



THESE DE DOCTORAT DE L'ETABLISSEMENT UNIVERSITE BOURGOGNE FRANCHE-COMTE

PREPAREE A LA FACULTE DES SCIENCES GABRIEL

Ecole doctorale n°554 :Environnement-Santé

En cotutelle avec

UNIVERSITE HASSAN I –Settat –Maroc FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Ecole doctorale : Biologie santé et environnement

Doctorat de Biochimie biologie cellulaire et moléculaire

Par

Mme. Soukaina ESSADEK

**Étude des propriétés antioxydante et anti-inflammatoire de
l'huile d'argan dans la dérégulation du métabolisme
peroxysomal**

Thèse présentée et soutenue à « Settat, Maroc », le « 20/12/2022 »

Composition du Jury :

M. MORJANI, Hamid	Université de Reims Champagne-Ardenne Reims, France	
M. MOUJAHID, Abderrahman	Université Hassan I ^{er} , Settat, Maroc	
Mme. LABRAZI, Halima	Université Hassan II, Casablanca, Maroc	
M. BAIDANI, Aziz	Université Hassan I ^{er} , Settat, Maroc	
Mme. BENBACHIR, Mariam	Université Hassan I ^{er} , Settat, Maroc	
M. CHERKAOUI MALKI Mustapha	Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France	Directeur de thèse
M. ANDREOLETTI, Pierre	Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France	Codirecteur de thèse
M. NASSER, Boubker	Université Hassan I ^{er} , Settat, Maroc	Codirecteur de thèse

DEDICACE

Je dédie cette thèse

A mes chers parents

Pour votre amour inconditionnel, pour vos encouragements et vos sacrifices et pour la confiance que vous m'avez accordés, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous porte

A mes adorables sœurs

Khadija et Fatima Ezzahraa

A mes chères nièces et neveux

Aya, Mohammed amine, Malak, Lilya et Jad

A mes chers beaux frères

Youness et Karim

A la mémoire de mon petit ange Taha qui nous a quitté trop tôt

REMERCIEMENT

A Monsieur le professeur et mon directeur de thèse, Pr.

AVANT PROPOS

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé dans les laboratoires suivants

- ❖ Laboratoire de Biochimie et Neurosciences (LBN) à la Faculté des Sciences et Technique, Université Hassan 1^{er}, Settat, Maroc, sous la direction scientifique de Monsieur le professeur **Boubker NASSER**.
- ❖ Laboratoire de Biochimie du Peroxysome, Inflammation et Métabolisme Lipidique (Bio-PeroxiL) à la Faculté des Sciences Gabriel, Université de Bourgogne, Dijon, France, sous la direction de Monsieur le professeur **Mustapha CHERKAOUI-MALKI** et le co-encadrement de Monsieur le professeur **Pierre Andreoletti**.
- ❖ Laboratoire de biologie de reproduction des plantes et microscopie avancée, Station expérimental de Zaidin, département de biochimie, biologie cellulaire et moléculaire des plantes, Granada, Espagne sous la direction de Monsieur le professeur **Juande Ramirez**.

Les travaux de cette thèse ont reçu le soutien financier du Comité Mixte Inter-universitaire Franco-Marocain (n° TBK 19/92 n° Campus France: 41501RJ) du Programme Hubert Curien (PHC) Toubkal, du Ministère des Affaires Etrangères (France), du Conseil Régional de Bourgogne (France), du Ministère de l'enseignement et de la Recherche(France), de l'école doctorale des sciences de la vie et de la santé de l'université de Bourgogne (France), du programme national d'appui à la recherche sectorielle du Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique (Maroc), du Ministère de l'éducation nationale, de l'enseignement supérieur de la formation des cadres et de la recherche scientifique (Maroc), et de l'école doctorale des sciences techniques de l'université Hassan 1^{er} (Maroc).

Listes des travaux scientifiques

Publications associées à la thèse

- **Soukaina Essadek**, Habiba Bouchab, Riad El Kebbaj, Catherine Gondcaille, Soufiane El Kamouni, Stéphane Savary, Joseph Vamecq, Abdelkhalid Essamadi, Mustapha Cherkaoui-Malki, Boubker Nasser, and Pierre Andreoletti
“**Effects of a Short-Term Lipopolysaccharides Challenge on Mouse Brain and Liver Peroxisomal Antioxidant and β -oxidative Functions: Protective Action of Argan Oil**” *Pharmaceuticals*.2022,15, 465.<https://doi.org/10.3390/ph15040465>
- **Soukaina Essadek**, Elena Lima-Cabello, Soufiane El Kamouni, Riad El Kebbaj, Abdelkhalid Essamadi, Gérard Lizard, Pierre Andreoletti, Mustapha Cherkaoui-Malki, Boubker Nasser and Juan de Dios Alché.
“**Modulatory effects of the addition of argan and olive oils on oxidative and nitrosative stress induced in *Tetrahymena pyriformis***” Article en correction.
- **Soukaina Essadek**, Catherine Gondcaille, Stéphane Savary, Joseph Vamecq, Mohammad Samadi, Gérard Lizard, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, Pierre Andreoletti
“**Two argan oil phytosterols, schottenol and spinasterol, attenuate oxidative stress and restore LPS-dysregulated peroxisomal functions in BV-2 microglial cells**” Article en correction

Autres travaux de recherches

- Imen Ghzaiel, Amira Zarrouk, **Soukaina Essadek**, Lucy Martin, Souha Hammouda, Aline Yammine, Mohamed Ksila, Thomas Nury, Wiem Meddeb, Mounia Tahri Joutey, Wafa Mihoubi, Claudio Caccia, Valerio Leonin, Mohammad Samadi, Niyazi Acarf,

Pierre Andreoletti, Sonia Hammami, Taoufik Ghrairi, Anne Vejux, Mohamed Hammami, Gérard Lizard

“Protective effects of milk thistle (*Sylibu m marianum*) seed oil and α - tocopherol against 7 β -hydroxycholesterol -induced peroxisomal alterations in murine C2C1 2 myoblasts: Nutritional insights associated with the concept of pexotherapy” Steroids. 2022

- Fatiha Brahmi, Anne Vejux , Imen Ghzaïel, Mohamed Ksila, Amira Zarrouk, Taoufik Ghrairi , **Soukaina Essadek**, Stéphane Mandard , Valerio Leoni , Giuseppe Poli, Dominique Vervandier-Fasseur, Omar Kharoubi, Adil El Midaoui, Atanas G. Atanasov, Smail Meziane, Norbert Latruffe, Boubker Nasser , Balkiss Bouhaouala-Zahar, Olfa Masmoudi-Kouki, Khodir Madani, Lila Boulekbache-Makhlouf and Gérard Lizard

“ Role of Diet and Nutrients in SARS-CoV-2 Infection: Incidence on Oxidative Stress, Inflammatory Status and Viral Production” Nutrients 2022, 14, 2194.
<https://doi.org/10.3390/nu14112194>

- Imen Ghzaïel, Khoulood Sassi, Amira Zarrouk, Shubhrima Ghosh, Irundika H K Dias, Thomas Nury, Mohamed Ksila, **Soukaina Essadek**, Mounia Tahri Joutey, Fatiha Brahmi, Wafa Mihoubi, Sandrine Rup-Jacques, Mohammad Samadi, Leila Rezig, Smail Meziane, Taoufik Ghrairi, Olfa Masmoudi-Kouki, Sonia Hammami, Boubker Nasser, Mohamed Hammami, Yuqin Wang, William J Griffiths, Anne Vejux and Gérard Lizard

