PS2 : Présénile 2**
- **P-Tau : Tubulin-associates unit phosphorylé**
- **ROS : Reactiveoxygenspecies**
- **RNS : Reactivenitrogenspecies**
- **SNC : Système nerveux central**
- **SOD : Superoxyde dismutase**
- **STZ : Streptozotocin**
- **TVN : Enchevêtrements neurofibrillaires**
- **Tau : Tubulin-associates unit**
- **TAC : Capacité antioxydante totale**
- **TBA : Acide thiobarbiturique**
- **TBRS : Thiobarbituricacidreacting substances**
- **TBS : BeganinTris-buffered saline**
- **TC : Cholestérol total**
- **TG : Triglycérides**
- **TMB : Tétraméthylbenzidine**
- **TNF- α : Tumornecrosis factor alpha**
- **T-Tau : Tau totale**
- **WST : Water-solubletetrazolium**

- **8-OHG : 8-hydroxy-2désoxyguanosine**
- **4HNE : 4-hydroxy-2-nonéal**

Liste des tableaux

✓ Tableau I .la progression de la maladie d'Alzheimer.....	5
✓ Tableau II .thérapie pour le traitement lié au tau	14
✓ Tableau III . Nombre, âge et sexe des patients ainsi que des témoins.....	15
✓ Tableau IV .Etudes chez l'homme : Effets des paramètres biochimiques.....	16
✓ Tableau V .Etudes chez l'homme : Effets des paramètres du stress oxydatif.....	17
✓ Tableau VI .Études chez l'animal : évaluation des paramètres biochimiques et des paramètres du stress oxydatif.....	18
✓ Tableau VII . résultats de l'APP dans LCR.....	34
✓ Tableau VIII . les résultats des vitamines E, D, B12.....	38
✓ Tableau IX . résultats du glutathion réduit.....	40
✓ Tableau X . résultats de la capacité antioxydant totale sérique, l'oxyde nitrique plasmatique et activité totale de l'hème oxygénase	42

Liste des figures

- **Figure I .** La maladie d'Alzheimer.....4
- **Figure II .** le clivage de l'APP.....7
- **Figure III .** stabilisation des microtubules par la protéine tau et hyperphosphorylation anormale des protéines tau.....8
- **Figure IV.** cible des essais cliniques contre tau.....10
- **Figure V.** les principales stratégies adoptées dans les essais cliniques pour réduire la charge amyloïde.....12
- **Figure VI.** diverses voies de formation de ROS.....13
- **Figure VII.** la stress oxydatif dans la maladie d'Alzheimer.....14
- **Figure VIII.** immunohistochimie des cerveaux atteints de la MA.....39
- **Figure IX.** résultat typique de la coloration par activité fluorescente de l'isoenzyme CK AD et du cortex SMT témoin séparé par non-dénaturation a provoqué une électrophorèse.....44
- **Figure X.** analyse immunohistochimique des formes modifiée d'A β dans le vieillissement du cerveau Tg2576.....45
- **Figure XI.** Pathologie de l'AD-STG.....45
- **Figure XII .** 4-HNE immunoréactivité dans AD- et contrôle-STG.....46
- **Figure XIII.** Résultats corrélatifs de l'activité HO, SOD, CAT et Prx avec la pathologie AD.....46

Sommaire

- Liste des tableaux
- Liste des figures
- Liste des abréviations
- Introduction.....1

Première partie : PARTIE THEORIQUE

Chapitre 1 : Des notions générales sur la maladie

1. Définition4
2. Stades du développement4
3. Symptômes6
4. Etiologie.....6
5. Physiopathologie.....7
 - 5.1. Béta amyloïde et plaque amyloïde.....7
 - 5.2. Pathologie des protéines Tau.....7

Chapitre 2 : Le diagnostic, les traitements et l'implication du stress oxydatif

1. Diagnostique.....10
2. Traitement.....10
3. Stress oxydatif.....12
 - 3.1. Les radicaux libres.....12
 - 3.2. Systèmes de défense.....13
 - 3.3. Implication du stress oxydatif dans la MA.....14

DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

- 1-Matériel biologique et protocole expérimental.....16
 - 1.1. Travail réalisé.....16
 - 1.2. Articles analysés.....16
 - 1.2.1. Prélèvement sanguin.....19
 - 1.2.2. Ponction lombaire.....20
 - 1.2.3. Prélèvement des urines.....20

1.2.4.	Prélèvement des organes.....	20
1.3.	Technique Immunohistochimiques.....	22
1.4.	Les analyses statistiques.....	23
2.	Méthode d'analyses biochimiques.....	24
2.1.	Dosage du cholestérol total (CT) et detriglycérides (TG).....	24
2.2.	Dosage du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDLc).....	24
2.3.	Dosage d'apolipoprotéines (ApoE, ApoA-1).....	24
2.4.	Dosage de l'ascorbate et les sulfhydryles plasmatiques.....	24
2.5.	Détermination de l'activité CK (créatine kinase).....	24
2.6.	Dosage des protéines	25
2.6.1.	Les concentrations en α APP et β APP dans le LCR.....	25
2.6.2.	Les niveaux en APP total dans le LCR (totAPP).....	25
2.6.2.1.	Détermination à l'aide d'ELIZA sandwich de l'APP.....	25
2.6.3.	Détermination des protéines Tau	26
2.7.	Détermination des protéines $A\beta$	26
2.8.	Quantification des concentrations plasmatiques d' $OA\beta$ (L' $OA\beta$).....	26
2.9.	Dosage des concentrations sériques de sensibilité élevée d'IL-6 (interleukin 6), d'IL10 et de TNF- α (tumor necrosis factor alpha).....	27
2.10.	Dosage des hormones.....	27
2.11.	Dosage des vitamines.....	27
3.	Méthodes de détermination quantitative des paramètres du stress oxydatif.....	28
3.1.	Détermination de l'activité enzymatique SOD.....	28
3.2.	Détermination de l'activité enzymatique GSH-Px.....	28
3.3.	Dosage de GSH tissulaire.....	28
3.4.	Dosage de 8-hydroxy-2désoxyguanosine (8-OHDG).....	29
3.5.	Dosage de 4-HNE.....	29
3.6.	Détermination de l'activité enzymatique GR.....	29
3.7.	Détermination de l'activité enzymatique CAT.....	29
3.8.	La capacité antioxydante totale sérique (TAC).....	29
3.9.	Estimation de la peroxydation lipidique.....	29
3.9.1.	Les niveaux du peroxyde d'hydrogène.....	30
3.10.	Dosage de l'oxyde nitrique plasmatique (NO).....	30

3.11. Détermination d'activité totale de l'hème oxygénase (HO).....	30
3.12. Détermination de l'activité de la caspase.....	31

Chapitre 4 : Résultats et discussion

1. Evaluation des paramètres biochimiques.....	33
1.1. Cholestérol total	33
1.2. Apolipoprotéines (APOE, A-1)	33
1.3. L' α APP, β APP et l'APP total (totAPP) dans le LCR	33
1.4. Détermination des protéines Tau	34
1.4.1. La concentration de T-tau dans le LCR	34
1.4.2. La concentration de tau phosphorylé à la thréonine 181.....	34
1.5. Détermination des protéines A β	34
1.6. Quantification des concentrations plasmatiques d'OA β (L'OA β)	35
1.7. Les concentrations sériques de sensibilité élevée d'IL-6, d'IL10 et de TNF- α	35
1.8. Dosage des hormones	36
1.9. Dosage des vitamines	37
1.10. L'ascorbate et les sulfhydryles plasmatiques	38
1.11. Analyse de l'activité CK	38
2. Marqueurs biologiques du stress oxydant.....	39
2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	39
2.2. Le superoxyde dismutase	39
2.3. La peroxydation lipidique.....	39
2.4. La glutathion peroxydase.....	39
2.5. Le glutathion réduit	40
2.6. Le 8-OHDG	40
2.7. Le 4-HNE	40
2.8. La glutathion réductase	41
2.9. La catalase.....	41
2.10. La capacité antioxydant totale sérique, l'oxyde nitrique plasmatique et Activité totale de l'hème oxygénase.....	41
2.11. Estimation de la peroxydation.....	42
2.12. Activité de la Caspase	42
3. Etude de technique immunohistochimique.....	42

3.1. Les plaques carottées apparaissent tôt dans le cerveau Tg2576	42
3.2. Cerveau Tg2576 et augmente avec le vieillissement à un niveau comme celui vu dans le cerveau AD	43
3.3. N-terminale modifie A β s s'accumulent dans le vieillissement du cerveau Tg2576...	44
3.4. Détection de pathologie avancée A β mais tôt tau dans AD-ST.....	44
3.5. Évaluation des dommages oxydatifs dans l'AD-STG	45
4. Corrélations entre les marqueurs biochimiques et la pathologie MA	45
Conclusion	48
Référence bibliographique	50
Résumé	

Introduction

Introduction

La démence est un syndrome caractérisé par une perturbation de plusieurs fonctions cérébrales, y compris la mémoire, la pensée, l'orientation, la compréhension, le calcul, la capacité d'apprentissage, le langage et le jugement. la conscience n'est pas obscurcie. Les altérations de la fonction cognitive sont généralement accompagnées, et parfois précédées, d'une détérioration du contrôle émotionnel, du comportement social ou de la motivation. (Duthey et Tanna, 2013).

La maladie d'Alzheimer (MA) est la forme la plus courante de démence neurodégénérative chronique irréversible chez les personnes âgées (El Kadmiri *et al*, 2017) et se caractérise par des altérations cognitive, à savoir des troubles de la mémoire épisodiques progressifs, qui finissent par entraîner la perte d'autonomie du patients (Ceyzériat *et al* ., 2020).

On estime que plus de 5 millions de personnes vivent avec la MA aux Etats-Unis, et on prévoit que d'ici 2025, il y aura une augmentation moyenne de 50% des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. (Crews et Masliah, 2010).

C'est une maladie multifactorielle dans laquelle le vieillissement, l'alimentation, l'obésité et la détresse à la vie interviennent (Balmuş *et al*, 2017). Mais aussi l'accumulation extracellulaire de plaques amyloïdes- β , et de la formation d'enchevêtrements neurofibrillaires de tau hyperphosphorylés, de la neuroinflammation, des lésions neurales ainsi que la perte de synapse (Agahi *et al*, 2018).

Le diagnostic est basé uniquement sur les symptômes cliniques présents des lacunes, en particulier dans la phase prodromique (Henrique *et al*, 2018). Par ailleurs, les biomarqueurs peuvent aider à la détection de la pathologie dans des fluides biologiques, tels que le sang, le liquide céphalo-rachidien(LCR) ou un niveau tissulaire (El Kadmiri *et al*, 2017).

Néanmoins, même s'il existe actuellement des traitements qui éliminent un ou plusieurs symptômes de la démence, il n'existe aucun traitement qui guérit ou ralentisse la progression de la maladie (Gokce *et al*, 2019) .D'autre stratégies thérapeutiques seront nécessaires pour modifier la pathologie sous-jacente de la MA, se sont concentrées sur l'inhibition de la biogenèse de l'A β (l'inhibition des sécrétases), ou la promotion de son apprentissage (l'immunothérapie A β) (Lannfelt *et al*, 2004)

Le stress oxydatif, qui est défini comme un déséquilibre dans les pro-oxydants et les antioxydants avec perturbation associée des circuits redox et des dommages macromoléculaires.

Il a été reconnu comme un facteur contribuant au vieillissement et à la progression de multiples maladies neurodégénératives, y compris la MA (Tönnies et Trushina, 2017).

Dans des études récentes, le stress oxydatif semble jouer un rôle important dans la pathogenèse de la MA (Agahi *et al*, 2018). Des rapports font prouver une augmentation de l'oxydation de l'ADN (acide désoxyribonucléique) leucocytaire des Alzheimer, un taux élevé des radicaux libres et une altération d'activité SOD (superoxyde dismutase) dans le plasma et diminution de l'activité antioxydants (McGRATH *et al*, 2001).

A cela la description approfondie des mécanismes biochimiques du cerveau qui a révélé ses besoins élevés en ressources en oxygène et sa structure spéciale membranaire riche en lipides, conduit à la conclusion que le tissu cérébrale est extrêmement sensible au stress oxydatif (Balmuş *et al*, 2017).

Notre travail est intéressé à étudier la maladie d'Alzheimer chez les personnes âgées ainsi que l'implication du stress oxydatif et aussi les altérations au niveau tissulaire.

Pour cela, nous avons réalisé notre travail en deux parties :

- ❖ la partie théorique qui subdivisée à deux chapitres
 - ✚ Chapitre 1 : a traité des notions générales sur la maladie
 - ✚ Chapitre 2 : a pris en considération le diagnostic, les traitements et l'implication du stress oxydatif
- ❖ La partie expérimentale basée sur l'analyse de 15 articles scientifique, dont les objectifs sont :
 - ✚ Evaluation des paramètres biochimiques y compris cholestérol, les vitamines (E, D, B12), les hormones, taux de (APP, A β , Tau), les facteurs d'inflammation ...etc.
 - ✚ Evaluation des paramètres du stress oxydatif : superoxyde dismutase, catalase, glutathionetc.
 - ✚ Examen histologique

Chapitre 1

Des notions générales sur la maladie

I. Définition

La maladie d'Alzheimer (MA) est la cause la plus courante de démence, représentant environ 60% à 80% des cas (Alzheimer's Association, 2020).

La MA est une maladie neurodégénérative chronique avec des mécanismes physiopathologiques bien définis, affectant principalement le lobe temporal médial et les structures néocorticales associatives. (De-Paula *et al.*, 2012). Elle se caractérise par une détérioration cognitive progressive associée à une diminution des activités de la vie quotidienne et des changements de comportement (Khan *et al.*, 2016). Ce n'est pas une partie normale du vieillissement. Alzheimer s'aggrave avec le temps, bien que les symptômes peuvent varier considérablement (Alzheimer Association, 2016).

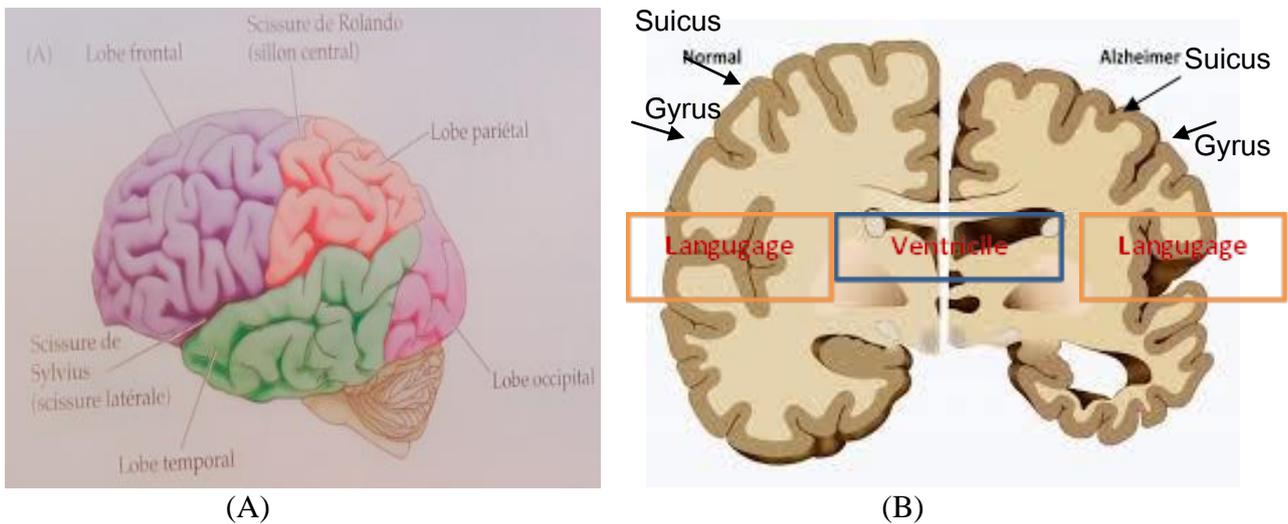


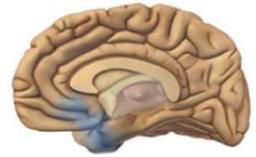
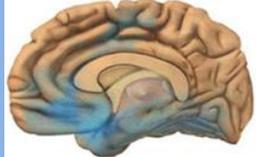
Figure 1.A. Anatomie de surface d'un hémisphère cérébral (Purves, 2013)

1.B . La maladie d'Alzheimer (Caglayan *et al.*, 2014)

II. Stades du développement

Les personnes atteintes de démence Alzheimer présentent de multiples symptômes qui changent au fil des ans. Ces symptômes reflètent le degré de dommages aux neurones dans différentes parties du cerveau. Le rythme auquel les symptômes passent de légers à modérés à graves varie d'une personne à l'autre (Alzheimer's Association, 2018).