“ Sources of 7-ketocholesterol, metabolism and inactivation strategies: food and biomedical applications” journal of redox experimental medicine Volume 2022: Issue 1 DOI: <https://doi.org/10.1530/REM-22-0005>

Liste des communications

Communications orales

- ❖ **Soukaina Essadek**, Catherine Gondcaille, Stéphane Savary, Joseph Vamecq, Mohammad Samadi, Gérard Lizard, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, Pierre Andreoletti ; « **Two argan oil phytosterols, schottenol and spinasterol, attenuate oxidative stress and restore LPS-dysregulated peroxisomal functions in BV-2 microglial cells** » *Forthem “Food sciences lab”, Palerme, Italie, 14-16 mars 2022.*
- ❖ **Soukaina Essadek**, Pierre Andreoletti, Riad El Kebbaj, Abdelkhalid Essamadi, Gérard Lizard, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, « **Argan oil effect on oxidative stress and inflammation induced by LPS in mice brains and livers** » *Forum des Jeunes Chercheurs UBFC, Dijon, France ; Juin 2021*
- ❖ **Soukaina Essadek**, Pierre Andreoletti, Abdelkhalid Essamadi, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, « **Screening phytochimique et évaluation de l’activité antioxydante et antiradicalaire de l’huile d’argan comparé avec l’huile d’olive et l’huile de colza** » *Journée doctorale, FST, Settat, Maroc. Juin 2018.*
- ❖ **Soukaina Essadek**, Soufiane El Kamouni, Riad El Kebbaj, Abdelkhalid Essamadi, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, « **Evaluation des effets de l’huile d’Argan sur le stress oxydatif induit chez Tetrahymena pyriformis** » *Congrès internationale de l’arganier 4^{ème} édition, Agadir, Maroc, Novembre 2017.*
- ❖ **Soukaina Essadek**, Soufiane El Kamouni, Riad El Kebbaj, Abdelkhalid Essamadi, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, « **Evaluation des effets de l’huile d’Argan sur le stress nitrosactif induit chez Tetrahymena pyriformis** » *Congrès internationale de l’arganier 4^{ème} édition, Agadir, Maroc, Novembre 2017.*
- ❖ Une communication affichée « Poster » lors de la journée doctorale organisée à la FST de SETTAT : Substances Naturelles Stress et métabolisme cellulaires
« **Evaluation de l’effet protecteur de l’huile d’argan sur le stress induit par lipopolysaccharide (LPS) chez les souris** »

- ❖ Soufiane El Kamouni., El moustapha Karym., Asmaa Badreddine., Talal Sabraoui., **Soukaina Essadek**, Abdelkhalid Essamadi, Riad El Kebbjaj, Boubker Nasser, « **Evaluation de l'effet protecteur de l'huile d'argan sur le stress induit par lipopolysaccharide (LPS) chez les souris** » Journée doctorale, FST, Settat, Maroc. Juin 2017.

Communications affichées

- ❖ **Soukaina Essadek**, Elena Lima-Cabello, SoufianeEl Kamouni, Riad El Kebbjaj, Abdelkhalid Essamadi, Gérard Lizard, Pierre Andreoletti, Mustapha Cherkaoui-Malki, Boubker Nasser, Juan de Dios Alché, « **Rôle de l'huile d'argan dans l'atténuation du stress oxydatif** » 25^{ème} Journée du savoir, palais des congrès, Dijon, France. Juin 2019
- ❖ **Soukaina Essadek**, Pierre Andreoletti, Riad El Kebbjaj, Abdelkhalid Essamadi, Gérard Lizard, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, « **Argan oil attenuate LPS-induced oxidative stress in mice brains and livers** » Congrès internationale de l'arganier 5^{ème} édition, Agadir, Maroc, Décembre 2019.

Résumé

L'huile d'argan (HA) est une huile comestible extraite à partir des amandons de l'arganier *Argania spinosa* (L.) Skeels. Les travaux de cette thèse avait pour but en premier lieu l'étude de l'effet antioxydant du HA sur un modèle unicellulaire qu'est le protozoaire *Tetrahymena pyriformis*, ensuite étudier l'effet hépato et neuroprotecteur de le HA contre la dérégulation de la fonction peroxysomale et l'inflammation induite par le LPS dans un modèle *in-vivo* de souris C57BL/6J. en dernier lieu et afin d'explorer les composés de le HA responsable de son activité pharmacologique nous avons focaliser nos études sur l'étude de l'effet des deux phytostérols majeurs de le HA le schotténol et le spinastérol sur le stress oxydant et l'inflammation induite par le LPS chez un modèle de cellules microgliale BV-2 wild type et déficiente en Acox1 générée dans notre laboratoire par la technique CRISPR-Cas9.

Ce travail a permis de mieux caractériser la composition de le HA en polyphénols totaux et en flavonoïdes grâce au screening phytochimique qui a permis aussi de tester l'activité antioxydante et antiradicalaire de le HA par les tests DPPH, FRAP et ABTS. Nous avons montré que le HA a un effet protecteur contre le stress oxydatif et nitrosatif induit par le H₂O₂ et le SNP respectivement chez *T. pyriformis* cet effet a été traduit par le rétablissement des activités des enzymes antioxydantes (CAT, SOD et GPX) perturbé par le traitement avec le H₂O₂ et le SNP. Il a été montré que le LPS possède un pouvoir d'induction de stress oxydant et de l'inflammation, dans notre étude menée *in-vivo* nous avons montré pour la première fois l'activité neuro protectrice de le HA contre le stress oxydant et l'inflammation induite par le LPS comparé avec l'activité hépato-protectrice, chez la souris. Le traitement avec le HA atténuait l'activité des enzymes antioxydantes induites par le LPS ainsi que l'expression du cytokines inflammatoire TNF- α . Le HA aussi a réagi au niveau peroxysomal par la régulation de l'Acox1 et la catalase. Il a aussi montré un effet protecteur contre la peroxydation lipidique par la diminution de son marqueur MDA induit par le LPS.

En outre nous avons démontré pour la première fois que les deux phytostérols majeurs de le HA SC et SP possèdent une activité antioxydante et anti-inflammatoire. Dans la microglie le traitement avec SC et SP a permis la suppression du stress oxydatif induit par le LPS testé par la sonde H₂DCFDA et DHE, en plus les deux PS ont montré une forte inhibition de la production du NO. Au niveau peroxysomale SC et SP ont diminué l'activité et l'expression de la catalase induite par le LPS et ont augmenté l'activité et l'expression de l'Acox1 et

l'expression des transporteurs peroxysomaux ABCD1 et ABCD2 réprimé par le traitement avec le LPS. Aussi nous avons montré que SC et SP possèdent un effet modulateur du métabolisme lipidique par la régulation de l'expression du facteur de transcription PPAR- α ainsi qu'une activité anti-inflammatoire exhibé par la répression de l'expression des cytokines inflammatoires iNOS, TNF- α et IL-1 β et par l'induction de la cytokine anti-inflammatoire IL-4. L'ensemble des résultats obtenues montrait que le HA grâce à sa composition unique en acides gras polyinsaturés, et en antioxydants, possède une activité antioxydante et anti-inflammatoires au niveau cérébrale et hépatique, les PS, SC et SP montrait une grande efficacité dans l'atténuation de la neuro-inflammation au niveau de la microglie.

Mot clés : Argan, *Tetrahymena pyriformis*, Acide gras, CAT, SOD, GPX, H₂O₂, SNP, MDA Inflammation, Microglie, BV-2, Phytostérols, Peroxysome, β -oxydation, Schotténol, Spinastérol, Antydant, LPS, PPAR α , ABCD1, ABCD2, ACOX1, IL4, TNF α

Abstract

Due to the possible toxicity of synthetic antioxidants and anti-inflammatories, increasing attention has been directed to natural compounds possessing biological activity. Argan oil (AO) is an edible oil extracted from the kernels of the argan tree *Argania spinosa* (L.) *Skeels*. The aim of this thesis work was primarily to study the antioxidant effect of AO on a unicellular model which is the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, then studying the hepato and neuroprotective effect of AO against LPS-induced dysregulation of peroxisomal function and inflammation in an *in-vivo* C57BL/6J mouse model. Finally, and in order to explore the compounds of AO responsible for its pharmacological activity, we have focused our work on the study of the effect of the two major phytosterols of AO, schottenol and spinasterol, on oxidative stress and LPS-induced inflammation in a wild-type, *Acox1*-deficient BV-2 microglial cell model obtained in our laboratory by the CRISPR-Cas9 technique.

The first part of this work aimed to better characterize the composition of the AO in term of total polyphenols and flavonoids using a phytochemical screening which also permitted to test the antioxidant and antiradical activity of the AO by the DPPH, FRAP and ABTS tests. We showed that AO has a protective effect against oxidative and nitrosative stress induced by H₂O₂ and SNP respectively in *T. pyriformis* this effect was translated by the restoration of the activities of antioxidant enzymes (CAT, SOD and GPX) dysregulated by treatment with H₂O₂ and SNP. It has been shown that LPS induce oxidative stress and inflammation, in our *in-vivo* study we showed for the first time the neuroprotective activity of AO against oxidative stress and LPS-induced inflammation compared to hepatoprotective activity in mice brain and liver. Treatment with AO attenuated the activity of LPS-induced antioxidant enzymes as well as the expression of the inflammatory cytokines TNF- α . AO also reacted at the peroxisomal level through the regulation of *Acox1* and catalase. It also showed a protective effect against lipid peroxidation by decreasing its LPS-induced marker MDA.

Furthermore, we demonstrated for the first time that the two major phytosterols of AO SC and SP exhibit antioxidant and anti-inflammatory activity. In the microglia, the treatment with SC and SP suppressed oxidative stress induced by the LPS tested by the H₂DCFDA and DHE probe, in addition the two PSs showed a strong inhibition of the production of NO. At the peroxisomal level SC and SP decreased LPS-induced catalase activity and expression and increased *Acox1* activity and expression of two peroxisomal transporters ABCD1 and ABCD2

repressed by LPS. Also, we showed that SC and SP conveyed a modulatory effect of the lipid metabolism by upregulating the expression of the transcription factor PPAR- α as well as an anti-inflammatory activity exhibited by the repression of the expression of the inflammatory cytokines iNOS, TNF- α and IL-1 β and by induction of the anti-inflammatory cytokine IL-4. All the results obtained showed that AO, with its unique composition of polyunsaturated fatty acids and antioxidants, has antioxidant and anti-inflammatory activity at the cerebral and hepatic level, the PSs, SC, and SP showed great efficacy in attenuation of neuro-inflammation in microglia.

Keywords: Argan, *Tetrahymena pyriformis*, Fatty acid, CAT, SOD, GPX, H₂O₂, SNP, MDA Inflammation, Microglia, BV-2, Phytosterols, Peroxisome, β -oxidation, Schottenol, Spinasterol, Antioxidant, LPS, PPAR α , ABCD1, ABCD2, ACOX1, IL4, TNF α

Abréviations

ABC : ATP Binding Cassette

ACOX : Acyl-Coenzyme A Oxydase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNc : ADN complémentaire

AGLC : Acide Gras à Longue Chaîne

AGTLC : Acide Gras à Très Longue Chaîne

AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique

AO : Argan Oil (Huile d'Argan)

ARNm : Acide Ribonucléique messenger

ATP : Adénosine Triphosphate

BSA : Bovine Serum Albumin (sérumalbumine bovine)

Clt : Contrôle

CoA : Coenzyme A

dNTP : désoxyribonucleotide Triphosphate

D-PBE : D-Peroxisomal Bifunctional Enzyme

DPBS : Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline

EDTA : Ethylene-diamine tetraacetic acid

FAD : Flavin Adenine Dinucleotide

g : gramme

G6PH : Glucose-6-Phosphatase

HDL : High Density Lipoprotein

IL : InterLeukine

kDa : KiloDalton

Kg : kilogramme

LDL : Low Density Lipoprotein

L-PBE : L-Peroxisomal Bifunctional Enzyme

LPS : Lipopolysaccharide

LXR α : Liver X Receptor α

min : minute

ml : millilitre

mM : milli Molaire

mPTS : membrane Peroxisomal Targeting Signal

mtTFA : Mitochondrial Transcription Factor A

NAD : Nicotinamide Adenine Dinucleotide

NALD :AdrénoLeucoDystrophie Néonatale

NF κ B : Nuclear Factor kappa B

nm : nanometer

OO : Olive Oil (Huile d'olive)

PBD : Peroxisome Biogenesis Disorder

PBE : Peroxisomal Bifunctional Enzyme

PCR : Polymerase Chain Reaction

PGC-1: PPAR γ Coactivator-1

PMP : Protéines Membranaires du Peroxysome

PPAR : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor

PVDF : polyfluorure de vinylidène

qPCR : quantitative real time Polymerase Chain Reaction

RNS : Reactive Nitrogen Species

ROS : Reactive Oxygen Species

SDS : Sodium Dodécyl Sulfate

SOD : Super Oxyde Dismutase

STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription

SVF : Sérum de Veau Fœtal

TG : Triglycéride

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α

V : Volt

Vf : Volume final

VLDL : Very Low Density Lipoprotein

X-ALD : AdrénoLeucoDystrophie liée au chromosome X

ZS : Syndrome de Zellweger

μg : microgramme

μl : microlitre

μM : micromolaire

Introduction

Aujourd'hui l'implication de la nutrition dans l'apparition et /ou la progressions des maladies repose sur un nombre considérable de données scientifiques, la nutrition préventive joue un rôle important contre la morbidité et la mortalité prématurée dues essentiellement à des maladies d'origine métaboliques. Une alimentation saine à base de végétaux a été toujours associé à un risque réduit du taux de cholestérol sanguin, de la pression artérielle, de maladie cardiovasculaire, des accidents cérébraux et de la neurodégénérescence.