Tableau 1.La progression de la maladie d’Alzheimer (Giordani *et al*(2018) ., Reisberg *etal* (2014))

	Description	Duration
<p>Légère maladie d’Alzheimer (stade précoce)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ✚ La maladie se propage aux lobes latéraux temporaux et pariétaux 	<p>2 ans</p>
<p>Maladie d’Alzheimer modérée (stade intermédiaire)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ✚ La maladie se propage au lobe frontal 	<p>2 ans</p>
<p>Maladie d’Alzheimer grave (stade avancé)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ✚ La maladie se propage au lobe occipital ; ✚ les plaques et les enchevêtrements se propagent dans tout le cerveau ; ✚ le tissu cérébral se rétrécit considérablement. 	<p>3 Ans</p>

III.Symptômes

- ❖ Perte de mémoire qui perturbe la vie quotidienne (Alzheimer's Association, 2019).
- ❖ perte de vision et de coordination (Giordani *et al.*,2018) ;
- ❖ confusion avec le temps ou le lieu (Alzheimer's Association, 2019) ;
- ❖ communication déficiente ;
- ❖ manque de jugement ;
- ❖ changements de comportement ;
- ❖ difficulté à parler, à avaler et à marcher (Alzheimer's Association, 2018).

IV.Etiologie

- ✚ les dommages neuronaux observés dans la MA sont liés au dépôt de protéines anormales à l'intérieur et à l'extérieur des neurones. Ce sont les lésions pathologiques distinctives de la MA connues sous le nom de « **plaques et enchevêtrements** ».
 - Les « **enchevêtrements neurofibrillaires** » (TVN) sont des agrégats intracellulaires de protéine **tau** (tubulin-associated unit) anormalement hyperphosphorylée;
 - les accumulations extracellulaires de **protéines amyloïdes de séniles plaques** sont constituées de protéines amyloïdes-bêta insolubles (A β) (Korolev., 2014).
- ✚ Autres facteurs de risque peuvent aussi être en cause :
 - l'âge ; la génétique et le niveau d'éducation (Bhushan *et al.*, 2018) ;
 - problèmes de santé concomitants : dépression grave, cardiovasculaire (Bhushan *et al.*, 2017) ;
 - les personnes ayant des antécédents de diabète, d'hypertension, d'obésité et de tabagisme (Korolev, 2014).

V. Physiopathologie

➤ Béta amyloïde et plaque amyloïde

- Les plaques amyloïdes sont principalement composées de peptides amyloïde β ($A\beta$) agrégés qui sont produits après un clivage séquentiel de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) par la β -sécrétase (BACE1) et la γ -sécrétase. Des mutations génétiques dans APP, Présénile 1 (PS1) ou PS2, les deux sous-unités de la γ -sécrétase, sont responsable de formes familiales de la MA (Ceyzériat *et al.*, 2020).

Bien que les plaques amyloïdes se trouvent dans le milieu extracellulaire, la production, l'oligomérisation et l'accumulation d' $A\beta$ se fait au niveau neuronal avec la possibilité que l'incorporation des agrégats dans les plaques, produit après les neuropathies inflammatoires sont dissoutes (Mokhtar *et al.*, 2013).

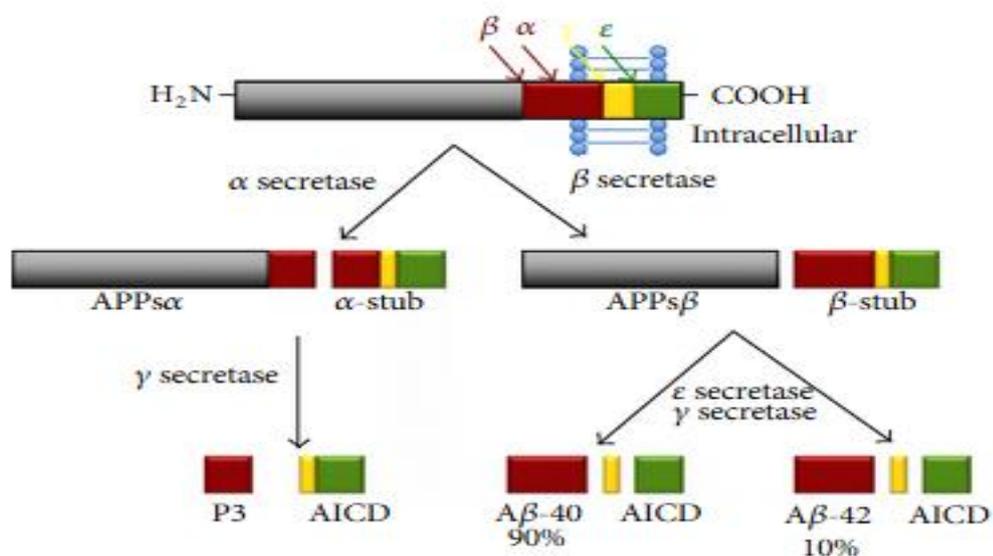


Figure 2. Le clivage de l'APP (Mokhtar *et al.*, 2013).

➤ Pathologie des protéines Tau

Tau, une protéine associée aux microtubules (MAPT), polymérise des tubules en microtubules et participe à l'entretien de la microarchitecture complexe des cellules neuronales, comme l'assemblage et la stabilisation des microtubules, en particulier dans l'axone (Gao *et al.*, 2018). La protéine tau est une composante intégrale du cytosquelette neuronal, avec un poids moléculaire variant de 45 kDa à 65 kDa (Mokhtar *et al.*, 2013).

Dans la MA, le tau nativement déplié devient hyperphosphorylé et, en perdant son affinité pour les microtubules, tend à s'agréger – formant éventuellement des enchevêtrements neurofibrillaires (NFT). Les NFT nuisent au transport axonal, entraînent une perte de synapse,

un dysfonctionnement cytosquelettique et mitochondrial, ainsi qu'une perte de mémoire (Gao *et al.*, 2018).

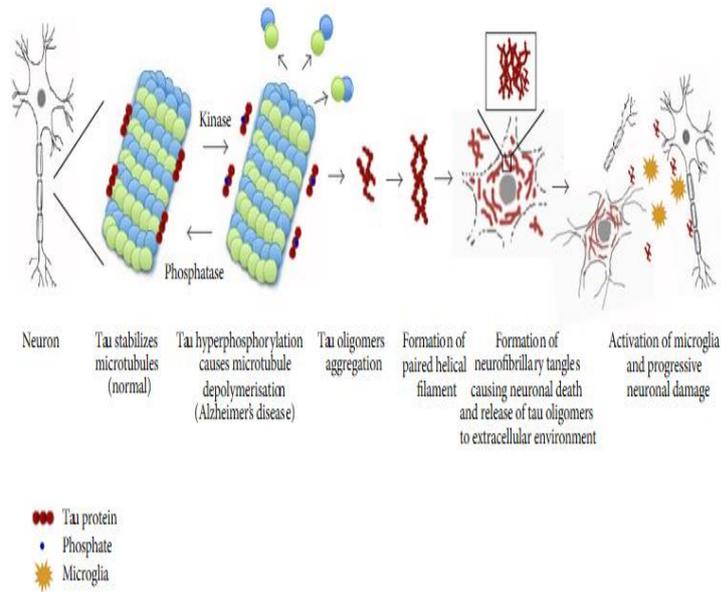


Figure 3. Stabilisation des microtubules par la protéine tau et hyperphosphorylation anormale des protéines tau (Mokhtar *et al.*, 2013)

Chapitre 02

Diagnostique,

Traitement et

Implication du Stress

Oxydatif

1. Diagnostique

➤ Critères de diagnostic

En premier lieu, il est important de distinguer les syndromes de démence des autres affections qui peuvent les imiter, comme la dépression, le délire et les troubles cognitifs légers, une fois le syndrome de démence est reconnu, le diagnostic d'un sous-type est important parce qu'il peut déterminer le type de traitement possible. (Bhushan *et al.*, 2017)

➤ Méthodes de dépistages

D'autres évaluations peuvent comprendre un test sanguin ou urinaire, un tomodensitogramme ou une IRM du cerveau et un dépistage de la dépression. (Alzheimer's association, 2019)

2. Traitement

- ✚ Diminution des protéines ou des agrégats tau hyperphosphorylés toxiques (tableau 2). (Ceyzériat *et al.*, 2020).



Figure 4. Cibles des essais cliniques contre Tau (Ceyzériat *et al.*, 2020).

Tableau 1.thérapie pour le traitement lié au tau (Yu G *et al.*,2018)

Approche	Mécanismes
<i>Inhibition de la phosphorylation</i>	
Humanine (HN)	Restores activation of PP2A
Magnésium	Inhibe GSK-3 β
Silencing [I2 PP2A]	sauve PP2A et inhibe GSK-3 β
Dihydropyridines	Réduit les niveaux généraux de tau
Activateurs Pin1	Régule la phosphorylation tau
<i>Parcours coopératifs</i>	
Nobiletin	Réduit le stress oxydatif et l'hyperphosphorylation tau
MTC	Stimule l'autophagie et réduit le tau soluble et le tau hyperphosphorylé
Selp-H	Régule l'équilibre redox et l'homéostasie des métaux, atténue les altérations de la synapse
Shogaol–huprine hybrides	Inhibe l'agrégation de tau et l'activité antioxydante
Tolfénamique acid	Abaisse l'ARNm tau, les niveaux de sa forme phosphorylée et CDK5
Cannabinoïdes	Inhiber l'hyperphosphorylation tau et l'inflammation
Caféine	Inhiber l'hyperphosphorylation tau, l'inflammation et le stress oxydatif
<i>Ciblant une autre voie</i>	
Trolox	Réduit le stress oxydatif
Oligonucléotide	Alters tau expression

✚ Médicaments à base de plantes

L'entrée de médicaments dans le système nerveux central (SNC) à partir du système circulatoire est régie par la barrière hémato-encéphalique (Brain Barrier Blood: BBB), et le franchissement du BBB est un problème critique pour les médicaments contre la MA. Bien que de nombreux composés simples extraits d'herbes ont été trouvés pour ce faire et donc manifester leur puissance thérapeutique dans le cerveau. (Simunkova *et al.*, 2019).

✚ les principales stratégies adoptées dans les essais cliniques pour réduire la charge amyloïde. (Ceyzériat *et al.*, 2020).

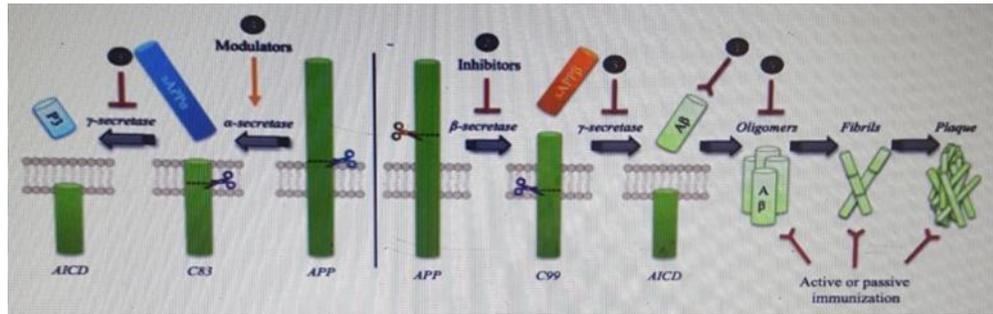


Figure 5. Les principales stratégies adoptées dans les essais cliniques pour réduire la charge amyloïde (Ceyzériat *et al.*, 2020).

3. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est un grave déséquilibre entre la production d'espèces réactives d'oxygène (Reactive Oxygen Species : ROS), et d'espèces réactives de l'azote (Reactive Nitrogen Species : RNS), et les défenses antioxydantes (Butterfield et Helliwe ,2019) Il joue un rôle important dans le développement des maladies neurodégénératives (Nds)comme la MA. (Teixeira *et al* , 2019).

3.1. Les radicaux libres

Les ROS sont des molécules très réactives car elles ont un ou plusieurs électrons de valence non appariés. Ces espèces peuvent être des radicaux libres dérivés de l'oxygène, tels que l'anion de superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le radical hydroxyle (OH), ou des dérivés non radicalaires comme c'est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). (Teixeira *et al.*, 2019).

Dans le cerveau, ces espèces peuvent être générées par des sources exogènes, telles que les médicaments dans lesquels le mécanisme d'action est médié par ROS. Toutefois, il existe aussi des sources endogènes, où la production de ROS est médiée par des enzymes mitochondriales et non mitochondriales, y compris le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase (NOX), xanthine oxydase. (Teixeira *et al.*, 2019).

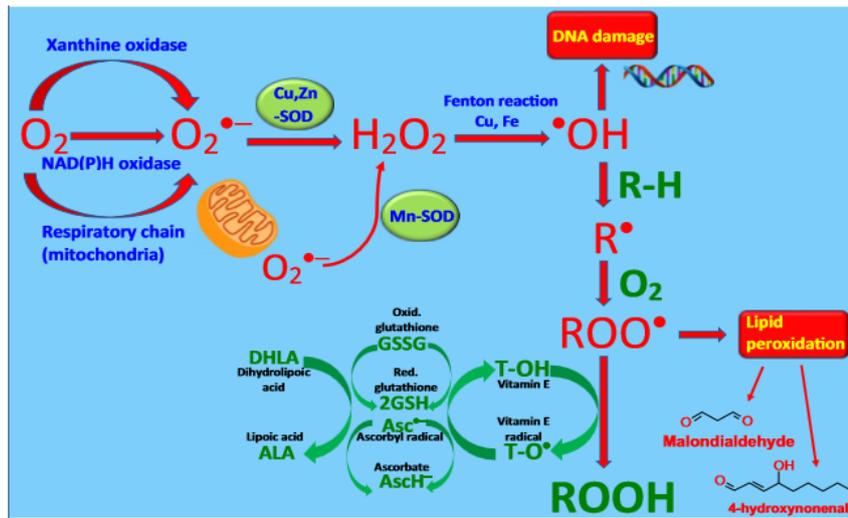


Figure 6. Diverses voies de formation de ROS (Simunkova *et al.*, 2019)

3.2. Systèmes de défense

- Les vitamines : vitamine E (Butterfield et Helliwell ,2019), vitamine C (acide ascorbique), agissant comme un agent réducteur, en réduisant les métaux de transition (Fe^{3+} et Cu^{2+}) (Teixeira *et al.*2019).
- Trois systèmes enzymatiques antioxydants sont connus : superoxyde dismutase(SOD) catalase (CAT), peroxyde d'hydrogène dismutase, glutathion (GSH), glutathion peroxydase (GPx ou GSH-Px) et la glutathion réductase (GR ou GSH-Rd) (Teixeira *et al* ,2019).
- Polyphénols (Butterfield et Helliwell, 2019).

3.3. Implication du stress oxydatif dans la MA

Le schéma montre comment le stress oxydatif peut être induit par un dysfonctionnement mitochondrial, un métabolisme des métaux, une inflammation, un tau hyperphosphorylé et une accumulation d'A β dans la MA. En outre, les produits d'oxydation du stress dans le cerveau, comme le 8-hydroxyguanine (8-OHG), le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonela (4-HNE), peuvent être utilisés pour le diagnostic de la MA. Enfin, compte tenu du rôle essentiel du stress oxydatif dans la MA, des antioxydants peuvent être utilisés pour le traitement (Chenet *et al.*, 2014).

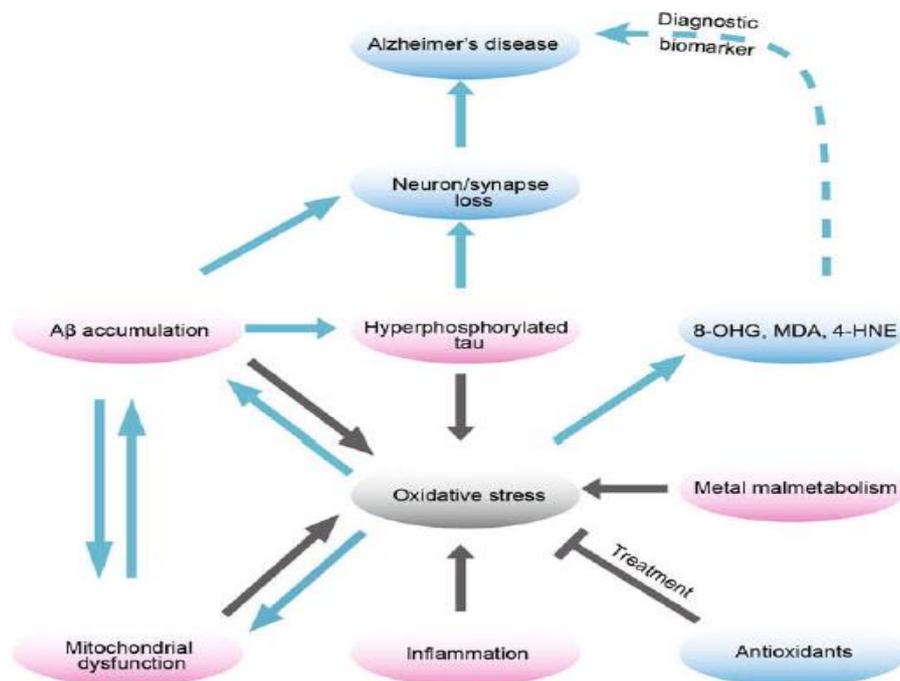


Figure 7. Le stress oxydatif dans la maladie d'Alzheimer (Chen *et al.*, 2014)

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre 03

Matériel et méthodes

1-Matériel biologique et protocole expérimental

1.1. Travail réalisé

Durant la période de 28 Janvier à 19 Mars 2020, un travail préliminaire s'est réalisé au niveau du laboratoire biochimique /Etablissement Public Hospitalier Ziouchi Mohamed /Biskra, nous avons intéressé principalement :

- a. Aux personnes souffrant de la maladie d'Alzheimer de la région de Biskra. Le tableau 3résume les points suivants:

Tableau 3. Nombre, âge et sexe des patients ainsi que des témoins

	Patients	Témoins
Nombre	15	07
Âge (ans)	60 – 107	59 – 99
Sexe	Hommes, femmes	Hommes, femmes

- ✓ Les témoins sont des volontaires, ont été choisis d'après leur état de santé en ne présentant aucune maladie chronique, auto-immune, inflammatoire, ne sont pas des fumeurs, ni alcooliques.
- b. Au recueil du sang veineux à partir de ces malades et conservation des sérums, selon les étapes suivantes :
 - ✓ le prélèvement a été effectué de 08h à 10h du matin à jeun après au moins 12 heures du dernier repas ;
 - ✓ le sang a été immédiatement recueilli sur tubes secs bien étiquetés ;
 - ✓ une centrifugation de 1500 tours/min pendant 10 min est nécessaire ;
 - ✓ une conservation du sérum à -20°C est très importante jusqu'à le moment d'utilisation pour ne pas altérer les paramètres à doser.
- c. À une enquête avec les proches des patients sur leur mode de vie, la durée de la maladie, les maladies associées et aussi leur alimentation,...

1.2. Articles analysés

Les deux tableaux ci-dessous résument le protocole expérimental de certaines études, intéressées à la maladie d'Alzheimer.

Tableau 4. Etudes chez l'homme (paramètres biochimiques)

Etudes	Témoins M/F	Patient M/F	Âge (année)	Échantillons	Traitement / duration	Etudes biochimiques
Aksenov et al (2000)	06	06	80-81	Autopsie de gyrus temporal supérieure	/	CK (créatinine kinase)
McGRATH et al (2001)	46 18/28	29 11/18	56-87	sérum	/	Vitamine E , Ascorbate, cholestérol totaux
Squitti et al (2002)	34 22/12	25 6/19	70	Sérum Urine 24 h	la D-pénicillamine pendant 6mois	APOE
Höglund et al (2005)	19 Patients	75-76	/	LCR plasma	La simvastatine (20 mg/jour) Pendant 12mois	HDL, LDL, APOE, APPIot, LCR (α, β APP)
Laniffet et al (2008)	78 Patients	58-83	/	Sérum LCR	Le PBT2** : 50mg 250mg Le placebo Pendant 12 semaines	Aβ ₄₀₋₄₂ , T-tau, P-tau ₁₈₁
Buerger et al (2009)	15 53%	17 47%	42-87	Sérum LCR	/	Aβ ₄₀₋₄₂ , T-tau, P-tau ₁₈₁ , APOE
Mattsson et al (2000)	304 142/162	529 192/337	44-91	LCR	/	Aβ ₄₀₋₄₂ , T-tau, P-tau ₁₈₁
Shang et al (2018)	200 102/98	295 186/109	75-79	sérum	/	EPA, ADH, adiponectine, leptine, HDL, LDL
Meng et al (2019)	28 7/21	30 15/15	71-79	Sérum	/	Quantification des [OAβ]
Gokce et al (2019)	80 patients en Groupe A/B ▪	76	/	Sérum	/	HDL, LDL, TGA, vitamine D, B12

** **PBT2** : est un composé atténuant les protéines métalliques (MPAC) qui affecte l'oligomérisation Cu-médiée et Zn-médiée de l'A β observée dans la maladie d'Alzheimer.

▪ **Groupe A** : sous le point de référence ; ▪ **Groupe B** : au-dessous le point de référence (des valeurs de référence des marqueurs biochimiques selon (Khosrow et Cin, 2015))

Tableau 5. Etudes chez l'homme (paramètres du stress oxydatif)

Etudes	Témoins M/F	Patients M/F	Age (ans)	Échantillons	Traitement / duration	Etudes de stress oxydatif
Balmuş <i>et al</i> (2017)	15 53.3%/46.6%	15 60% /40%	62-65	sérum	/	SOD, GPx, MDA
Agahi <i>et al</i> (2018)	23 10/13	25 7/18	79-80	Sérum	Le placebo et la supplémentation probiotique* Témoins : 500mg de maltodextrine patients : un mélange de bactéries probiotiques. ½ jours.	TAC, MDA, GSH, 8-OHdG, NO
Youssef <i>et al</i> (2018)	19	19	/	Gyrus temporel supérieur	/	SOD, GPx, CAT, Prx, HO

*Les souches de probiotiques : ce sont des souches dérivées du tractus intestinal humain, Elles ont été préparées sous forme de deux types de capsules contenant chacune 3 bactéries, y compris soit *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, et *Bifidobacterium lactis* ou *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Bifidobacterium longum*.

Tableau 6. Études chez l'animal

Etudes	Animale	Âge (année)	Échantillons	Traitement / durée	Evaluation
Kawara bayashiet al (2001)	Des souris transgéniques et des portées non transgéniques	1-25 mois	Sérum LCR Hémi cerveau	/	A β
Kheradmand et al (2018)	49 rat males	/	sérum	Streptozotocin (STZ)	SOD, CAT, GPx, GRx, GSH, MDA, peroxydation lipidique, teneur protéiques

1.2.1. Prélèvement sanguin

La prise du sang veineux à jeun, suivi par la récupération du plasma et/ou sérum, pour effectuer un certain nombre d'analyses biochimiques, a été réalisée en suivant presque la même technique (Shang *et al.* , 2018 ; Balmuş *et al.* , 2017 ; Agahi *et al.* , 2018 ; Buerger *et al.* , 2009 ; Squitti *et al.* , 2002 ; McGRATH *et al.* , 2000 ; Kheradmand *et al.* , 2018 ; Lannfelt *et al.* , 2008 ; Gokce *et al.* , 2019 ; Kawarabayashi *et al.* , 2001 ; Meng *et al.* , 2019).

- ✓ le sang prélevé a été immédiatement recueilli sur deux types de tubes d'analyses biologiques polyéthylènes et étiquetés : soit tube sec, tube héparine, tube EDTA (Éthylène Diamine Tétra-Acétique),
- ✓ les échantillons mélangés doucement, devraient être maintenus à 4°C tout au long de la préparation,
- ✓ une centrifugation est obligatoire à 3000g pendant 10 min à 4°C afin de séparer le plasma/sérum du culot, qui est ensuite aliquoté dans des tubes de polypropylène et stocké à -80 °C.

Prélèvement chez le rat

Selon Kheradmand *et al* (2018), les rats anesthésiés par voie intrapéritonéale, avec du chlorhydrate de kétamine (100 mg/kg) et de la xylazine (5mg/kg) et maintenus en place sur un cadre stéréotaxique.

- ✓ La canule guide en acier inoxydable (calibre 21) est implantée unilatéralement dans le ventricule latéral

- ✓ il a ensuite été fixé au crâne avec du ciment dentaire acrylique. Par la suite, tous les animaux des groupes expérimentaux ont été atteints unilatéralement de 3 mg/kg d'une injection intracérébroventriculaire de streptozotocine (icv-STZ).
- ✓ on était Synthèse du nanocrystal d'Hespérétain : Le nanocrystal de Hst a été préparé par précipitation par évaporation de nanosuspension (EPN) selon la méthode de fabrication. Briefly, Hst a été dissous dans l'éthanol (5mg/1ml), puis une nanosuspension a été formée par l'ajout rapide de n-hexane comme anti-solvant (le rapport éthanol-n-hexane était de 1/20 par volume). nano-Hst a été obtenu par évaporation sous vide du solvant et de l'anti-solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Selon kawarabayashi *et al* (2001), le plasma a été recueilli dans 0,1 % d'EDTA et le LCR a été obtenu selon la méthode de Carp et al. Ensuite, le plasma, le LCR et ont été stockés à 280°C.

1.2.2. Ponction lombaire

La ponction lombaire, qui est un examen consiste à prélever du liquide céphalo-rachidien (LCR), dans le bas du dos a été réalisée selon le protocole décrit ci-dessous, d'après les études de Höglund *et al.* , 2005 ;Buerger *et al.* , 2009 ; Mattsson *et al.* , 2009 ;Lannfelt *et al.* , 2008 et de Kawarabayashi *et al.* , 2001.

- a. Pratiquer le prélèvement le matin dans des conditions normales.
- b. Utiliser une petite aiguille de jauge de l'espace L3-4 ou L4-5 pour obtenir le LCR
- c. Recueillir le liquide dans des tubes en polypropylène, pour éviter l'adsorption des peptides et des protéines sur la paroi du tube à essai.
- d. Mélanger soigneusement à la main et retirer 1-3 ml pour des tests standards (numérotation cellulaire, analyses des protéines ...).
- e. Centrifuger les échantillons du LCR, à 2000g pendant 10 min à +4°C puis congeler à -80°C.

1.2.3. Prélèvement des urines

Les urines ont été recueillies pendant 24 heures par le soignant et conservées à -80°C jusqu'au dosage (Squitti *etal.* , 2002).

1.2.4. Prélèvement des organes

A. Chez l'homme

Des échantillons du gyrus temporal supérieur et moyen obtenus lors de l'autopsie du cerveau, sont immédiatement placés dans de l'azote liquide et stockés à -270 °C (Aksenov *etal.* , 2000 ;Kawarabayashi *et al.* , 2001 ; Priscilla *et al.* , 2018).

- + Ces prélèvements tissulaires sont ensuite décongelés, hachés et mis en suspension dans un tampon HEPES de 10 mM (pH 7.4), dont la composition est la suivante : 137 mM NaCl, 4.6 mM KCl, 1.1 mM KH_2PO_4 , 0.6 mM MgSO_4 , inhibiteurs de la protéinase (la leupeptine 0.5 mg/ml et la pepstatine 0.7 mg/ml), inhibiteur de la trypsine du soja de type IIS (0.5 mg/ml) et le fluorure de phénylméthylsulfonyle (40 mg/ml),
- + les homogénats ont été centrifugés à 16000 g pendant 10 min ou 13 000 g pendant 5 min pour éliminer les débris, le surnageant utilisé pour les tests biochimiques et immunologiques.

Et selon Meng *et al* (2019), Pour la quantification de la BM257;cation, les aliquotes stockées ont été traitées selon le protocole suivant :

- + 1ml d'échantillon +3ml d'acide nitrique 65% + 2ml de peroxyde d'hydrogène dans des récipients sous pression TFM décontaminés qui ont été insérés dans Speedwave MWS-2 produit par Berghof
- + la digestion des échantillons comportait les étapes suivantes : 145 °C pour 5 min, 190 °C pour 10 min et 100 °C pour 10 min
- + Après la digestion par micro-ondes, les échantillons ont été transférés dans 25ml décontaminés flasks et filled jusqu'à volume avec de l'eau ultrapure.
- + Aucune préparation spéciale, à l'exception des mentions des brochures de la trousse d'analyse biochimique, n'était nécessaire pour les protocoles d'analyse biochimique.

B. Chez l'animal

Selon kawarabayashi *et al* (2001), Un hémicerveau a été congelé dans de l'azote liquide et l'autre a été fixée dans 4% paraformaldéhyde avec 0,1 M tampon de phosphate, pH 7,6.

Les cerveaux congelés ont été stockés à 280 °C. Les hémicerveaux congelés ont été extraits séquentiellement.

À chaque étape, la sonication (35 s au niveau 10;XL-2000 Microson Ultrasonic Cell Disruptor;Misonix Inc., Farmingdale, NY) dans un tampon approprié a été suivie d'une centrifugation à 100 000 g pendant 1 h à 4 °C.

- ✓ Le surnageant a ensuite été retiré. et la pastille a été sonifiée dans la solution suivante par quatre étapes :

Sonication du cerveau congelé (150mg/ml poids le plus élevé) beganinTris-buffered saline(TBS) (20mM Tris et 137 mM NaCl, pH 7,6), qui contenait des inhibiteurs de la protéase

- ✓ 1% de triton X-100 dans TBS avec des inhibiteurs de la protéase
- ✓ 2% de SDS dans l'eau avec même inhibiteurs de la protéase
- ✓ 70% d'acide formique (AF) dans l'eau. Et la pastille résultante a ensuite été extraite avec 70% d'acide formique dans l'eau.

L'étude de Kawarabayashi *et al* (2001), Des échantillons de tissus cérébraux :

- ✓ 30mg de Tissus cérébraux congelés + 600µL e tampon de lyse (contenants 6µl de bêta-mercaptoéthanol) fourni par le kit d'ARN Bioline Isolate II.
- ✓ puis homogénéisé avec un dispositif à piston rotatif à 500 r.p.m.56 et centrifugée (5 min, 13 000 g) avant l'extraction de l'ARN. L'ARN total a été extrait selon les instructions du fabricant.
- ✓ puis quantifié à l'aide d'un spectrophotomètre Nanodrop ND-10; la qualité de l'ARN a été déterminée à l'aide d'un BioAnalyzer 2100.

➤ Tous les échantillons ont été entreposés à 80 °C avant d'être utilisés.

1.3. Technique Immunohistochimiques

- ✓ Selon Youssef *et al* (2018), des sections de paraffine intégrées (FFPE) fixées au formol ont été obtenues à partir du STG contralatéral de tous les individus.
- ✓ Les profilés FFPE-STG (épaisseur 10 µm) ont été teints avec du violet de créyle et de l'argent modifié par Garvey ou immunoteints pour le phospho-tau. Puis, les coupes ont été immunocolorées pour le 4-hydroxy-2-nonéal (4-HNE+) et le NRF-2.
- ✓ Brièvement, les sections ont été réhydratées et les antigènes récupérés à l'aide d'une chambre de dégraissage.

- ✓ Les échantillons ont été récupérés à la chaleur à 95 °C pendant 30 minutes dans un tampon de pH 9, refroidis à 23 °C et traités avec 3 % v/v H₂O₂ en dH₂O pour bloquer l'activité peroxydase endogène.
- ✓ Les sections ont ensuite été incubées avec un bloc protéique sans sérum pendant 30 minutes, suivi d'une application d'anticorps primaires comprenant : un anticorps polyclonal anti-4-HNE (1/200 v/v; incubation pendant la nuit à 4 °C) et un anticorps anti-NRF-2 oligoclonal (1/200 v/v, 1 h d'incubation à 23 °C)
- ✓ Les produits ont ensuite été visualisés par incubation avec le DAKO EnVision™ + System-HRP 30 min à 23 °C, suivi d'une incubation de 5 min avec DAB.
- ✓ Les sections ont été colorées avec de l'hématoxyline, déshydratées et montées avec du DPx.

Et d'après l'étude de Kawarabayashi *et al* (2001), Des échantillons de tissus ont été fixés dans du paraformaldéhyde à 4 % dans un tampon de phosphate de 0,1 M, (pH 7,6, 8 heures à 4 °C).

Des sections de paraffin (5 m m) ont été prétraitées avec de l'acide formique à 70 % pendant 5 min et immergées dans de l'acide périodique à 0,5 % pendant 10 min pour bloquer la peroxydase intrinsèque.

Ils ont ensuite été incubés avec 1,5% de sérum bloquant dans PBS pendant 1 heure, avec des anticorps I (BC-05, 0,1 m g/ml; BA-27, 0,4 m g/ml; ou des anticorps contre des terminus N spécifique de A b, 2,5 m g/ml) pendant la nuit, et avec des anticorps II de peroxydase de raix (1:100; Dako, High Wycombe, Royaume-Uni) pendant 1 heure.