L'huile d'argan extraite à partir des amandons de l'arganier, *Argania spinosa Skeels*, est l'une des huiles les plus rares dans le monde et qui durant cette dernière décennie a gagné une grande importance dans le domaine nutraceutique grâce à sa composition riche et unique. Comme la plupart des huiles végétales l'huile d'argan est composé de deux fractions : une fraction saponifiable et une autre insaponifiable, la fraction glycérique est composé majoritaires par des acides gras mono et polyinsaturés. Par ailleurs, les recommandations en terme d'apports en lipides évoluent en même temps que la connaissance de leurs effets sur la santé. Bien qu'ils soient des substrats énergétiques de la cellule, les acides gras polyinsaturés joue un rôle crucial dans la fluidité membranaire, la régulation génique par l'intermédiaire de l'activation de facteurs de transcription comme les PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) le récepteur hépatique LXR (liver X receptor) ou les SREBP (sterol regulatory element binding protein), ainsi que la régulation de l'inflammation. La fraction insaponifiable est constituée de composés mineurs bioactives tels que les composés phénoliques, les tocophérols et les phytostérols (schotténol et le spinastérol). Ces composés sont à la base des propriétés pharmacologiques multiples de l'huile d'argan notamment son effet antioxydant et anti-inflammatoire.

Les travaux de cette thèse se sont focalisés en premier lieu sur l'étude de l'effet de l'huile d'argan sur le stress oxydatif et nitrosatif, chez le protozoaire *Tetrahymena pyriformis* ainsi que son effet sur l'inflammation et la fonction peroxysomale dérégulée par le LPS *in-vivo* chez la souris. Par la suite, nous avons évalué l'effet des deux phytostérols majeurs de l'huile d'argan schotténol et spinastérol sur le stress oxydatif, l'inflammation et la fonction peroxysomale chez des cellules microgliales BV2-WT et déficiente en ACOX1 utilisées comme modèle de la pseudo-adrénoleucodystrophie néonatale, une maladie neurodégénérative d'origine peroxysomale.

Sommaire

REMERCIEMENT.....	2
AVANT PROPOS	3
Listes des travaux scientifiques	5
Publications associées à la thèse.....	5
Autres travaux de recherches.....	5
Liste des communications	7
Communications orales	7
Communications affichées	8
Résumé	9
Abstract.....	11
Abréviations	13
Introduction.....	16
Liste des figures	22
Chapitre I : Arganier et huile d’argan	24
I. L’arganier.....	24
1. Aspect historique	24
2. Localisation Géographique.....	25
3. Importance écologique et socio-économique de l’arganier	26
II. L’huile d’argan.....	26
1. Extraction de l’huile d’argan	27
III. Composition de l’huile d’argan	29
1. Fraction saponifiable.....	29
2. Fraction insaponifiable.....	30
IV. Intérêt thérapeutique de l’huile d’argan	33
1. Huile d’argan et prévention des maladies cardiovasculaire	33
2. Huile d’argan et prévention des maladies neurodégénératives.....	35
3. Huile d’argan et prévention de la prolifération cancéreuse	36
4. Huile d’argan et dermo-cosmétologie	36

5. Huile d'argan et activité anti-inflammatoire.....	37
6. Autres propriétés pharmacologiques de l'huile d'argan.....	38
Chapitre II : Stress oxydatif/nitrosatif.....	39
I. Définition du stress oxydatif et nitrosatif.....	39
II. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA)	39
1. Origine et rôles physiologique	39
2. Effets nocifs des ERO/ERA.....	40
III. Stress oxydant et septicémie	41
IV. Les pathologies liées au stress oxydatif/nitrosatif	42
V. Le système antioxydant	42
1. Les antioxydants enzymatiques	43
2. Les antioxydants non enzymatiques	45
Chapitre III : Le peroxysome et la β -oxydation peroxysomale	48
I. Biogenèse du peroxysome	48
II. Morphologie et rôle métabolique.....	49
III. Les pathologies liées au dysfonctionnement peroxysomal	50
IV. La β -oxydation peroxysomale	52
1. Les enzymes impliqués dans la β -oxydation peroxysomale.....	53
2. La déficience en Acyl- CoA oxydase 1	54
3. La déficience en ACOX1 et inflammation.....	55
4. Les transporteurs ABC peroxysomaux	56
V. La relation entre les maladies peroxysomales et les maladies neurodégénératives.....	58
Matériels et Méthodes	60
Origine et méthode d'extraction des huiles	61
1. l'huile d'argan.....	61
2. L'huile d'olive	61
3. L'huile de Colza	61
I. Préparation des extraits des huiles	61
II. Screening phytochimique.....	61

1.	Dosage des polyphénols totaux	61
2.	Dosage de la teneur en flavonoïdes.....	62
III.	Evaluation du pouvoir antioxydant des huiles et de leurs extraits	62
1.	Test DPPH.....	62
2.	Test FRAP.....	63
3.	Test ABTS.....	63
IV.	Culture, traitement cellulaire et élevage des souris	64
1.	Culture et traitement des cellules de Tetrahymena pyriformis.....	64
2.	Elevage et traitement des souris :.....	65
3.	Culture des cellules BV-2 WT et Acox1-/-	66
V.	Evaluation de la cytotoxicité par le test MTT.....	67
1.	Test MTT pour Tetrahymena pyriformis	67
2.	Test MTT pour les BV2 WT et Acox1-/-	68
VI.	Evaluation des marqueurs de stress oxydatif et nitosatif.....	68
1.	Détection des ERO par la sonde H2DCFDA:	68
2.	Mesure des anions superoxydes par la dihydroéthidine dans les cellules de BV2 WT et Acox1-/-	70
3.	Dosage du monoxyde d'azote.....	70
4.	Détection de gouttelettes lipidiques intracellulaires par coloration au rouge du Nil.....	71
VII.	Préparation des homogénats cellulaires et tissulaires	71
1.	Préparation de l'homogénat cellulaire de Tetrahymena pyriformis.....	71
2.	Préparation des homogénats de tissus :.....	71
3.	Dosage des protéines.....	72
VIII.	Evaluation de l'activité antioxydante.....	72
1.	Dosage de la catalase.....	72
2.	Dosage de l'activité enzymatique de la catalase par la méthode au KMnO4.....	73
3.	Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase	73
4.	Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase	74
5.	Dosage de l'activité de ACOX1	74

IX.	Evaluation des marqueurs de stress	75
1.	Evaluation du taux du Glutathion réduit.....	75
2.	Evaluation du taux de MDA.....	75
	Western Blot.....	76
I.	Extraction des protéines	76
1.	Extraction des protéines à partir des foies et des cerveaux	76
2.	Extraction des protéines à partir des cellules BV2 WT et Acox1	76
II.	Séparation des protéines en SDS-PAGE (PolyAcrylamid Gel Electrophoresis).....	77
III.	Détection et révélation des protéines	77
	RT QPCR	78
I.	Extraction des ARN.....	78
II.	Dosage des ARN par spectrophotométrie.....	79
III.	Transcription inverse des ARN en cDNA	79
IV.	Préparation des échantillons pour la qPCR.....	79
V.	qPCR : Réaction de polymérisation en chaîne en temps réel:	80
VI.	Immunolocalisation en CLSM :.....	80
	Résultats	82
	Article 1 : Effet modulateur de l'huile d'argan sur le stress oxydatif et nitrosatif induit chez Tetrahymena pyriformis.....	83
	Article 2 : Effet de l'huile d'argan sur l'inflammation et la dérégulation de la fonction peroxysomale cérébrale et hépatique induite par le LPS chez la souris.....	75
	References	15
	Discussion	20
	Article 3 : Spinasterol et schottenol déminuent le stress oxydatif et améliore la fonction peroxysomale altéré par le LPS.....	22
	References	45
	Discussion	55
	Discussion	58
	Teneur en polyphenols totaux et flavonoïdes et activité antioxydante et antiradicalaire de l'huile d'argan comparé avec l'huile d'olive.....	59