L'immunoréactivité a été visualisée par incubation avec 0,03% 3,39diaminobenzidine, 0,065% d'azide sodium et 0,02% H₂O₂. Pour colorer les anti-A b N1(D), anti-N1(iD), et anti-N1(rD), PBS contenant 500 nmol/l NaCl a été utilisé pour prévenir la réaction croisée. Le vert méthyle a été utilisé pour prévenir la réaction croisée. Le vert de méthyle a été utilisé pour la coloration nucléaire. Des sections de sept cerveaux de DA ont été colorées en parallèle.

1.4. Les analyses statistiques

- ❖ Des analyses statistiques ont été effectuées à l'aide d'un logiciel statistique standard (SPSS 22.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA).
- ❖ Pour l'analyse multivariée, le test d'Anova a été utilisé.

- ❖ Les valeurs $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives et $p < 0.001$ par rapport au groupe témoin.

2. Méthode d'analyses biochimiques

2.1. Dosage du cholestérol total (CT) et detriglycérides (TG)

Les taux plasmatiques du cholestérol total et de triglycérides (TG) ont été déterminés selon la méthode enzymatiquement colorimétrique à l'aide de l'analyseur modulaire Hitachi (Höglund *et al.*, 2005), et a été mesurée à l'aide d'un kit commercial (McGRATH *et al.*, 2000) (Shang *et al.*, 2018 ; Gokceet *et al.*, 2019).

2.2. Dosage du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDLc)

De même, la même méthode a été utilisée afin de quantifier l'HDLc. Tandis que les concentrations sanguines du cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL) ont été estimées à l'aide de la formule Friedewald (Shang *et al.*, 2018 ; Höglund *et al.*, 2005).

2.3. Dosage d'apolipoprotéines (ApoE, ApoA-1)

La mesure des concentrations correspondantes d'ApoE et d'ApoA-1 dans le plasma, et celles d'ApoE dans le LCR est basée sur la méthodologie néphélométrique.

Est une application employée pour déterminer le taux d'immunoglobuline et les macromolécules (Höglund *et al.*, 2005), selon la description de Hixson et Vernier (Squitti *et al.*, 2002), selon la procédure standard par les laboratoires locaux pour les centres E-ADNI (Buerger *et al.*, 2009).

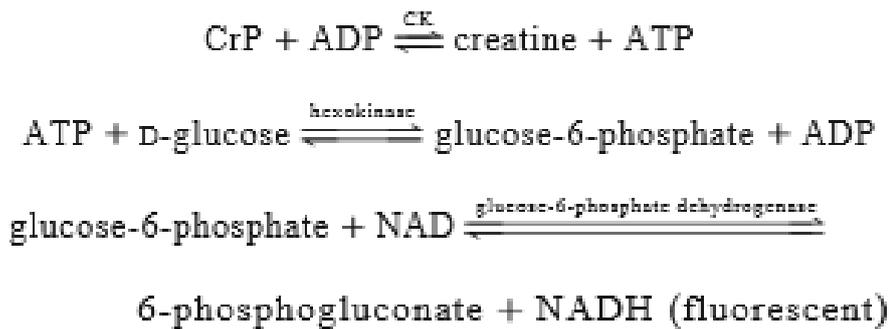
2.4. Dosage de l'ascorbate et les sulfhydryles plasmatiques

Ces deux paramètres ont été mesurés par la chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) décrite par Inyama *et al.* (Inyami *et al.*, 1984) (McGRATH *et al.*, 2000).

2.5. Détermination de l'activité CK (créatine kinase)

L'activité CK est évaluée colorimétriquement à l'aide d'un kit commercial (Sigma) (Aksenov *et al.*, 2000).

Une unité de l'activité CK totale est définie par la quantité d'enzyme qui convertit 1 mmol de créatine en CRP (C-reactive protein)/min à 37 °C et pH 9.0 selon le principe ci-dessous :



2.6. Dosage des protéines

2.6.1. Les concentrations en α APP et β APP dans le LCR

La détermination des concentrations en α sAPP et β sAPP dans le LCR, est réalisée à l'aide de 2 tests ELISA différents. Un nouvel anticorps secondaire, biotinylé chèvre antirabbit IgG a été utilisé et dilué 1/ 20.000. La courbe standard a été diluée en PBS-Tween/BSA (250 mg/ml) (Höglund *et al.*,2005).

2.6.2. Les niveaux en APP total dans le LCR (totAPP)

2.6.2.1.Détermination à l'aide d'ELIZA sandwich de l'APP

L'anticorps monoclonal 22C11, reconnaissant un épitope 66-81 AA du N-terminale de l'APP, a été utilisé comme anticorps de capture.

L'anticorps monoclonal biotinylé LN27, qui réagit à un épitope dans la première 200 AA d'APP, a été utilisé comme anticorps détecteur.

- ✓ Les plaques de Maxisorp enduites de 100 μ L d'anticorps monoclonal 22C11 (1 mg/ml), diluées 1/1000 dans un tampon de carbonate de 50 mM (pH 9.6), et incubées pendant la nuit à +4 °C,
- ✓ ces plaques lavées 5 fois avec 400 μ L de PBS-Tween (0.15 M NaCl, 2.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 7.5 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ contenant 0.05 % de Tween-20),
- ✓ la procédure du lavage est nécessaire après chaque incubation,
- ✓ les plaques ont été bouchées avec 200 μ L de poudre de lait sec à 1 % dans PBS Tween pendant 1 h, à +37 ° C,
- ✓ tous les échantillons ont été analysés en double. L'étalon de l'APPtot a été dilué dans du PBS-Tween à une concentration de 40000, 20000, 10000, 5000, 2500, 1250, 625 et 312.5 pg/ml,

- ✓ incubation simultanée d'échantillons de LCR ou de 50 μL d'étalon et de 50 μL l'anticorps monoclonal biotinylé LN27 (0.44 mg/ml) dilué 1/2000 dans du PBS-Tween, toute la nuit à température ambiante,
- ✓ incubation de 100 μL ExtrAvidin peroxidase conjugué dilué 1/5000 dans PBS-Tween contenant 1% d'albumine bovine, 1 h à température ambiante,
- ✓ le développement d'une coloration bleue a été effectué en ajoutant 100 μL 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB), il est le plus sensible des substrats chromogéniques de la peroxydase (kit de substrat EIA peroxydase TMB, Bio-Rad Laboratories, Hercules, Californie, États-Unis),
- ✓ la réaction a été trempée avec 50 μl H_2SO_4 (1 M),
- ✓ mesure de l'absorbance à 450 nm avec une longueur d'onde correspondante à 650 nm,
- ✓ calcul de la concentration de l'APPtot dans les échantillons de LCR à partir de la courbe standard.

2.6.3. Détermination des protéines Tau

De même, l'ELISA sandwich (Innotest[®]htauAg, Innogenetics, Gand, Belgique) a été choisi pour la quantification de tous les isoformes de tau (tubulin-associated unit) dans le LCR, quel que soit le statut de phosphorylation (Buerger *et al.*, 2009 ; Mattsson *et al.*, 2009 ; Lannfelt *et al.*, 2008).

Alors que la concentration de tau phosphorylée à la thréonine 181 et P-tau231 dans le LCR a été mesurée à l'aide d'ELISA sandwich (InnotestPhospho-Tau (181P)) (Buerger *et al.*, 2009 ; Mattsson *et al.*, 2009 ; Lannfelt *et al.*, 2008).

2.7. Détermination des protéines A β

La quantification des isoformes β -amyloïdes dans le plasma en sensibilité INNOTEST A β 1-42 ELISA (Innogenetics, Gand, Belgique).

La β -amyloïde 40 est déterminée à l'aide du test ELISA hAmyloid β 40 Highly Kit sensible (The Genetics Company, Schlieren, Suisse).

Cet essai utilise un anticorps W02 (épitope 5-8 dans la séquence A β) pour la capture, et l'anticorps spécifique A β 40 G2-10 pour la détection (Buerger *et al.*, 2009 ; Mattsson *et al.*, 2009 ; Lannfelt *et al.*, 2008 ; Kawarabayashi *et al.*, 2001).

2.8. Quantification des concentrations plasmatiques d'OAB β (L'OAB β)

Le doseur MDS-AD a été utilisé pour quantifier les concentrations d'OAB β dans le plasma.

- ✓ Avant l'intervention, les aliquotes d'échantillons de plasma ont été décongelées à 37 °C pendant 15 minutes,

- ✓ mélanger 10µL de plasma, 4µl de HAMA (anticorps anti-murine humain) bloquant, et 90µl de tampon d'essai,
- ✓ ajouter 10µL de PBR-1 (1% exclusif + 1.25% de sulfoxyde de diméthyle (DMSO) + 96.75% de solution saline tamponnée au phosphate contient du Tween 20 (PBST) + 1% d'eau ultra-pure),
- ✓ les mélanges plasmatiques traités à l'héparine et les mélanges plasmatiques traités à l'EDTA ont été incubés pendant 48h et 1h, respectivement,
- ✓ additionner le mélange d'échantillons de plasma et les étalons dilués en série, à des puits séparés de la plaque dans un volume total de 100µl,
- ✓ incuber les plaques à RT pendant 1h,
- ✓ après trois lavages avec du tampon de lavage, l'anticorps de détection a été ajouté,
- ✓ arrêter la réaction avec 50µl de 1M H₂SO₄,
- ✓ mesurer les valeurs de densité optique (DO à 450nm à l'aide d'un multi-pectrophotomètre Victor 3™,
- ✓ enfin, ajouter 100µl de TMB,
- ✓ après 15min, arrêter la réaction avec 50µl de 1M H₂SO₄,
- ✓ mesurer les DO à 450 nm à l'aide d'un multi-pectrophotomètre Victor 3™,
- ✓ utiliser la courbe standard pour calculer les niveaux d'OAβ dans le plasma (Meng *et al*, 2019)

2.9. Dosage des concentrations sériques de sensibilité élevée d'IL-6 (interleukin 6), d'IL10 et de TNF-α (tumor necrosis factor alpha)

D'après l'étude d'Agahi *et al*(2018), un kit ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) commercial (Diacclone, French) est utilisé pour évaluer le taux de certaines cytokines pro-inflammatoires telles qu'IL-6 et TNF-α, et immunosuppressives ex : IL10.

2.10. Dosage des hormones

Un dosage immuno-enzymatique peut aussi intervenir pour le dosage de certaines hormones, en utilisant la technique d'ELISA sandwich en phase solide à l'aide de trousse commerciales.

Des tests Kruskal-Wallis sont effectués, pour comparer les valeurs de données sériques (EPA (Eicosapentaenoic acid), DHA (docosahexaenoic acid), adiponectine, leptine), entre les témoins et les malades (Shang *et al.*,2018 ; McGRATH *et al.*,2000).

2.11. Dosage des vitamines

La vitamine E a été mesurée par la CLHP selon la méthode de Hatam et Kayden (Hatam et Kayden, 1979), normalisée pour les concentrations du cholestérol (McGRATH *et al.*,2000)

Vitamine D, B12 (Gokce *et al.*, 2019).

3. Méthodes de détermination quantitative des paramètres du stress oxydatif

3.1. Détermination de l'activité enzymatique SOD

L'activité combinée SOD1/2 (ou SOD totaux) a été évaluée dans des échantillons de surnageant clarifié (charge volumique de 20 μ L) en mesurant l'inhibition de l'auto oxydation du pyrogallol observée à 405 nm à des intervalles de 5 min sur 1 h.

Une augmentation de l'absorbance est proportionnelle à cette auto-oxydation qui se reflète par le développement d'une certaine coloration (Parry *et al.*, 2008)

La méthode est basée sur la réaction :

SOD

WST (water-soluble tetrazolium) + anion superoxyde \longrightarrow un colorant formazan soluble dans l'eau

L'activité totale de la SOD a été exprimée en taux relatif U/ ml par minute et normalisée en fonction de la teneur totale en protéines dans les échantillons correspondants (Balmuş *et al.*, 2017 ; Kheradmand *et al.*, 2018 ; Youssef *et al.*, 2018).

3.2. Détermination de l'activité enzymatique GSH-Px

La détermination de cette activité pourra être effectuée à l'aide des kits d'analyse, citant le Sigma-Aldrich-CGP1.

Ce kit utilise également une méthode de détermination indirecte basée sur l'oxydation du glutathion en glutathion oxydé couplée à la réaction inverse en présence de GSH-Px, de glutathion réductase (GR) et de NADPH comme cofacteur enzymatique.

La méthode est basée sur la mesure de la diminution de la concentration du NADPH dans le milieu de réaction, correspondant à l'activité GSH-Px au cours de laquelle le NADPH est oxydé en NADP^+ (Balmuş *et al.*, 2017 ; Kheradmand *et al.*, 2018 ; Youssef *et al.*, 2018).

3.3. Dosage de GSH tissulaire

La teneur réduite en glutathion a été déterminée selon la méthode de Fukuzawa et Tokumura (Fukuzawa *et al.*, 1976). Cette méthode de dosage consiste au développement d'une coloration jaune dès l'ajout de DTNB (acide 5,5'-dithiodis-2-nitrobenzoïque) aux composés contenant des groupements sulfuriques, parmi ces composés on distingue le glutathion (Kheradmand *et al.*, 2018). La méthode de Beutler *et al.* (Agahi *et al.*, 2018).

- ✓ 130 μ L de DTNB (0.04%) + 200 μ L d'homogénat + 1.1 ml de la solution tampon de phosphate de sodium 0.25M (pH 7.4);
- ✓ l'eau distillée a été ajoutée à un volume final de 1.5 ml;
- ✓ l'absorbance lue à 412 nm ;

- ✓ résultats exprimés en μg GSH/ μg de protéines;
- ✓ une courbe standard a été tracée afin de calculer le niveau de glutathion réduit dans l'homogénat.

3.4. Dosage de 8-hydroxy-2désoxyguanosine (8-OHDG)

La concentration sérique de 8-OHDG à haute sensibilité a été quantifiée à l'aide d'un kit ELISA commercial (Zelbio, Allemagne) (Agahi *et al.*, 2018).

3.5. Dosage de 4-HNE

Elle est déterminée principalement en se basant sur la méthode d'Esterbauer et de Cheeseman (Esterbauer *et al.*, 1990). Les homogénats ont été traités par la N-méthyl-2-phényl-indole et de l'acide méthanesulfonique (McGRATH *et al.*, 2000 ; Youssef *et al.*, 2018).

Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol/L}$.

3.6. Détermination de l'activité enzymatique GR

Selon la méthode de Pinto (Pinto *et al.*, 1969). L'activité enzymatique de la glutathion réductase a été déterminée, le mélange réactionnel contenait 0.1mM du tampon phosphate (pH 7.0), 125mM de NADPH et 20 μL de la solution enzymatique dans un volume final de 1ml à 30°C.

L'absorbance a été mesurée à 340nm. Une unité d'enzyme est définie comme 1 μmol de NADPH oxydé /min/mg de protéine (Kheradmanda *et al.*, 2018).

3.7. Détermination de l'activité enzymatique CAT

L'activité de la catalase a été dosée selon la méthode de Genet (Genet *et al.*, 2002), dont le mélange réactionnel est composé du tampon phosphate 50mM (pH 7.0), du peroxyde d'hydrogène 10mM et de 20 μl de l'extrait enzymatique.

L'absorbance a ensuite été mesurée par spectrophotométrie à 240nm pendant 5min à 25 °C contre le blanc. L'activité enzymatique est exprimée en μmole H_2O_2 consommé/min/mg protéine (Kheradmanda *et al.*, 2018 ; Youssef *et al.*, 2018)

3.8. La capacité antioxydante totale sérique (TAC)

La mesure de la TAC consiste à évaluer la puissance réductrice des antioxydants des homogénats via la réduction du fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferreux (Fe^{+2}), mise au point par Benzie et Strain (Benzie et Strain, 1996) (Agahi *et al.*, 2018).

3.9. Estimation de la peroxydation lipidique

C'est une méthode du dosage qui a pour but d'estimer la peroxydation lipidique par mesure du taux de TBARS (thiobarbituric acid reacting substances) dans l'échantillon résultant d'une certaine réactivité avec l'acide thiobarbiturique (TBA) à chaud. 99% de ces

substances se présentent sous forme de MDA. L'intensité de la coloration rose obtenue, est directement proportionnelle au taux de TBARS mesurée à 532 nm

- ✓ 0.5ml TCA (50%) + 0.55ml TBA(0.73%) +0.1ml sérum ;
- ✓ incubation de 12 min à 100°C → centrifugation de 10 min (3000rpm) ;
- ✓ Lecture à 532 nm ;
- ✓ les absorbances ont été révélées par rapport à la courbe standard de MDA (les résultats ont été exprimés en nmol MDA/ml de sérum sanguin)(Balmuş *et al.*, 2017., Agahi *et al.*, 2018), a été mesurée par la méthode d'Esterbauer et Cheeseman (McGRATH *et al.*, 2000 ;Kheradmanda *et al.*, 2018).

3.9.1. Les niveaux du peroxyde d'hydrogène

Le réactif FOX (ferrous oxidation–xylenol orange), est une solution aqueuse utilisée pour mesurer les niveaux de peroxyde d'hydrogène dans des systèmes biologiques, le principe repose sur l'oxydation en milieu acide des ions ferreux en ions ferriques par les hydroperoxydes de l'échantillon.

Le protocole est basé principalement sur :

- ✓ 3.5 µL d'homogénat incubé avec de l'hydroperoxyde de cumène 100 µM et du dithiothréitol 100 µM (volume final de 10 µL) pendant 5 min à 20°C,
- ✓ une aliquote de la solution de FOX (sulfate de fer et d'ammonium 250 µM, sorbitol 100 mM et l'orangé de xylénol 125 µM) a ensuite été ajoutée pour produire un volume total de 100 µL,
- ✓ incubation à 20°C,
- ✓ après 30 minutes, l'absorbance a été lue à 560 nm à l'aide d'un lecteur FLUOstar Omega (Priscilla *et al.*, 2018 ; Squitti *et al.*, 2002 ; Kheradmanda *et al.*, 2018).

3.10. Dosage de l'oxyde nitrique plasmatique (NO)

La quantification du NO est réalisée par la méthode Griess (Tatsch *et al.*,2010) est une réaction de diazotation en deux étapes en milieu acide, permettant le dosage des ions nitrite (Parent, 2012) (Agahi *et al.*, 2018).

3.11. Détermination d'activité totale de l'hème oxygénase (HO)

Le surnageant clarifié provenant d'homogénat du cerveau (500 µL) a été soumis à l'ultracentrifugation (100000g ; 1h à 4°C).

- ✓ Remettre les granulés microsomaux en suspension dans 100 µL de PBS (Phosphate Buffer Salin),

- ✓ utiliser cette suspension pour déterminer l'activité protéique totale de l'hème oxygénase (HO 1/2),
- ✓ pour l'activité HO totale, les microsomes ont été mélangés à un rapport final de 2/1 (microsomes d'homogénat du cerveau/ microsomes isolés du foie) dans un tampon de 100 μ L (saccharose 250 mM, tris 20 M, pH de 7.4),
- ✓ traiter le mélange microsomal avec 1 mM de NADPH, 2 mM de D-glucose-6-phosphate (G-6-P), 1U de glucose-6-phosphate déshydrogénase et 1 μ L d'hémine de 2.5 mmol/L,
- ✓ incubé à 37 °C dans l'obscurité,
- ✓ arrêter la réaction après 1 h par addition de 100 μ L d'éthanol/DMSO (Dimethyl sulfoxide) (95:5 v/v),
- ✓ centrifuger à 13000 g pour 5 min,
- ✓ doser la bilirubine dans le surnageant par chromatographie en phase liquide,
- ✓ déterminer l'activité totale par rapport à des niveaux de la bilirubine (Youssef *et al.*,2018).

3.12. Détermination de l'activité de la caspase

L'activité de la caspase 3 et 7 a été évaluée à l'aide d'un kit spécifique.

- ✓ 50 μ L des surnageants clarifiés ont été dilués en fonction des concentrations de protéines individuelles pour produire des concentrations finales de protéines de 0.5 mg/mL,
- ✓ ces échantillons ajustés aux protéines ont ensuite été ajoutés au réactif Caspase-GloTM 3/7 fournit un substrat de caspase-3/7 DEVD-aminoluciférine proluminescent (1/1 v/v 20 °C pendant 60 min).
- ✓ la luminescence mesurée à l'aide d'un lecteur FLUOstar Omega (BMG LABTECH, Offenburg, Allemagne).
- ✓ L'activité totale du caspase 3/7 est représentée comme la luminance moyenne après 60 minutes de surveillance) (Youssef *et al.*,2018).

Chapitre 04

Résultats et Discussion

1. Evaluation des paramètres biochimiques

1.1. Bilan lipidique

D'après Shang *et al.*,2018 ; Höglund *et al.*,2005 et Gokce *et al.*,2019, une diminution significative des taux plasmatiques de TC($p=0.000$), de TG($p=0.047$), chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer comparées aux témoins, ainsi qu'une augmentation significative des taux plasmatiques de LDL ont été observées(Shang *et al.*,2018 ; Gokce *et al.*,2019) et les niveaux de LDL ont été réduits de 40% tandis que les niveaux de HDL ont été augmentés de 7%($p=0.046$) selon Höglund *et al.*,2005 .

- ➡ HDL est une lipoprotéine de haute densité qui exerce une vaste gamme de fonctions, notamment la fonction antioxydante, anti-inflammatoire et proendothéliale (Shang *et al.*, 2018), les mécanismes par lesquels HDL influence le risque de maladie d'alzheimer restent inconnus (Buttonet *et al.*, 2019).
- ➡ Le TC a été identifié comme marqueur lipidique de l'hyperlipémie (Sáiz-Vazquez *et al.*.,2020), Les associations lipides-AD étaient progressivement plus fortes avec une certitude pathologique croissante du diagnostic d'AD (Lesser *et al.*, 2001).

1.2. Apolipoprotéines (APOE, A-1)

Chez les Alzheimer, les concentrations plasmatiques d'ApoA-1 sont demeurées constantes, tandis que les concentrations plasmatiques d'ApoE ont été considérablement réduites. Dans le LCR, ces niveaux se sont révélés constants (Höglund *et al.*, 2005).

Les protéines L'allèle ApoE epsilon 4 était plus fréquentes chez les patients que chez les témoins ($P =0 .001$) (squitti *et al.*,2002).

- ➡ ApoE est l'apolipoprotéine prédominante du complexe HDL dans le cerveau. Bien qu'il a de nombreux rôles dans la physiologie du cerveau, les données les plus convaincantes concernant son rôle dans le développement de la MA concernent sa capacité à lier l'A β (Reitz *et al.*., 2010).

1.3. L' α APP, β APP et l'APP total dans le LCR

Tableau 7. Résultats de l'APP dans LCR

Etude	Paramètres étudiés	Interprétation
Höglund <i>et al.</i> .,2005	α APP	↗ ↗ +
	β APP et tot APP	Aucune différence

+ $p<0.05$: différence significative entre les patients et les témoins ;

↗ ↗ Augmentation significative

La régulation des voies de clivage de l'APP se produit de manière mutuellement exclusive et un clivage amélioré peut simultanément supprimer le clivage β . Cependant, par l'analyse des

isoformes APP, le traitement par statine peut favoriser la voie non amyloïdogène du traitement APP (Höglund et al., 2005).

1.4. Détermination des protéines Tau

1.4.1. La concentration de T-tau dans le LCR

D'après les études de Buerger *et al.*, 2009 ; Mattsson *et al.*, 2009 et Lannfelt *et al.*, 2008, des différences statistiquement significatives de la valeur t-tau du LCR (échantillons frais) chez les témoins sains par rapport aux patients atteints de MA (sains) ($p = 0,049$).

Les patients qui atteints MA avaient une concentration de T-tau plus élevée (582 ; intervalle, 83-2174 ng/L)

Le PBT2 250mg n'a eu aucun effet significatif sur la concentration de T-tau dans LCR par rapport au placebo : la différence de variation moyenne des moindres carrés par rapport au départ était de -10.0pg/ml (-74.9 à 54.2 ; $p=0.749$) et pour le groupe placebo était de -7.8 pg/ml (-45.9 à 30.4) comparée à -18.1pg/ml (-62.6 à 26.3) pour le groupe PBT2 250 mg. Il n'y avait pas de résultat positif ou négatif significatifs effet de PBT2 50mg.

- ➡ Les Protéine Tau, protéines associées aux microtubules jouent un rôle physiologique dans la stabilisation des microtubules (permet la croissance et le transport axonal...), sa fonction est régulée par des mécanismes de phosphorylation.
- ➡ Augmentation de protéine Tau totale chez les patients avec MA, montre qu'il y a une corrélation avec la présence de DNF (dégénérescence neurofibrillaire) (Dufour,2013).

1.4.2. La concentration de tau phosphorylé à la thréonine 181

Une concentration de P-tau (P-tau181, P-tau231) plus élevée chez les patients (81 ; intervalle, 15-183ng/L) et dans un (échantillon frais et congelés) a été observée.

Aucun effet positif ou négatif significatif de PBT2 de 250mg et 50 mg n'a été observé sur les concentrations de P-tau dans le LCR par rapport au placebo (Buerger *et al.*,2009 ; Mattsson *et al.*,2009 ;Lannfelt *et al.*,2008).

- ➡ La MA, est connue par une hyperphosphorylation anormale de la protéine Tau, une agrégation intraneuronale sous forme de DNF, ainsi qu'une lyse neuronale.
- ➡ Il y a donc une corrélation avec la quantité de DNF et gain de spécificité pour le diagnostic de MA (Dufour, 2013).

1.5. Détermination des protéines A β

Des différences statistiquement significatives dans la valeur A β 42 du LCR (échantillons congelés) danstémoins sains par rapport aux patients AD (sains contrôles > AD; $p = 0,02$), A β 40 dans le plasma (échantillons frais) dans les témoins sains par rapport aux patients

atteints de MA (témoins sains > MA; $p = 0,049$) et la valeur A β 40 du plasma (échantillons congelés) chez les témoins sains par rapport aux patients atteints de MA (témoins sains > MA; $p = 0,016$) (Buerger *et al.*, 2009 ; Mattsson *et al.*, 2009 ; Lannfelt *et al.*, 2008 ; Kawarabayashi *et al.*, 2001 ; Youssef *et al.*, 2018).

- ➡ Dans le LCR des patients atteints de MA il y a une diminution de peptide amyloïde A β 1-42,
- ➡ alors il existe une corrélation avec le nombre de plaques amyloïdes dans le cortex cérébral sur des études autopsiques de patients MA.
=>Reflet de la séquestration cérébrale du peptide A β dans les plaques amyloïdes (Dufour, 2013).

1.6. Quantification des concentrations plasmatiques d'OAB (L'OAB)

Les résultats de Meng *et al.* (2019) indiquent que les valeurs de l'OAB plasmatique étaient nettement plus élevées, dans le groupe AD que dans le groupe témoin ($p = 0,001$ pour les échantillons anti-coagulés à l'EDTA ou à l'héparine

Les concentrations d'OAB dans le plasma traité à l'EDTA ont montré une forte corrélation directe avec le plasma traité à l'héparine ($r = 0,35$, $p = 0,00$).

Il n'y a eu aucun effet de l'âge, du sexe ou du statut ApoE4 sur les valeurs de DO de OAB dans le plasma ($p > 0,05$)

Dans le groupe AD, des associations significatives sont relevées entre les taux d'OAB dans le plasma et les taux immédiats de COMT ($r = 0,45$, $p = 0,01$), de 5 minutes ($r = 0,56$, $p < 0,01$) et de 30 minutes ($r = 0,71$, $p < 0,001$) pour le rappel.

Dans le groupe témoin, une faible tendance associative n'a été observée qu'entre les valeurs d'OAB dans le plasma et les scores de rappel retardé de 30 minutes ($p = 0,05$).

- ➡ Les deux acides aminés hydrophobes supplémentaires de A β 42 améliorent grandement sa propension à l'agrégation, ce qui accélère la formation de petits oligomères (faible-n) A β (oA β), de plus grands assemblages intermédiaires comme les protofibrilles, et finalement les fibrilles amyloïdes typiques d'environ 8 nm que l'on trouve abondamment dans les plaques neuritiques et les microvaisseaux amyloïdes (Xia *et al.*, 2009).
- ➡ une corrélation non significative a été observée entre les taux d'OAB dans le plasma et toute autre mesure de mémoire (Meng *et al.*, 2019).

1.7. Les concentrations sériques de sensibilité élevée d'IL-6, d'IL10 et de TNF- α

L'analyse de variance appliquée sur les données issues des groupes CON et PRO a montré que le traitement des patients atteints de MA avec la supplémentation probiotique n'affectait pas significativement le TNF- α [$F(3, 63) = 0.64$; $P > 0.05$], IL-6 [$F(3, 71) = 0.27$; $P > 0.05$],

et IL-10 [$F(3, 63) = 0.64; P > 0.05$]. Le pourcentage de changement du taux sérique de TNF- α , IL-6 et IL-10 dans le groupe CON était $0.35\% \pm 0.17$, $-1.67\% \pm 1.33$, et $0.05\% \pm 0.10$. Les valeurs du groupe PRO étaient respectivement de $-0.15\% \pm 0.27$, $2.18\% \pm 0.15$ et $-0.70\% \pm 0.73$ (Agahi *et al.*, 2018).

- ➔ IL-6 a un effet pathologique sur l'inflammation chronique et l'auto-immunité (Tanaka, 2014). TNF- α , le facteur de nécrose tumorale est une cytokine inflammatoire (Idriss et Naismith, 2000). En revanche, le niveau d'IL-6 périphérique n'était pas significativement plus élevé chez les personnes âgées atteintes de la maladie d'Alzheimer que chez les témoins. Cette constatation pourrait être corroborée par des recherches antérieures qui ont révélé que les élévations observées dans les niveaux d'IL-6 périphérique ont précédé l'apparition de la maladie d'Alzheimer, mais pas au cours de la maladie d'Alzheimer (Ng *et al.*, 2018).
- ➔ IL10 Interleukin-10 (IL-10), un médiateur anti-inflammatoire, a été signalé comme l'une des cytokines principales associées à la survenue de la MA. qui s'est révélé d'une importance primordiale pour atténuer la neuroinflammation, le dysfonctionnement cognitif et la neurodégénérescence (Magalhães *et al.*, 2017).
- ➔ Les résultats obtenus par les auteurs pourraient suggérer que le TNF- α périphérique est un marqueur moins sensible que l'IL-6. Ces résultats appuient l'hypothèse précédente selon laquelle les niveaux de TNF- α périphérique se sont révélés significativement plus faibles dans la maladie d'Alzheimer légère à modérée que dans la maladie d'Alzheimer sévère. les niveaux de TNF périphérique – α n'étaient pas beaucoup plus élevés que les témoins chez des participants ayant une gravité différente de la maladie d'Alzheimer, (Ng *et al.*, 2018).

1.8. Dosage des hormones

Les auteurs ont signalé des niveaux inférieurs d'EPA et de DHA et des niveaux plus élevés de leptine et le rapport de leptine/adiponectine par rapport les groupes témoins et le taux sérique d'AA était significativement augmenté (Shang *et al.*, 2018 ; McGRATH *et al.*, 2000).

- ➔ L'EPA et le DHA ayant des propriétés anti-inflammatoires, antioxydants, antiathérogènes, anti amyloïdes et neuroprotectrices dans le cerveau. Des apports plus élevés en EPA et DHA sont associés à des risques plus faibles de MA. Shang *et al.* (2018) ont révélé que le niveau d'EPA dans le plasma était plus faible chez les patients atteints de MA, tandis que le niveau de DHA était nettement plus bas dans les patients MA.

=> Ces données indiquent que l'EPA et le DHA étaient tous les deux associés à la MA.

- ➡ L'AA sérique est très important dans l'inflammation, l'athérosclérose, la thrombose, l'amyloïdose, la polyarthrite rhumatoïde et néoplasie. Dans l'étude de Shang *et al.* (2018) indiqué que le taux de l'AA sérique est plus généralement associé aux maladies cognitives (MA).
- ➡ La reptine est impliquée dans la régulation de la transcription génétique, le remodelage de la chromatine, la détection et la réparation des dommages à l'ADN, et la biologie des tumeurs avec AD.
- ➡ Une étude avait montré que des augmentations spectaculaires de l'adiponectine sérique dans la MA sont positivement corrélées à la sévérité de la démence, qui est due à un niveau élevé d'adiponectine associé à la toxicité du peptide amyloïde β , à des réactions inflammatoires et à des mort cellulaire dans le cerveau de la MA. En revanche, une étude transversale a révélé que le niveau d'adiponectine était inchangé chez les patients atteints de MA. il joue un rôle protecteur contre le changement vasculaire athérosclérotique et exerce un effet cérébroprotecteur Les données sérologiques étaient associées à la maladie d'Alzheimer (McGRATH *et al.*, 2000).