Effet de l'huile d'argan comparé avec l'huile d'olive sur la production des ROS, le taux et l'activité des enzymes antioxydantes CAT, SOD et GPX.....	60
Effet de l'huile d'argan sur l'accumulation des gouttelettes lipidiques intracellulaires et la peroxydation des lipides membranaires chez T.pyrifomis	62
Effet de l'huile d'argan sur la dérégulation de la fonction peroxysomale et l'inflammation induite par le LPS chez la souris.....	63
Effet de l'huile d'argan sur les défense antioxydantes non enzymatiques cérébrales et hépatiques des souris.....	64
Effet protecteur de l'huile d'argan contre la peroxydation lipidique dans le cerveau et le foie des souris	65
Effet protecteur de l'huile d'argan contre l'inflammation induite par le LPS dans le cerveau et le foie des souris.....	66
Effet de l'huile d'argan sur l'expression et l'activité des enzymes antioxydantes dans le cerveau et le foie des souris.....	67
Les phytostérols et la microglie	69
Effet du SC et SP sur la fonction mitochondriale et la production des ERO induite par le LPS chez les BV2-WT et Acox1 -/-.....	70
Effet du SC et SP sur le métabolisme lipidique le transport et la dégradation des AGTL dans la microglie.....	71
Effet du SC et SP sur les cytokines pro et anti-inflammatoires dans la neuro-inflammation induite par le LPS dans la microglie	73
Conclusion et perspectives	76
Références bibliographiques	79

Liste des figures

FIGURE 1: L'ARBRE DE L'ARGANIER.....	24
FIGURE 2: DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DE L'ARGANIER AU MAROC.....	25
FIGURE 3: FRUIT DE L'ARGANIER. À GAUCHE, LE FRUIT DANS L'ARBRE. AU CENTRE, LE FRUIT AVEC UN PERICARPE DESSECHE, PUIS LES DIFFERENTS ASPECTS UNE FOIS LA NOIX DECORTIQUEE ET L'AMANDON. A DROITE, L'ETAT DES NOIX CONSERVEES AVANT EXTRACTION.	27
FIGURE 4: LES ETAPES D'EXTRACTION TRADITIONNELLE ET MANUELLE PAR DES FEMMES DE L'HUILE D'ARGAN.....	28
FIGURE 5 : LES DEUX PHYTOSTEROLS MAJEURS DE L'HUILE D'ARGAN.....	32
FIGURE 6 : SYSTÈME DE DÉFENSE ANTIOXYDANT ENZYMATIQUE.....	44
FIGURE 7 : STRUCTURES CHIMIQUES DES VITAMINS E.	45
FIGURE 9 : BIOGENESE ET DEGRADATION DES PROTEINS.....	49
FIGURE 10 : ENZYMES IMPLIQUES DANS LA B-OXYDATION PEROXYSOMALE	54
FIGURE 11 : TRANSPORTEURS ABC PEROXYSOMAUX ET LEUR IMPLICATION DANS LE METABOLISME DES LIPIDES.....	57
FIGURE 12 : TRANSFORMATION DU MTT EN FORMAZAN PAR LA SUCCINATE DESHYDROGENASE.....	67
FIGURE 13 : CLIVAGE DE LA 2',7'-DICHLORODIHYDROFLUORESCEIN DIACETATE PAR LES ESTERASES INTRACELLULAIRE.....	68

Rappel Bibliographique

Chapitre I : Arganier et huile d'argan

I. L'arganier

1. Aspect historique

Depuis plusieurs siècles, l'arganier, *Argania spinosa* (L.) Skeels (Figure 1), a suscité la curiosité des chercheurs et des voyageurs tels Al-Bekri (XI^{ème} siècle) et Chérif Al-Idrissi (XII^{ème} siècle). Parmi les ouvrages les plus anciens décrivant l'arganier et le mode d'extraction artisanal de l'huile d'argan est celui du botaniste, médecin et scientifique andalous Dya Aldin Ibn Al Baytar (XII^{ème} siècle) dans son encyclopédie botanique « Traité des simples » (Ana et al., 2018).



Figure 1: L'arbre de l'arganier avec des chèvres montées sur ses branches pour se nourrir de ses feuilles.

Dans sa description en 1515 de l'Afrique, Hassan Ben Mohammed Al Ouazzan (dit Jean-Léon de Médicis ou Léon l'Africain), écrivit de l'huile d'argan comme étant une mauvaise odeur et servant pour l'alimentation et l'éclairage. Linné en 1737 pensa que la Sicile était la patrie de l'arganier, et Biondi (1981) a découvert en Sardaigne un bois fossile du tertiaire présentant de grandes similarités avec l'arganier et qu'il a décrit sous le genre *Arganioxylon*. Cette donnée révèle sur le plan historique que les sapotacées auraient occupé des surfaces très étendues pendant l'ère tertiaire et que leur disparition et leur régression, comme dans le cas de l'arganier, seraient liées aux bouleversements climatiques de l'ère quaternaire.

3. Importance écologique et socio-économique de l'arganier

Depuis 1988 et en reconnaissance de sa valeur dans le maintien de l'équilibre écologique et économique, la forêt d'arganiers a été déclarée réserve de biosphère de l'UNESCO (Lybbert, 2007). Ainsi l'arganeraie constitue la deuxième essence forestière du Maroc après le chêne vert et joue un rôle irremplaçable dans la protection de l'environnement. Vu qu'il est un arbre des régions arides et semi-arides ses racines poussent profondément à la recherche d'eau et aident ainsi à retenir le sol, empêchant l'érosion et limitant l'avancée du désert. En dessous et autour des arbres de l'arganier poussent la flore et la faune qui prospèrent à leur tour une éco-diversité cruciale pour cette région. La région de l'Arganier aujourd'hui est estimée d'environ 800 000 hectares, soit 70 % de la surface boisée en sud-ouest du Maroc où les précipitations annuelles ne dépassent pas les 300 mm (Khallouki et al., 2005). La pulpe du fruit de l'Arganier est amère mais très riche en glucides solubles ou facilement hydrosolubles et contient également de la cellulose constituant un apport très important dans l'alimentation du bétail (Collier & Lemaire 1974). Les feuilles de l'arganier sont consommées par les dromadaires et les chèvres qui grimpent dans les arbres où elles mangent de jeunes pousses et le fruit, laissant le noyau qu'il contient. Le bois de l'arganier est très dur. Il est utilisé essentiellement comme bois de chauffage (Emberger, 1960). Dans la zone Sud-Ouest du Maroc Près de 90 % de l'économie rurale de la région dépend de l'agroforesterie à base d'arganier. L'arganeraie assure la subsistance de 2.2 millions de personnes. Les différentes productions de l'arganeraie fournissent plus de 20 millions de journées de travail dont 7.5 millions de journées essentiellement travaillées par des femmes pour la seule extraction de l'huile d'argan (Charrouf et al., 1999).