1.9. Dosage des vitamines

Tableau 8. Résultats des vitamines E, D, B12

Etude	Paramètres études	Interprétation
McGRATH <i>et al.</i> ,2000	Vitamine E	Aucunes différences
Gokce <i>et al.</i> ,2019	Vitamine D, B12	↗↗ +

+p<0.05 : différence significative entre les patients et les témoins ;

↗↗ Augmentation significative

- ➡ La vitamine E agit comme antioxydant puissant qui peut ralentir la progression de la MA à plusieurs niveaux. L'augmentation du stress oxydatif induit par les plaques $A\beta$ est un facteur de risque connu pour la mort neuronale et les lésions cérébrales résultantes dans la MA. La vitamine E agit comme un collecteur de chaleur pour ces radicaux libres et fournit un certain degré de neuroprotection. La vitamine E offre également une protection contre la MA par d'autres méthodes.
- ➡ La vitamine B12 a montré une diminution du taux d'homocystéine, ce qui aide à contrôler ce facteur de risque modifiable pour l'AD.
- ➡ Il existe une relation directe entre le taux de vitamine D et la MA (Bhatti *et al.*, 2016).

1.10. L'ascrobate et les sulfhydryles plasmatiques

Les taux sérique d'ascrobates étaient significativement plus faibles chez les patients atteints de MA que chez les témoins.

Les taux de sulfhydryles de protéines ne sont pas élevés ($p=0.03$) chez les mêmes patients (McGRATH *et al.*,2000).

➔ Ces niveaux étaient positivement corrélés avec le degré de déficience cognitive, ce qui soutient le rôle de l'augmentation de l'activité radicale et de la récupération/consommation.

Les niveaux d'ascorbate dans la MA pourraient contribuer à réduire les niveaux de glutathion, et à un échec résultant de la détoxification en accumulant le 4-HNE. Cela conduirait à une nouvelle cascade de dommages oxydatifs. Ainsi, la combinaison de faibles niveaux d'ascorbate liés à des niveaux élevés de 4-HNE sont des découvertes importantes à la lumière des preuves croissantes que le stress oxydatif joue un rôle clé dans le développement de la maladie d'Alzheimer (McGRATH *et al.*,2000).

1.11. Analyse de l'activité CK :

D'après Aksenov *et al.* (2000), l'activité CK BB par microgramme de protéines CK BB immunoréactive était plus faible dans la MA que dans les extraits de cerveau témoins, indiquant la présence de molécules CK BB inactives.

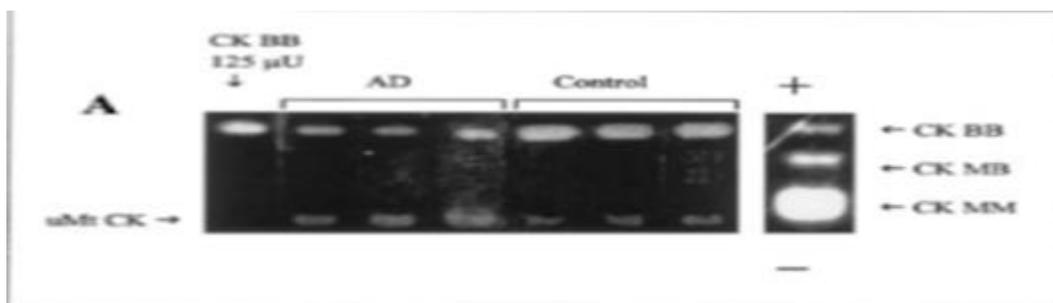


Figure 8. Résultats typique de la coloration par activité fluorescente de l'isoenzyme CK AD et du cortex SMT témoin séparé par non-dénaturation a provoqué une électrophorèse(Aksenov *et al.*.,2000).

➔ La créatine kinase cytosolique de type cérébral (BB-CK), qui est coexprimée avec l'uMtCK mitochondrial omniprésent, est significativement inactivée par oxydation chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Il a été démontré pour jouer un rôle

fondamental dans l'énergie cellulaire du cerveau, toute perturbation de cette enzyme peut exaspérer le processus de la maladie d'AD (Bürklen *et al.*, 2006)

2. Marqueurs biologiques du stress oxydant

2.1. Les antioxydants enzymatiques

2.2. Le superoxyde dismutase

L'activité enzymatique SOD est augmentée d'une façon significative ($p=0.04$), chez les patients selon les deux études de Balmuş *et al.* (2017) et Youssef *et al.* (2018), alors que l'étude de Kheradmand *et al.* (2018) a montré une diminution hautement significative des activités de SOD chez des souris AD par rapport au groupe témoin ($p=0.01$) et nano-Hst (20mg/kg) traitement significatif augmenté ($p=0.01$) par rapport au groupe STZ.

➔ La SOD est l'antioxydant responsable de la conversion des ions superoxydes toxiques en peroxyde d'hydrogène moins toxique (Bhatti *et al.*, 2016).

2.3. La peroxydation lipidique

La malondialdéhydes (MDA)

La mesure de la concentration tissulaire en malondialdéhydes ou plus précisément les TBARS, n'a révélé aucune élévation chez les patients atteints de MA Balmuş *et al.*, 2017 ; Agahi *et al.*, 2018 ; McGRATH *et al.*, 2000.

Cependant, Kheradmand *et al.* (2018) ont trouvé que l'administration de STZ a augmenté le niveau de MDA hippocampal ($p<0.001$) par rapport au groupe témoin, alors que le traitement avec Hst (10mg/kg : $p<0.01$, 20 mg/kg : $p<0.05$) et nano-Hst (10 et 20mg/kg $p<0.001$) diminue le niveau d'amélioration par rapport au groupe STZ ($p<0.001$).

➔ Le MDA est un marqueur de l'oxydation des lipides, il reste le marqueur le plus utilisé pour déterminer un stress oxydatif. Il est considéré comme un de produits terminaux de l'oxydation des acides gras insaturés (Chabha, 2019).

➔ Alors, la mesure de MDA dans les érythrocytes pourrait être utilisée comme marqueur des dommages oxydatifs dans la maladie d'Alzheimer (Bermejo *et al.*, 1997).

2.4. La glutathion peroxydase

La GSH-Px a connu une diminution ($p<0.001$) chez les patients souffrants de la MA comparés à des sujets contrôles, selon les auteurs : Balmuş *et al.*, 2017 ; Kheradmand *et al.*, 2018 et Youssef *et al.*, 2018.

Alors qu'une augmentation de cette activité ($p<0.01$) a été signalée, dans le traitement avec Hst et nano-Hst par rapport au groupe STZ (Kheradmand *et al.*, 2018).

➔ GPx est un antioxydant enzymatique responsable du métabolisme des hydroperoxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène (Bhatti *et al.*, 2016).

2.5. Le glutathion réduit

Tableau 9. Résultats du glutathion réduit

Etude	Paramétréétude		Interprétation
Kheradmand <i>et al.</i> , 2018	GSH	STZ	↘ *
		Hst / nano-Hst	** ↗↗
Agahi <i>et al.</i> , 2018	GSH		↗

*p<0.001 : différence très hautement significative entre les patients et les témoins ;

**p<0.01 : différence hautement significative entre les patients et les témoins ;

↘ : Diminution, ↗ : une légère augmentation, ↗↗ augmentation significative

- ➡ Le GSH peut réagir rapidement et spontanément sans intervention enzymatique avec le radical hydroxyl, l'oxyde d'azote (III) et le peroxydinitrite (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003).
- ➡ Il existe alors une corrélation inverse entre la GSH et la MA. c'est-à-dire, diminution de GSH est associée à une augmentation du risque de développement du MA.

2.6. Le 8-OHDG

Aucun changement dans le taux de 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine ($43.25\% \pm 3.01$ et $42.70\% \pm 3.27$) chez les témoins et les patients respectivement n'est présent (Agahi *et al.*, 2018).

- ➡ 8-OHdG est le marqueur le plus courant de l'oxydation de l'ADN produite par l'oxydation des bases d'ADN (Moslemnezhad *et al.*, 2016).

2.7. Le 4-HNE

Les résultats de McGRATH *et al.* (2000) ont exhibé des taux significativement élevés (p=0.001) de 4-HNE chez les malades par rapport aux témoins : 20.6 (6.0-25.2) et 7.8 (3.3-14.5) $\mu\text{mol/l}$ respectivement.

Par contre, Youssef *et al.* (2018) n'ont remarqué aucune différence.

- ➡ Le 4-HNE a des effets neurotoxiques du peptide A β . Il joue un rôle important dans la médiation des réactions de stress oxydatif.
- ➡ Les niveaux élevés de 4-HNE soulignent l'importance de la peroxydation lipidique étant une réaction importante dans la maladie d'Alzheimer.
- ➡ Une production accrue de 4-HNE indique une augmentation d'un état du stress oxydatif, ce qui n'est pas évident avec le marqueur MDA plus courant. L'élévation de ce paramètre semble lier au degré de déficience cognitive (McGRATH *et al.*, 2000).

2.8. La glutathion réductase

Les activités GR sont considérablement réduites ($p < 0.001$) entre le groupe témoin et le groupe nano-Hst (20 mg/kg) est aussi important ($p < 0.05$) que le groupe STZ. (Kheradmand *et al.*, 2018).

➡ Le GR régit la réaction qui aide à la régénération du Glutathion (GSH) (Bhatti *et al.*, 2016).

2.9. La catalase

La CAT a présenté une diminution hautement significative ($p < 0.01$) entre le groupe nano-Hst et le groupe témoin, mais elle a noté une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) chez le nano-Hst (20mg/kg) par rapport au groupe STZ (Kheradmand *et al.*, 2018).

➡ La catalase se produit dans presque tous les organismes respirent aérobiquement et sert à protéger les cellules des effets toxiques du peroxyde d'hydrogène.

➡ Le CAT pousse la réaction de SOD un peu plus loin et transforme le peroxyde d'hydrogène en eau (Bhatti *et al.*, 2016).

➡ La diminution de l'activité de CAT a entraîné une augmentation globale du stress oxydatif par une accumulation d' H_2O_2 , dans plusieurs régions cérébrales post-mortem, allant des régions bénignes aux régions sévèrement touchées de la MA (Youssef *et al.*, 2018).

2.10. La capacité antioxydant totale sérique, l'oxyde nitrique plasmatique et Activité totale de l'hème oxygénase

Tableau 10. Résultats de la capacité antioxydant totale sérique, l'oxyde nitrique plasmatique et activité totale de l'hème oxygénase

Etude	Paramétrévaluée	Interprétation
Agahi <i>et al.</i> , 2018	TAC	Aucun changement
Agahi <i>et al.</i> , 2018	NO	Aucun changement
Youssef <i>et al.</i> , 2018	HO	↗↗ ⁺⁺

++P=0.04 : différence significative entre les patients et les témoins ;

↗↗: Augmentation significative

➡ La capacité antioxydant totale (TAC) est une analyte fréquemment utilisé pour évaluer le statut antioxydant des échantillons biologiques et peut évaluer la réponse antioxydante contre les radicaux libres produits dans une maladie donnée (Rubio *et al.*, 2016).

➡ NO ou oxyde nitrique a des multiples effets physiologiques en tant que vasodilatateur, médiateur inflammatoire et neuromodulateur permettent un effet coordonné sur la fonction cérébrale (Balez *et al.*, 2016).

- ➡ Le HO est un cytoprotecteur cellulaire majeur dont la régulation est un événement précoce de la réponse adaptative au stress. Il fonctionne également dans le système nerveux périphérique pour catalyser une gamme diversifiée d'activités vitales, telles que les suivantes : nonadrenergic, noncholinergic gastrointestinale relaxation; vasodilatation; et l'inhibition de l'agrégation plaquettaire.
- ➡ La dégradation de l'hème à médiation HO produit de la biliverdine, qui est presque immédiatement réduite à la bilirubine (BR) par la biliverdine réductase (BVR). Deux isoformes BVR ont été décrits : BVR-A et BVR-B. Cependant, seul BVR-A réduit BV-alpha en BR, qui est une molécule antioxydante et antinitrosative forte (Kurucz *et al.*, 2018).

2.11. Estimation de la peroxydation

Les peroxydes dans le sérum des patients prenant de la D-pénicillamine sont diminués de 29 % par rapport à leur évaluation t0 (Squitti *et al.*, 2002).

Les auteurs ont remarqué une légère diminution ($p=0.004$) dans l'AD-STG (le gyrus temporal supérieur du cas AD) par rapport aux témoins (Youssef *et al.*, 2018 ; Kheradmand *et al.*, 2018).

- ➡ La peroxydation lipidique est un processus qui se produit normalement à de niveaux faibles dans toutes les cellules et les tissus. Il implique la conversion des acides gras insaturés en hydroperoxydes lipidiques. Ce processus est initié par des radicaux libres. L'organisme possède des mécanismes antioxydants qui limitent ce processus (Chaba, 2019).
- ➡ Les données indiquent que l'AD-STG est moins capable de détoxifier l'organisme des peroxydes accumulés, de multiples voies enzymatiques antioxydantes par rapport aux témoins correspondants.

2.12. Activité de la Caspase

Ce biomarqueur de l'apoptose était légèrement plus élevé dans les homogénats AD-STG par rapport aux témoins, bien que cela n'est pas atteint la signification statistique ($p = 0.08$).

- ➡ Par conséquent, les données étaient cohérentes avec la mort cellulaire non altérée à médiation caspase (c-à-d., apoptose intrinsèque) dans l'AD-STG (Youssef *et al.*, 2018).

3. Etude de technique immunohistochimique

3.1. Les plaques carottées apparaissent tôt dans le cerveau Tg2576 :

- ✓ À 7-8 mois, des plaques à noyau dense contenant à la fois A β 40 (BA-27) et A β 42 (BC-05) sont apparues dans le cerveau du Tg2576 (Fig.9 M,N). Ces plaques précoces ont été

tachées par Congo-rouge ont montré une biréfringence verte avec une lumière polarisée (données non montrées).

- ✓ Ils ont augmenté entre 7 et 10 mois, mais, même à 10 mois, ils n'ont que peu de chances d'être représentatifs (fig.9.K, L).
- ✓ À 12-15 mois, des plaques diffuses apparaissent et étaient étiquetées de préférence par l'anticorps BC-05 à A β 42 (fig.9. G–J).
- ✓ Entre 15 et 23 mois, les plaques A β dans le cerveau Tg2576 (fig.9 C–H) se sont accumulées à des niveaux semblables à ceux observés dans le cerveau AD (fig. 9A,B) .
- ✓ Les vaisseaux sanguins méningés et parenchymateux du cerveau ont également montré une accumulation progressive de A β (Kawarabayashi *et al.*.,2001).

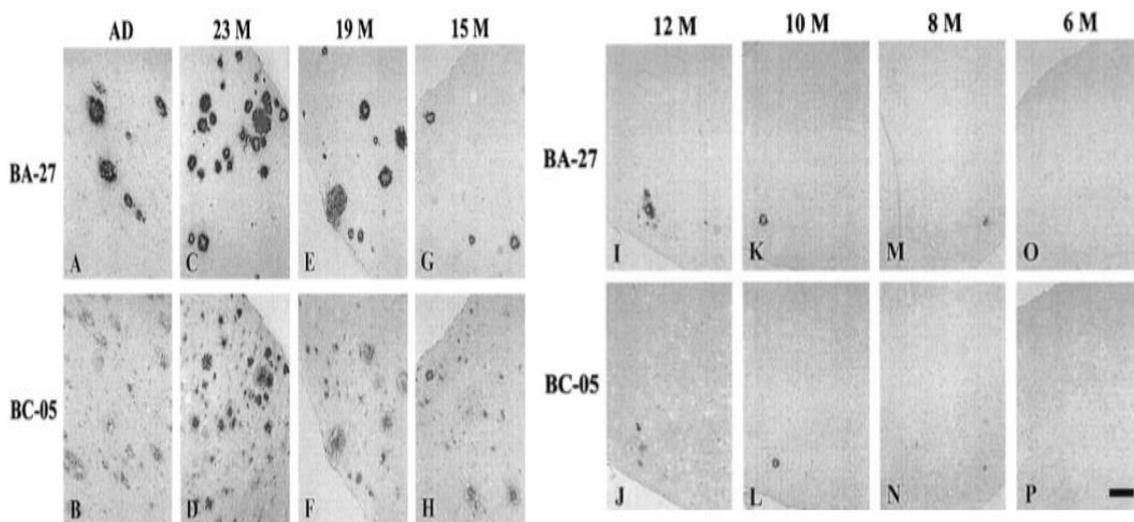


Figure 9. immunohistochimie des cerveaux atteints de la MA (A,B) et du vieillissement Tg2576 (C-P). A β 40 (coloré par BA-27) et A β 42 (coloré par BC-05) sont détectés comme des micro dépôts denses de 8(M,N) à 12(I,J) mois. de 15 à 23 mois (C-H) les dépôts A β augmentent en nombre et en taille et sont détectés à la fois par BC-05 et BA-27 et sous forme de plaques à usage différent, qui sont marquées de manière sélective par BC-05. les sections ont une épaisseur e 5 heures. Barre d'échelle, 15 μ m (Kawarabayashi *et al.*.,2001).

3.2. Cerveau Tg2576 et augmente avec le vieillissement à un niveau comme celui vu dans le cerveau AD

Dans le cerveau des souris Tg2576 de 21 mois, dans lesquelles il existe de nombreuses plaques séniles contenant des amyloïdes (fig. 9).

Le changement biochimique sans équivoque qui s'est produit entre 6 et 10 mois s'est accompagné d'une preuve immunocytochimique minimale de dépôt d'A β , bien que des plaques isolées et échantillonnées aient été observées dans pratiquement toutes les sections lors d'une inspection minutieuse (fig.9) (Kawarabayashi *et al.*,2001).

3.3.N-terminalemodifiéA β s s'accumulent dans le vieillissement du cerveau Tg2576

Des anticorps qui détectent des modifications N-terminales spécifique de A β ont été utilisés pour analyser le cerveau Tg25676 de 23 mois par immunocytochimie (fig. 10). Comparaison de 4G8, qui détecte pratiquement tout A β indépendamment de modification, et anti-N1(D), qui spécifiquement détecte non modifiée A β , confirme que la plupart des cerveaux A β dans 8-23 mois Tg2576 est non modifiée (fig10, N1(D) contre 4G8). Isomérisé A β (N1iD) accumulé à un faible niveau dans 8-23 mois Tg2576 cerveau (fig5), stéréoisomérisé A β (N1rD) accumulé avec le vieillissement entre 8 et 23 mois dans le cerveau Tg2576 et à 23 mois a été intensément étiqueté dans le cerveau Tg2576 (fig11). L'analyse histochimique (fig10) a montré que A β N3-pyroglutamate (N3(pE)) apparaît tardivement dans le cerveau Tg2576, s'accumulant entre 16 et 23 mois (Kawarabayashi *et al.*,2001).

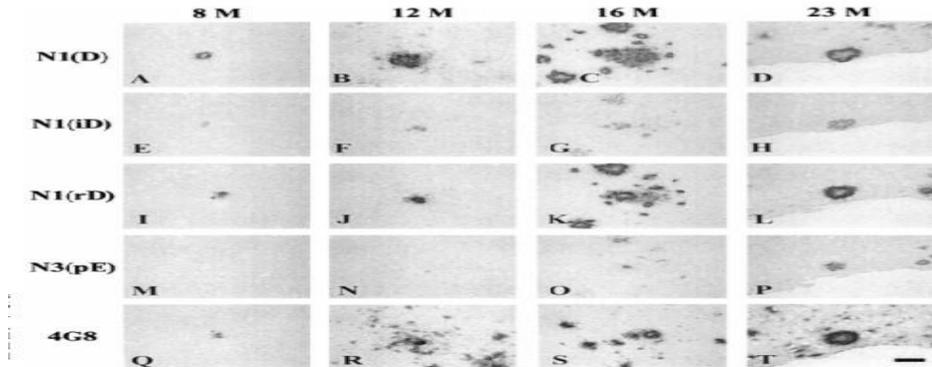


Figure 10. Analyse immunohistochimique des formes modifiée d'A β dans le vieillissement du cerveau Tg2576. Des sections sérielles (5mm) du cortex cérébral Tg2576 ont été étiquetées comme étant anti-N1(D), anti-N1(iD), anti-N3(pE), et 4G8. L'Age du cerveau de la souris analysé est indiqué en haut de chaque série de section. Barre d'échelle, 17 mm(Kawarabayashi *et al.*,2001).

3.4.Détection de pathologie avancée A β mais tôt tau dans AD-STG

Détection de pathologie avancée de A β mais têt de tau dans AD-STG. la région de STG des cas d'AD (AD-STG) dans cette cohorte a montré la pathologie typique d'AD avec beaucoup plus de plaques (à la fois diffuses et cored) et les neurones positifs d'AT8 (Fig.12. A) (Youssef *et al.*,2018).

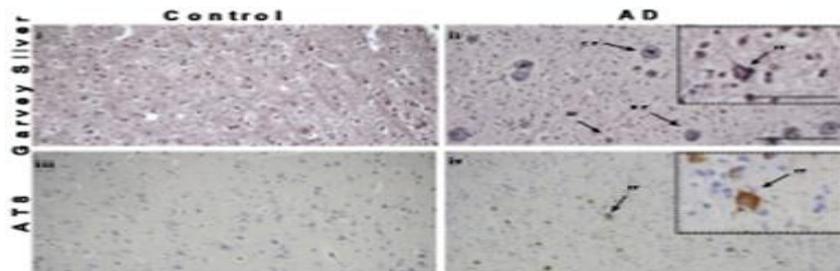


Figure 11.Pathologie de l'AD-STG.Photomicrographies de taches d'argent de Garvey provenant du STG de (i) un témoin ne présentant aucune pathologie et (ii) un cas de MA avec de nombreuses plaques et un seul NFT intracellulaire (indiqué par \rightarrow) (Youssef *et al.*,2018).

3.5.Évaluation des dommages oxydatifs dans l'AD-STG

Les lésions des tissus oxydatifs ont été déterminées par immunomarquage pour le 4-hydroxynonéal. Il n'y avait aucune différence entre les cas étudiés et les témoins (fig. A,B) (Youssef *et al.*,2018).

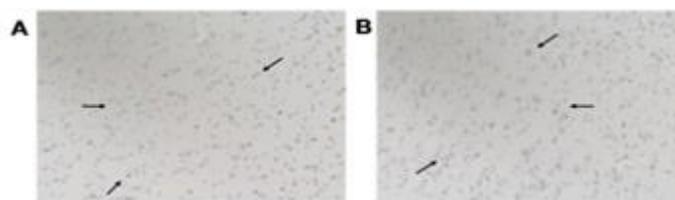


Figure12. 4-HNE immunoréactivité dans AD- et contrôle-STG. Photomicrographies de 4-HNE immunomarquage de la matière grise STG dans un (A) témoin et (B) cas AD(Youssef *et al.*,2018).

4. Corrélations entre les marqueurs biochimiques et la pathologie MA

Dans l'ensemble, un manque de corrélations et une certaine incohérence dans les relations utilisant différents biomarqueurs de la MA. Parmi ceux qui présentaient des relations linéaires, l'activité totale du HO était significativement et positivement corrélée avec la fraction aréale de la plaque STG ($p = 0,04$, $r2 = 0,21$) ainsi qu'avec les NPF totaux dans

l'AD-STG ($r_2 = 0,24$, $p = 0,03$). De plus, l'activité totale de la DOE a été positivement corrélée avec les NPF totaux ($r_2 = 0,23$, $p = 0,03$), tandis que les activités totales de CAT (Fig. D) et de Prx ($p = 0,02$, $r_2 = 0,26$) étaient négativement corrélées avec les cellules AT8-taupositive (Youssef et al., 2018).

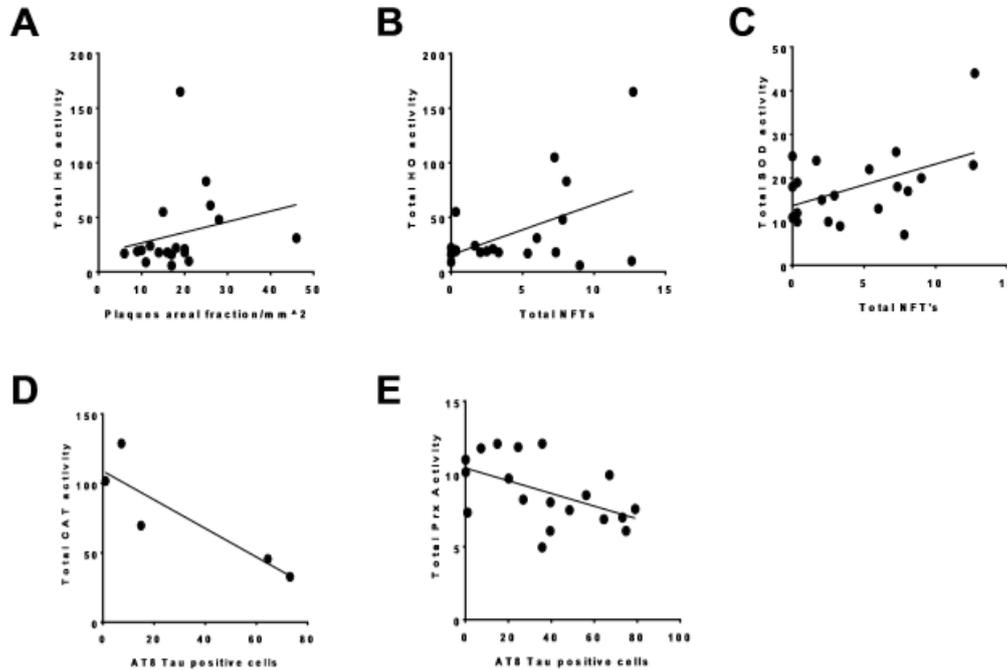


Figure 13. Résultats corrélatifs de l'activité HO, SOD, CAT et Prx avec la pathologie AD. L'activité totale du HO dans le STG AD a été corrélée avec la fraction aréale (A) de la plaque ($p = 0,04$, $r_2 = 0,21$) et (B) des FNT totaux ($p = 0,03$, $r_2 = 0,24$). De plus, les FNT totaux (C) ont été corrélés avec l'activité totale de la SOD ($p = 0,03$, $r_2 = 0,23$) tandis que le nombre d'AT8- Les cellules tau positives ont été corrélées avec (D) l'activité totale du CAT ($p = 0,05$, $r_2 = 0,77$) et (E) l'activité totale du Prx ($p = 0,02$, $r_2 = 0,26$).

Conclusion

Conclusion

Cette étude a révélé que la maladie d'Alzheimer chez les personnes âgées est responsable de perturbation d'un certain paramètres au niveau sanguin, cellulaire et par conséquence au niveau tissulaire :

- Une augmentation de cholestérol et d'IL-6 ;
- Une diminution de l'activité de CK BB ;
- Elévation des paramètres neurochimiques (Tau, A β , APP) ;
- Une augmentation de 4-HNE et MDA ;
- Diminution des activités GSH et GRX ;
- Une accumulation des plaques A β ;
- Une diminution des enzymes antioxydantes responsables de la détoxification du H₂O₂

Nous avons décrit aussi les différents stades du développement de la maladie d'Alzheimer en montrant via une étude histopathologie avec le degré de sévérité de la maladie qui se finit par une augmentation des plaques A β , le stress oxydatif pourra être aussi en cause.

Les promesses attendues des recherches concernant des traitements « disease-modifier » ne se sont pas encore concrétisées.

Diverses études (bapineuzumab et solanézumab) ont été négatives pour leurs critères principaux de jugement à savoir l'amélioration de la cognition et le maintien de l'autonomie.

Références bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abe, A., Yamashita, S., & Noma, A. (1989). Sensitive, direct colorimetric assay for copper in serum. *Clinical chemistry*, 35(4), 552–554.
- Agahi, A., Hamidi, G. A., Daneshvar, R., Hamdieh, M., Soheili, M., Alinaghpour, A., Esmaeili Taba, S. M., & Salami, M. (2018). Does Severity of Alzheimer's Disease Contribute to Its Responsiveness to Modifying Gut Microbiota? A Double Blind Clinical Trial. *Frontiers in neurology*, 9, 662.
- Aksenov, M., Aksenova, M., Butterfield, D. A., & Markesbery, W. R. (2000). Oxidative modification of creatine kinase BB in Alzheimer's disease brain. *Journal of neurochemistry*, 74(6), 2520–2527.
- Alzheimer's Association. (2020) Alzheimer's disease Facts and Figures. *Alzheimers Dement*, 2020;16(3):391+
- Alzheimer's Association. (2019) Alzheimer's disease Facts and Figures. *Alzheimers Dement*, 2019;15(3):3
- Arnold, M., Nho, K., Kueider-Paisley, A., Massaro, T., Huynh, K., Brauner, B., MahmoudianDehkordi, S., Louie, G., Moseley, M. A., Thompson, J. W., John-Williams, L. S., Tenenbaum, J. D., Blach, C., Chang, R., Brinton, R. D., Baillie, R., Han, X., Trojanowski, J. Q., Shaw, L. M., Martins, R., ... Kastenmüller, G. (2020). Sex and APOE ϵ 4 genotype modify the Alzheimer's disease serum metabolome. *Nature communications*, 11(1), 1148.
- Balez, R., & Ooi, L. (2016). Getting to NO Alzheimer's Disease: Neuroprotection versus Neurotoxicity Mediated by Nitric Oxide. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 3806157.
- Balmuş, I. M., Strungaru, S. A., Ciobica, A., Nicoara, M. N., Dobrin, R., Plavan, G., & Ștefănescu, C. (2017). Preliminary Data on the Interaction between Some Biometals and Oxidative Stress Status in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease Patients. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 7156928.

- Benzie, I.F., Strain, J.J.(1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry* 239, 70–76 (1996).
- Bermejo, P., Gómez-Serranillos, P., Santos, J., Pastor, E., Gil, P., & Martín-Aragón, S. (1997). Determination of malonaldehyde in Alzheimer's disease: a comparative study of high-performance liquid chromatography and thiobarbituric acid test. *Gerontology*, 43(4), 218–222.
- Bhatti, A. B., Usman, M., Ali, F., & Satti, S. A. (2016). Vitamin Supplementation as an Adjuvant Treatment for Alzheimer's Disease. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 10(8), OE07–OE11.
- Bhushan, I., Kour, M., Kour, G., Gupta, S., Sharma, S., & Yadav, A. (2018). Alzheimer’s disease: Causes & treatment–A review. *Ann Biotechnol*, 1(1), 1002.
- Blennow, K., & Zetterberg, H. (2015). The past and the future of Alzheimer's disease CSF biomarkers—a journey toward validated biochemical tests covering the whole spectrum of molecular events. *Frontiers in neuroscience*, 9, 345.
- Bonhomme, M. (2013). Le repérage précoce de la Maladie d'Alzheimer en médecine générale: enquête auprès de 205 médecins généralistes de la Haute-Vienne (Doctoral dissertation).
- Bonnefont-Rousselot, D., Thérond ,P., Delattre ,J.2007. Radicaux libres et antioxydants. In : Delattre ,J., Durand, G ., Jardillier J-C. *Biochimie pathologique.Apects moléculaires et cellulaires*. Paris : ed Médecine-Sciences Flammarion.p59.
- Bruno Giordani, Associate Director, Michigan Alzheimer’s disease Center. (2018). *The Latest in Alzheimer’s Disease Research*, 2018.
- Bürklen, T. S., Schlattner, U., Homayouni, R., Gough, K., Rak, M., Szeghalmi, A., & Wallimann, T. (2006). The creatine kinase/creatine connection to Alzheimer's disease: CK-inactivation, APP-CK complexes and focal creatine deposits. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2006(3), 35936.:1

- Butterfield, D. A., & Halliwell, B. (2019). Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(3), 148-160.
- Butterfield, D. A., Poon, H. F., Clair, D. S., Keller, J. N., Pierce, W. M., Klein, J. B., & Markesbery, W. R. (2006). Redox proteomics identification of oxidatively modified hippocampal proteins in mild cognitive impairment: insights into the development of Alzheimer's disease. *Neurobiology of disease*, 22(2), 223-232.
- Button, E. B., Robert, J., Caffrey, T. M., Fan, J., Zhao, W., & Wellington, C. L. (2019). HDL from an Alzheimer's disease perspective. *Current opinion in lipidology*, 30(3), 224–234.
- Buerger, K., Frisoni, G., Uspenskaya, O., Ewers, M., Zetterberg, H., Geroldi, C., Binetti, G., Johannsen, P., Rossini, P. M., Wahlund, L. O., Vellas, B., Blennow, K., & Hampel, H. (2009). Validation of Alzheimer's disease CSF and plasma biological markers: the multicentre reliability study of the pilot European Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (E-ADNI). *Experimental gerontology*, 44(9), 579–585.
- Caglayan, S., Takagi-Niidome, S., Liao ,F., Carlo ,A.S., Schmidt, V., Burgert ,T., Kitago, Y., Füchtbauer, E.M., Füchtbauer, A., Holtzman ,D.M., Takagi, J., Willnow, T.E.(2014). malade Alzheimer : la régulation du peptide A β dans le cerveau. Lysosomal Sorting of Amyloid- β by the SORLA Receptor Is Impaired by a Familial Alzheimer's Disease Mutation. *Sci Transl Med*. 2014 Feb 12;6(223).
- Cervellati, C., Trentini, A., Rosta, V., Passaro, A., Bosi, C., Sanz, J. M., Bonazzi, S., Pacifico, S., Seripa, D., Valacchi, G., Guerini, R., & Zuliani, G. (2020). Serum beta-secretase 1 (BACE1) activity as candidate biomarker for late-onset Alzheimer's disease. *GeroScience*, 42(1), 159–167.
- Cenini, G., Lloret, A., & Cascella, R. (2019). Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From a Mitochondrial Point of View. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 2105607.
- Ceyzériat, K., Zilli, T., Millet, P., Frisoni, G. B., Garibotto, V., & Tournier, B. B. (2020). Learning from the Past: A Review of Clinical Trials Targeting Amyloid, Tau and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer research*, 17(2), 112–125.