II. L'huile d'argan

L'huile d'argan est extraite à partir de l'amandon du fruit de l'arganier, *Argania spinosa* L. (Skeels). Le fruit de l'arganier a la grosseur d'une noix. Il est de forme variable ovale, arrondi ou oval. Les dimensions du fruit varient de 17 à 30 mm de long et de 10 à 17 mm de large. Sa couleur est verdâtre avant maturation, puis elle évolue vers le jaune ou jaune-brun clair puis au brun foncé une fois desséchée. Il est formé d'un péricarpe charnu ou pulpe qui recouvre un noyau très dur (noix d'argan). Cette noix renferme une à trois amandes albuminées et huileuse. L'huile d'argan est extraite de l'amande, selon l'utilisation des huiles (nutrition, cosmétique ou

la médecine) et la méthode d'extraction varie, soit traditionnelle par mortier, par presse mécanique ou en utilisant des solvants organique d'extraction (Figure 3).



Figure 3: Fruit de l'Arganier. À gauche, le fruit dans l'arbre. Au centre, le fruit avec un péricarpe desséché, puis les différents aspects une fois la noix décortiquée et l'amandon. A droite, l'état des noix conservées avant extraction.

1. Extraction de l'huile d'argan

a) Procédé d'extraction artisanale

Dans la culture berbère l'huile d'argan est traditionnellement extraite par les femmes. Les fruits murs sont collectées et débarrassées soigneusement de leurs pulpes, puis les noix sont cassées entre deux pierres et séchées à l'air dans des récipients en argile. Ensuite, les amendons sont torréfiés par un chauffage doux sur des plaques d'argiles et après refroidissement ils sont broyés avec un moulin traditionnel pour produire une pâte brunâtre (Figure 4). Cette pâte est malaxée à la main avec de l'eau chaude, ensuite pressée pour libérer une émulsion brune qui est décantée après plusieurs minutes pour extraire l'huile. Le résidu d'extraction nommé « tourteau » est amer de couleur brun foncé à noir et il est utilisé dans la fabrication du fourrage des bovins (Charrouf and Guillaume, 1999).

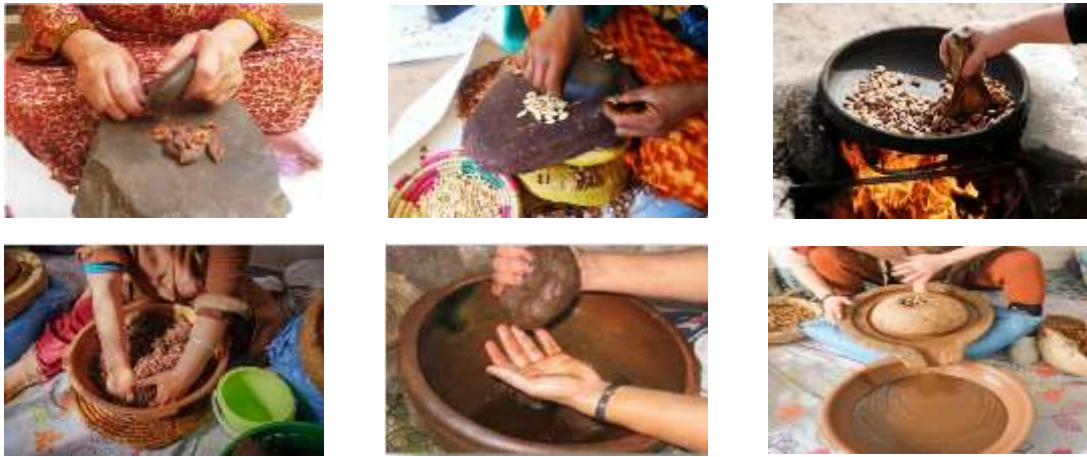


Figure 4: Les étapes d'extraction traditionnelle et manuelle par des femmes de l'huile d'Argan. Dépulpage du fruit (a), et concassage des noix (b), torréfaction traditionnelle des amandons (c) Trituration (d) malaxage (e) et pressage manuel (f)

b) Procédé d'extraction par presse mécanique

Le procédé d'extraction artisanale évoque deux problèmes majeurs liés principalement aux nombres d'heures nécessaires pour la production d'un litre de l'huile qui dépasse 20h et le problème de conservation de l'huile extraite à partir d'une pâte malaxée avec de l'eau. L'extraction par presse mécanique constitue une alternative utilisée aujourd'hui par presque la totalité des coopératives féminines. Dans ce processus la seule étape de concassage des noix est manuelle. Les fruits sont dépulpés grâce à une machine (dépulpeuse) qui sépare la pulpe de la noix, la torréfaction est faite par des torréfacteurs à gaz et la pression de la pâte pour l'obtention de l'huile est réalisée par des machines de presse. L'étape de malaxage de la pâte avec de l'eau est évitée ce qui permet une meilleure conservation de l'huile extraite, ainsi le temps de production est considérablement réduit avec un rendement supérieur à 45% par rapport à la méthode artisanale (El Abbassi et al., 2014).

Cette méthode d'extraction permet l'obtention de deux types d'huiles, une alimentaire extraite à partir des amandons torréfiés, et une huile cosmétique extraite à partir des amandons non torréfiés.

c) Le procédé d'extraction industrielle

A des fins d'utilisation industrielle et en application dans certains laboratoires, l'huile d'argan peut être extraite avec des solvants organiques lipophiles volatiles. Après évaporation du solvant, l'huile est obtenue avec un rendement de 50 à 55%. L'huile extraite par cette

méthode est d'usage exclusivement cosmétique, car elle est dépourvue de goût et d'arôme et par conséquent ne serait pas appréciée par le consommateur (Charrouf and Guillaume, 1999).

III. Composition de l'huile d'argan

Comme d'autres huiles végétales, l'huile d'argan est constituée de deux fractions, une fraction saponifiable (ou glycérique) et une fraction insaponifiable (composés mineurs).

1. Fraction saponifiable

La fraction saponifiable ou glycérique est la fraction majoritaire de l'huile d'argan avec un taux équivalent à 99% de l'huile totale. C'est une fraction composée en majorité (90-95%) de triglycérides composés d'acides gras (Rahmani, 2005). L'analyse de ces acides gras montre la présence d'une modeste quantité d'acides gras saturés, l'acide palmitique 12% suivi de l'acide stéarique (environ 5%), avec un pourcentage élevé d'acides gras mono et polyinsaturés : 45 % d'acide oléique (C 18:1) et 35 % d'acide linoléique (C 18:2n-6). Ces deux acides gras ont la particularité d'être en proportions équilibrées dans l'huile d'argan par rapport aux autres huiles comestibles, ce qui confère à l'huile d'argan de bonnes qualités diététiques (Cherki et al., 2005).

La saponification est réalisée avec du méthanol en présence de trifluorure de bore ou avec du diazométhane. Les AG et leurs esters méthyliques sont séparés, identifiés et dosés par chromatographie en phase gazeuse ou par chromatographie liquide à haute performance. Les intervalles de variation des pourcentages d'AG dans l'huile d'argane « vierge », tels que déterminés par chromatographie en phase gazeuse (% en poids d'esters méthyliques), sont présentés dans le [Tableau1].

Tableau 1 : Composition en acides gras de l'huile d'argan selon SNIMA []. (El Kebbaj, 2012).