- Chahba , R. 2019. Maladie coeliaque chez l'adulte: etude histopathologique, biochimique et implication du stress oxydatif, dans la region d'Annaba et de Biskra.Mémoire de master, université Mohamed Khider, Biskra,29p.
- Chang, Y. T., Chang, W. N., Tsai, N. W., Huang, C. C., Kung, C. T., Su, Y. J., Lin, W. C., Cheng, B. C., Su, C. M., Chiang, Y. F., & Lu, C. H. (2014). The roles of biomarkers of oxidative stress and antioxidant in Alzheimer's disease: a systematic review. *BioMed research international*, 2014, 182303.
- Chen, Z., & Zhong, C. (2014). Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neuroscience bulletin*, 30(2), 271–281.
- Crews, L., & Masliah, E. (2010). Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Human molecular genetics*, 19(R1), R12–R20.
- De-Paula, V. J., Radanovic, M., Diniz, B. S., & Forlenza, O. V. (2012). Alzheimer's disease. *Sub-cellular biochemistry*, 65, 329–352.
- El Kadmiri, N., Said, N., Slassi, I., El Moutawakil, B., & Nadifi, S. (2018). Biomarkers for Alzheimer Disease: Classical and Novel Candidates' Review. *Neuroscience*, 370, 181–190.
- Esterbauer, H., & Cheeseman, K. H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in enzymology*, 186, 407–421.
- Fleisher, A. S., Sowell, B. B., Taylor, C., Gamst, A. C., Petersen, R. C., Thal, L. J., & Alzheimer's Disease Cooperative Study (2007). Clinical predictors of progression to Alzheimer disease in amnesic mild cognitive impairment. *Neurology*, 68(19), 1588–1595.
- Fukuzawa,k., Tokumurai,A.(1976). Glutathione peroxidase activity in tissues of vitamin Edeficient mice, *J. Nutr. Sci. Vitaminol*, 22 (1976) 405–407.
- Gao, Y., Tan, L., Yu, J. T., & Tan, L. (2018). Tau in Alzheimer's Disease: Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Current Alzheimer research*, 15(3), 283–300.

- Genet, S., Kale, R. K., & Baquer, N. Z. (2002). Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*). *Molecular and cellular biochemistry*, 236(1-2), 7–12.
- Gokce, M., Bektay, M. Y., Selvitop, R., Toprak, A., & Yildiz, G. B. (2019). Investigation of the Effects of Biochemical Parameters on Alzheimer's Disease. *American journal of Alzheimer's disease and other dementias*, 34(7-8), 464–468.
- Hampel, H., Lista, S., Teipel, S. J., Garaci, F., Nisticò, R., Blennow, K., Zetterberg, H., Bertram, L., Duyckaerts, C., Bakardjian, H., Drzezga, A., Colliot, O., Epelbaum, S., Broich, K., Lehéricy, S., Brice, A., Khachaturian, Z. S., Aisen, P. S., & Dubois, B. (2014). Perspective on future role of biological markers in clinical therapy trials of Alzheimer's disease: a long-range point of view beyond 2020. *Biochemical pharmacology*, 88(4), 426–449.
- Hane, F. T., Robinson, M., Lee, B. Y., Bai, O., Leonenko, Z., & Albert, M. S. (2017). Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 3: Diagnosis and Treatment. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 57(3), 645–665.
- Hatam, L. J., & Kayden, H. J. (1979). A high-performance liquid chromatographic method for the determination of tocopherol in plasma and cellular elements of the blood. *Journal of lipid research*, 20(5), 639–645.
- Henriques, A. D., Benedet, A. L., Camargos, E. F., Rosa-Neto, P., & Nóbrega, O. T. (2018). Fluid and imaging biomarkers for Alzheimer's disease: Where we stand and where to head to. *Experimental gerontology*, 107, 169–177.
- Høglund, K., Thelen, K. M., Syversen, S., Sjogren, M., von Bergmann, K., Wallin, A., Vanmechelen, E., Vanderstichele, H., Lutjohann, D., & Blennow, K. (2005). The effect of simvastatin treatment on the amyloid precursor protein and brain cholesterol metabolism in patients with Alzheimer's disease. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 19(5-6), 256–265.
- Iriyama, K., Yoshiura, M., Iwamoto, T., & Ozaki, Y. (1984). Simultaneous determination of uric and ascorbic acids in human serum by reversed-phase high-

performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytical biochemistry*, 141(1), 238–243.

- Idriss, H. T., & Naismith, J. H. (2000). TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microscopy research and technique*, 50(3), 184–195.
- Kawarabayashi, T., Younkin, L. H., Saido, T. C., Shoji, M., Ashe, K. H., & Younkin, S. G. (2001). Age-dependent changes in brain, CSF, and plasma amyloid (beta) protein in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(2), 372–381.
- Khan, M.M. , Ahsan, F., Ahmad, U., Akhtar, J., Badruddeen., Mujahid, M. (2016). ALZHEIMER DISEASE: A REVIEW, Volume 5, Issue 6, 649-666.
- Kheradmand, E., Hajizadeh Moghaddam, A., & Zare, M. (2018). Neuroprotective effect of hesperetin and nano-hesperetin on recognition memory impairment and the elevated oxygen stress in rat model of Alzheimer's disease. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 97, 1096–1101.
- Kim, J., Basak, J. M., & Holtzman, D. M. (2009). The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron*, 63(3), 287–303.
- Korolev, I.O. (2014). Alzheimer's Disease: A Clinical and Basic Science Review. *Medical Student Research Journal*. 2014;4(Fall):24-33.
- Kurucz, A., Bombicz, M., Kiss, R., Priksz, D., Varga, B., Hortobágyi, T., ... & Szilvássy, Z. (2018). Heme oxygenase-1 activity as a correlate to exercise-mediated amelioration of cognitive decline and neuropathological alterations in an aging rat model of dementia. *BioMed research international*, 2018.
- Lannfelt, L., Blennow, K., Zetterberg, H., Batsman, S., Ames, D., Harrison, J., Masters, C. L., Targum, S., Bush, A. I., Murdoch, R., Wilson, J., Ritchie, C. W., & PBT2-201-EURO study group (2008). Safety, efficacy, and biomarker findings of PBT2 in targeting Abeta as a modifying therapy for Alzheimer's disease: a phase IIa, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet. Neurology*, 7(9), 779–786.

- Lesser, G., Kandiah, K., Libow, L. S., Likourezos, A., Breuer, B., Marin, D., Mohs, R., Haroutunian, V., & Neufeld, R. (2001). Elevated serum total and LDL cholesterol in very old patients with Alzheimer's disease. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 12(2), 138–145.
- Magalhães, C. A., Carvalho, M., Sousa, L. P., Caramelli, P., & Gomes, K. B. (2017). Alzheimer's disease and cytokine IL-10 gene polymorphisms: is there an association?. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 75(9), 649–656.
- Mattsson, N., Zetterberg, H., Hansson, O., Andreasen, N., Parnetti, L., Jonsson, M., Herukka, S. K., van der Flier, W. M., Blankenstein, M. A., Ewers, M., Rich, K., Kaiser, E., Verbeek, M., Tsolaki, M., Mulugeta, E., Rosén, E., Aarsland, D., Visser, P. J., Schröder, J., Marcusson, J., ... Blennow, K. (2009). CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA*, 302(4), 385–393.
- Meng, X., Li, T., Wang, X., Lv, X., Sun, Z., Zhang, J., Su, F., Kang, S., Kim, S., An, S., Yu, X., Zhang, C., & Wang, H. (2019). Association between increased levels of amyloid- β oligomers in plasma and episodic memory loss in Alzheimer's disease. *Alzheimer's research & therapy*, 11(1), 89.
- McGrath, L. T., McGleenon, B. M., Brennan, S., McColl, D., McILroy, S., & Passmore, A. P. (2001). Increased oxidative stress in Alzheimer's disease as assessed with 4-hydroxynonenal but not malondialdehyde. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*, 94(9), 485–490.
- Mokhtar, S. H., Bakhuraysah, M. M., Cram, D. S., & Petratos, S. (2013). The Beta-amyloid protein of Alzheimer's disease: communication breakdown by modifying the neuronal cytoskeleton. *International journal of Alzheimer's disease*, 2013, 910502.
- Monteiro, A. F .M., Viana ,J. D. O., Nayariseri ,A., Zondegoumba ,E .N., Junior,F. J .B. M., Scotti,M.T., and Scotti,L. (2018). Computational Studies Applied to Flavonoids against Alzheimer's and Parkinson's Diseases *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Volume 2018, Article ID 7912765, 21 pages

- Moslemnezhad, A., Mahjoub, S., & Moghadasi, M. (2016). Altered plasma marker of oxidative DNA damage and total antioxidant capacity in patients with Alzheimer's disease. *Caspian journal of internal medicine*, 7(2), 88–92.
- Ng, A., Tam, W.W., Zhang, M.W. et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep* 8, 12050 (2018).
- Pădurariu, M., Balmuş, M., Ciobîcă, A., Lefter, R., Cojocaru, S., Antioch, I., Foyet, Dobrin, R., Ababei, D.C., Bild, V. 2018. Oxytocin administration improves memory, anxiety and some oxidative stress parameters in a methionine-induced rat model of schizophrenia. *Farmacia*, 2018, vol. 66, 3.
- Parry, S. N., Ellis, N., Li, Z., Maitz, P., & Witting, P. K. (2008). Myoglobin induces oxidative stress and decreases endocytosis and monolayer permissiveness in cultured kidney epithelial cells without affecting viability. *Kidney & blood pressure research*, 31(1), 16–28.
- Pinto, R. E., & Bartley, W. (1969). The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *The Biochemical journal*, 112(1), 109–115.
- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia, A.S., McNamara, J.O., White, L.E. *Neurosciences : traduction*. 4^{ème} édition, Bruxelles, Paris, p.818.
- Reisberg, B., Ferris, S. H., de Leon, M. J., et Crook, T. (2014). Psychométrie .7 stades de la maladie d'Alzheimer : Échelle de détérioration globale de Reisberg. *American Journal of Psychiatry Illustration* : American Alzheimer's Association
- Reitz, C., Tang, M. X., Schupf, N., Manly, J. J., Mayeux, R., & Luchsinger, J. A. (2010). Association of higher levels of high-density lipoprotein cholesterol in elderly individuals and lower risk of late-onset Alzheimer disease. *Archives of neurology*, 67(12), 1491–1497.
- Roberson, E. D., & Mucke, L. (2006). 100 years and counting: prospects for defeating Alzheimer's disease. *Science (New York, N.Y.)*, 314(5800), 781–784.

- Rubio, C. P., Hernández-Ruiz, J., Martínez-Subiela, S., Tvarijonaviciute, A., & Ceron, J. J. (2016). Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update. *BMC veterinary research*, 12(1), 166.
- Scheltens, P., Kamphuis, P. J., Verhey, F. R., Olde Rikkert, M. G., Wurtman, R. J., Wilkinson, D., Twisk, J. W., & Kurz, A. (2010). Efficacy of a medical food in mild Alzheimer's disease: A randomized, controlled trial. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, 6(1), 1–10.e1.
- Shang, J., Yamashita, T., Fukui, Y., Song, D., Li, X., Zhai, Y., Nakano, Y., Morihara, R., Hishikawa, N., Ohta, Y., & Abe, K. (2018). Different Associations of Plasma Biomarkers in Alzheimer's Disease, Mild Cognitive Impairment, Vascular Dementia, and Ischemic Stroke. *Journal of clinical neurology (Seoul, Korea)*, 14(1), 29–34.
- Simunkova, M., Alwasel, S.H., Alhazza, I.M. et al. Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease. *Arch Toxicol* 93, 2491–2513 (2019).
- Squitti, R., Rossini, P. M., Cassetta, E., Moffa, F., Pasqualetti, P., Cortesi, M., Colloca, A., Rossi, L., & Finazzi-Agró, A. (2002). d-penicillamine reduces serum oxidative stress in Alzheimer's disease patients. *European journal of clinical investigation*, 32(1), 51–59.
- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 6(10), a016295.
- Tatsch, E., Bochi, G. V., Pereira, R., Kober, H., Agertt, V. A., de Campos, M. M., Gomes, P., Duarte, M. M., & Moresco, R. N. (2011). A simple and inexpensive automated technique for measurement of serum nitrite/nitrate. *Clinical biochemistry*, 44(4), 348–350.
- Tanna, T., Duthey, B. (2013). Background Paper 6.11 Alzheimer Disease and other Dementias.
- Teixeira, J. P., de Castro, A. A., Soares, F. V., da Cunha, E., & Ramalho, T. C. (2019). Future Therapeutic Perspectives into the Alzheimer's Disease Targeting the Oxidative Stress Hypothesis. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(23), 4410.

- Thal, D. R., Walter, J., Saïdo, T. C., & Fändrich, M. (2015). Neuropathology and biochemistry of A β and its aggregates in Alzheimer's disease. *Acta neuropathologica*, 129(2), 167–182.
- Varadarajan,S., Kanski,J., Aksenova,M., Lauderback,C., et Butterfield,D.A. (2001). Different Mechanisms of Oxidative Stress and Neurotoxicity for Alzheimer's A β (1-42) and A β (25-35). *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 24, 5625–5631.
- von Bernhardt R. (2007). Glial cell dysregulation: a new perspective on Alzheimer disease. *Neurotoxicity research*, 12(4), 215–232.
- Xia, W., Yang, T., Shankar, G., Smith, I. M., Shen, Y., Walsh, D. M., & Selkoe, D. J. (2009). A specific enzyme-linked immunosorbent assay for measuring beta-amyloid protein oligomers in human plasma and brain tissue of patients with Alzheimer disease. *Archives of neurology*, 66(2), 190–199
- Youssef, P., Chami, B., Lim, J. et al. Evidence supporting oxidative stress in a moderately affected area of the brain in Alzheimer's disease. *Sci Rep* 8, 11553 (2018).
- William,C., Shiel,J.R., FACP., FACR.(2016). *Dementia, Alzheimer's, and Aging Brains*

تهدف دراستنا إلى تقييم العوامل الكيميائية الحيوية، وتحديد الآثار المترتبة على الإجهاد التأكسدي والفحص الهستولوجي لدى المرضى المسنين المصابين بمرض الزهايمر من الجنسين، حيث قمنا بمقارنة المرضى بالشواهد. تم تحليل العوامل الكيميائية الحيوية باستخدام طرق قياس الطيف الضوئية، وتم فحص الهرمونات باستخدام أساليب المناعة الإنزيمية، بينما أجريت الدراسة الهستولوجية باستخدام الأساليب المناعية. ونتيجة الإنقطاع الملحوظ في الكيمياء الحيوية ومعلومات الإجهاد المؤكدة لدى مرضى الزهايمر ثم درسنا تراكم الصفائح النشوية وبروتينات تاو في دماغ مرضى الزهايمر.

الكلمات المفتاحية: مرض الزهايمر، اميلويد، تاو، الإجهاد التأكسدي، التشريح المرضي

Résumé :

Notre étude est concentrée sur l'évaluation des paramètres biochimiques, l'implication du stress oxydatif et une étude histopathologique chez les patients âgés atteints la maladie d'Alzheimer dans les deux sexes. Ce but est réalisé d'après une analyse de certains articles scientifiques ; les analyses biochimiques ont été réalisées en se basant sur des méthodes spectrophotométriques et immunoenzymatiques, alors que l'étude histologique a été réalisé par la méthode immunohistochimique. Les auteurs ont trouvé une perturbation remarquable de la biochimie et des paramètres du stress oxydatif chez les Alzheimer. De plus, une accumulation des plaques amyloïdes et des protéines Tau, a été prouvée dans le cerveau de des animaux et des personnes souffrants de la maladie.

Mots-clés : maladie Alzheimer, amyloïde, Tau, stress oxydatif, histopathologie

Summary:

Our study focuses on the assessment of biochemical parameters, determining the implication of oxidative stress and histopathological examination in elderly patients with Alzheimer's disease in both sexes. We compared the patients with the witness. Biochemical analyses were assayed using spectrophotometric methods, and hormone assays were assayed using enzymatic immune methods, while the histological study was performed using immunolabelling methods. Our results a remarkable disruption of biochemistry and parameters of oxidative stress in Alzheimer's patients. Ando also, the accumulation of amyloid plaques and tau proteins in the brain of Alzheimer's disease.

Key words: Alzheimer's disease, amyloid, Tau, oxidative stress