Acide gras	Pourcentage (%)
Myristique	≤ 0,2

Pentadecaénoïque	≤ 0,1
Palmitique	≤ 11,5 – 15
Palmitoléique	≤ 0,2
Heptadecanénoïque	-
Stéarique	4,3 - 7,2
Oléique	43 - 49,1
Linoléique	29,3 - 36,0
Linoléinique	≤ 0,2
Arachidonique	≤ 0,5
Gadoléique	≤ 0,5
Béhénique	≤ 0,2

2. Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable de l'huile d'argan représente un taux faible qui ne dépasse pas 1.1% de l'huile totale. Malgré sa faible teneur, plusieurs propriétés pharmacologiques de l'huile d'argan sont attribuées à sa fraction insaponifiable. Elle est constituée principalement de composés mineurs bioactives tels que les composés phénoliques principalement l'acide férulique, vanillique et syringique, les tocophérols en particulier l'isoforme γ (75 %), les stérols notamment le schotténol et le spinastérol (Berrougui et al., 2006; Drissi et al., 2004a). Cette fraction contient également une quantité non négligeable de carotènes, d'alcools, de triterpènes et de squalène. Ces composés contribuent sensiblement à la valeur nutritionnelle de l'huile d'argan et à ses caractéristiques diététiques et organoleptiques. (Charrouf and Guillaume, 2008a; HILALI et al., 2020).

d) Les polyphénols de l'huile d'argan

Les polyphénols sont des composés bioactifs qui possèdent une activité antioxydante importante. Au regard de leur capacité dans la prévention de l'oxydation des acides gras insaturés, ces polyphénols sont responsables de la stabilité des huiles et la prolongation de leurs durées de vie. Pourtant, la teneur en polyphénols dans l'huile d'Argan (3,26 mg/Kg) est inférieure à celle de l'huile d'olive (793mg/Kg) (Pellegrini et al., 2003), par contre elle

est supérieure à celle des autres huiles végétales comestibles Les principaux polyphénols rencontrés dans l'huile d'argan sont l'acide vanillique, férulique, syringique, p-hydroxybenzoïque et 18-protocatéchiques. De même que le tyrosol, le résorcinol, le catéchol, la catéchine, l'épicatéchine et la vanilline (Tableau 2).

Tableau 2 : Composés phénolique de l'huile d'argan (Khallouki et al., 2003a

Composés phénolique	Quantité en µg/kg
Acide vanillique	67
Acide Syringique	37
Acide Férulique	3147
Tyrosol	12
Total	3263

e)

Les tocophérols de l'huile d'argan

Les tocophérols sont des antioxydants naturels présents dans les huiles végétales avec des proportions variables au regard de leur grande sensibilité à l'oxydation. Ce sont des molécules à chaînes carbonées liées à une fonction quinone. Ils participent à la conservation de l'huile et possèdent certaines propriétés thérapeutiques et antioxydantes grâce à leur capacité à piéger les radicaux libres. Les tocophérols sont présents dans les huiles végétales sous quatre isoformes : l' α -tocophérol (vitamine E), qui possède une capacité antioxydant importante (LANDRIER, 2011) le β -tocophérol, le γ -tocophérol qui représente 81,0 à 92,0 % des tocophérols totaux et le δ -tocophérol. La composition en tocophérols est variable selon la méthode d'extraction et l'origine géographique. Ce qui rend les tocophérols des composés qui constituent un critère analytique de contrôle de la qualité et la pureté de l'huile d'argan. L'huile d'argan est plus riche en tocophérol (600 à 900 mg/kg) que l'huile d'olive (50 à 150 mg/kg) (HILALI et al., 2020). La composition en tocophérols de l'huile d'argan est présentée dans le (Tableau 3).



Tocophérols	α -tocophérol	β -tocophérol	-tocophérol	-tocophérol	Total tocophérols
Huile d'argan	26.6 mg/kg	---	631.3 mg/kg	59.5 mg/kg	717.4 mg/kg

f) Les phytostérols de l'huile d'argan

Les phytostérols sont des composés naturels présents dans les plantes oléagineuses, et sont structurellement des analogues du cholestérol présentant des résidus méthyl ou éthyle, principalement en positions C28 et C29 (Figure 5) (Otaegui-Arrazola et al., 2010). L'huile d'argan «vierge» peut contenir jusqu'à 220 mg de stérols totaux (de type D7 stérols) pour 100 g d'huile. La fraction stérolique de l'huile d'argan est composée principalement du spinastérol et du schottérol. Ces derniers, appartenant à la famille Δ -7, sont rarement rencontrés dans les huiles végétales. Leurs proportions au sein des stérols totaux varient respectivement entre 34% et 44% de spinastérol, et entre de schottérol 44% et 49% (Hilali et al., 2005), les trois autres stérols sont le stigma-8,22-dien-3-ol, le stigma-7,24-dien-3-ol ainsi que le campestérol, ils sont présents en faible quantité leurs proportions varient entre 3.2% et 7% du mélange des stérols totaux (Tableau 4).

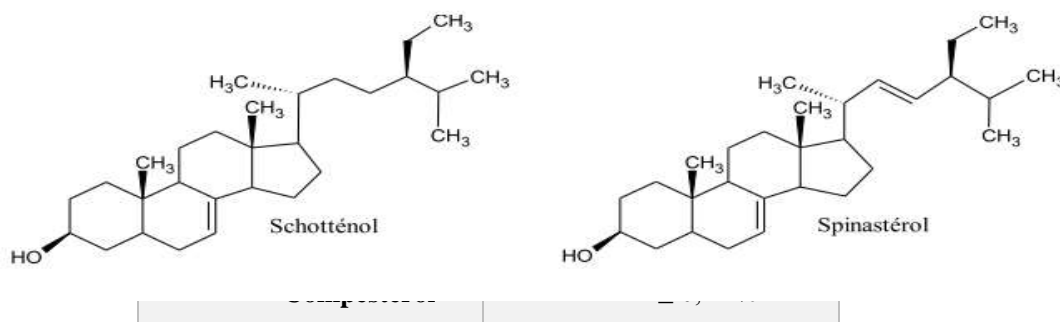


Figure 5 : les deux phytostérols majeurs de l'huile d'argan. Schottérol et spinastérol sont des analogues du cholestérol présentant des résidus méthyl ou éthyle, principalement en positions C28 et C29.

g) Les caroténoïdes et squalènes de l'huile d'argan

L'huile d'argan « vierge » doit sa coloration rougeâtre à sa teneur élevée en pigments caroténoïdes, représentés essentiellement par les xanthophylles (500 mg/kg) (Charrouf and Guillaume, 2007; Rahmani, 2005). L'huile d'argan est pauvre en provitamine A (β - carotène)

qui est un précurseur de la vitamine A, l'analyse de la provitamine A sous forme de trans- β -carotène est absente dans l'huile d'argan (Collier A, Lemaire B. Carotenoids of argan oil. *Cah NutrDiet*1974 ; 9 : 300-1). D'une autre part la teneur de l'huiles d'argan en squalènes est très importante (321 mg/100 g). Elle est nettement élevée par rapport à l'huile de tournesol (6 mg/100 g), mais elle reste inférieure à celle de l'huile d'olive (499 mg/100 g) (Khallouki et al., 2003a).

h) Alcools tritérpéniques

Ce sont des composés qui ont une grande importance du point du vue biologique. Cinq alcools tritérpéniques ont été identifiés dans l'huile d'argan qui sont : le lupéol (7,1 %), le butyrospermol (18,1 %), le tirucallool (27,9 %), le β -amyrine (27,3 %) et le 24-méthylène cycloartanol (4,5 %). Ajouter à ces composés, deux méthylstéroïls ont été mis en évidence : le 4- α -méthylstigmasta-7,24-28-diène-3 β -ol ou citrostadiénol (3,9 %) et le cycloeucalénol (< 5 %) (Rahmani, 2005). Les cinq alcools tritérpéniques de l'argan sont de distribution courante dans plusieurs végétaux, L'huile d'olive par exemple en contient à des concentrations variant de 100 à 150 mg/100g d'huile.

IV. Intérêt thérapeutique de l'huile d'argan

L'utilisation de l'huile d'argan dans la médecine traditionnelle est considérée parmi les premiers usages qui avaient attiré l'attention des voyageurs andalous et des missionnaires européens. Les plus anciennes pratiques sont celles rapportés par Ibn al Baythar qui précisa dans le troisième tome de son ouvrage que l'huile d'argan était utilisée pour le massage et le traitement des maux de l'oreille. Au Maroc l'huile d'argan était et reste utilisée depuis des siècles dans la médecine traditionnelle par la population amazighe, Les principales indications traditionnelles de cette huile seule sont : les rhumatismes articulaires, les hémorroïdes, les douleurs, la convalescence après traumatismes, l'hypercholestérolémie, les brûlures, l'eczéma, l'acné juvénile, la varicelle, la surdité chronique. Elle est utilisée également comme aphrodisiaque et spermatogène, comme traitement préventif des vergetures chez la femme enceinte et permet de lutter contre le vieillissement physiologique (Mhirit, 1998).

1. Huile d'argan et prévention des maladies cardiovasculaire

En 2016 l'organisation mondiale de la santé (OMS) déclare les maladies cardiovasculaires comme première cause de décès dans le monde (OMS 2016). Les maladies cardiovasculaires sont des troubles du cœur et des vaisseaux sanguins et comprennent une gamme de conditions. Certaines sont des maladies liées aux vaisseaux sanguins irriguant le

cœur (maladie coronarienne), le cerveau (maladie cérébrovasculaire) ou les bras et les jambes (maladie artérielle périphérique). D'autres sont dus à une infection (cardiopathie rhumatismale, où les lésions du muscle cardiaque et des valves qui sont généralement dues au rhumatisme articulaire aigu), d'autres sont présentes à la naissance (cardiopathie congénitale) ou sont dues à des caillots sanguins (thrombose veineuse profonde et embolie pulmonaire) (OMS 2016). Les maladies cardiovasculaires coronariennes et cérébrovasculaires sont potentiellement modifiables par des régimes alimentaires appropriés. Un régime gras, riche en acides gras saturés (AGS) et pauvre en acides gras polyinsaturés (AGPI), serait une cause importante du développement de l'athérosclérose et des maladies cardiovasculaires (MCV) (Ravnskov, 1998). En revanche, un régime alimentaire riche en acides gras insaturés est recommandé pour la prévention des maladies cardiovasculaires (Zyriax and Windler, 2000). Les AGPI oméga-3 sont perçus comme une intervention diététique bénéfique pour la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires (MCV). De nombreuses études épidémiologiques et diététiques ont montré que la consommation d'AGPI n-3 modifie significativement le profil lipidique sérique. Il existe une forte relation inverse entre la consommation d'AGPI n-3 et les concentrations plasmatiques de triacylglycérol (TG) circulant (Harris, 1997). La composition unique de l'huile d'argan en acide gras mono et polyinsaturés et sa richesse en vitamine E et d'autres composés mineurs ayant une grande activité biologique lui confère un effet bénéfique sur les maladies cardiovasculaires, cet effet a été activement étudié (Charrouf and Guillaume, 2002; Cherki et al., 2006; Derouiche et al., 2005). En effet, il a été montré que la consommation régulière de l'huile d'argan diminue de 50% le développement d'une hypertension artérielle (Berrougui et al., 2003a). Dans leur étude comparative entre l'huile d'olive et l'huile d'argan (Derouiche et al., 2005) ont montré que l'huile d'argan diminue le taux des LDL et triglycérides plasmatiques et une consommation fréquente de l'huile d'argan permet d'augmenter la concentration de la vitamine E (Drissi et al., 2004a). Cette vitamine joue un rôle d'antioxydant et aide également à réguler le niveau de cholestérol plasmatique. Chez les rats hyperlipidémiques, l'administration de l'huile d'argan, à 5 ml/kg/ jour pendant 10 j et à 10 ml/kg par jour pendant 7 semaines, a montré une diminution de 37 % du taux de cholestérol sanguin, de 67 % des LDL, de 31 % des triglycérides et de 13 % du poids corporel (Berrougui et al., 2003a). Des enquêtes épidémiologiques menées au Maroc et comparant des populations vivant au sein de l'arganeraie et consommant régulièrement de l'huile d'argan avec des populations ne la consommant pas ont mis en évidence un risque inférieur à 50 %, de développer une hypertension artérielle chez les populations consommant de l'huile d'argan. Ces résultats permettent de déduire que l'huile d'argan possède des propriétés

hypolipémiantes, hypotensives, et antioxydantes bénéfiques pour la santé humaine. Cependant, les mécanismes physiologiques précis associés à ces activités restent à élucider (Adlouni, 2020).

2. Huile d'argan et prévention des maladies neurodégénératives

Les maladies neurodégénératives se caractérisent par la perte de l'activité des neurones du cerveau, provoquant une altération progressive de la fonction cognitive et l'augmentation des marqueurs de l'inflammation et du stress oxydatif. Dans ces maladies neurodégénératives, le déficit en AGPI joue un rôle étiologique important dans les troubles neurodégénératifs (Badreddine et al., 2017) et affectifs (Vijay-Kumar et al., 2011).

Au niveau cellulaire, les AGPI stimulent l'expression des gènes, l'activité neuronale, favorisent le développement du cerveau et améliorent les fonctions cognitives. (Elmostafi et al., 2020). Ces AGPI, en particulier les oméga-3, diminuent le stress oxydatif et nitrosatif, stabilise le potentiel membranaire mitochondrial et augmente le niveaux d'adénosine triphosphate (ATP) dans les cellules cérébrales de cobayes (Eckert et al., 2010). Il a été rapporté que les acides gras alimentaires jouent un rôle dans la prévention de l'apparition des maladies neurodégénérative. D'une part, (Laitinen et al., 2006) ont découvert que les AGPI étaient associées à une diminution des crises de démence et du risque d'Alzheimer. Les polyphénols, tocophérols, squalène, les stérols et d'autres molécules identifiées dans l'huile d'argan, ont des propriétés antioxydantes ce qui pourraient expliquer en partie certains effets neuroprotecteurs de cette huile. D'autre part, l'huile d'argan pourrait avoir également un potentiel thérapeutique chez les patients atteints de l'adrénoleucodystrophie pseudo-néonatale (P-NALD) par sa capacité à induire la prolifération des peroxysomes, qui serait indépendante des activations à la fois du récepteur nucléaire PPAR α et de son coactivateur PGC-1 α (Kebbaj et al., 2013). Le glutamate est le principal médiateur de signaux excitateurs dans le système nerveux central des mammifères. Des taux élevés de glutamate au niveau cérébral peuvent conduire au développement de nombreuses maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. Il a été démontré que l' α -tocophérols (α -TCP) et son isomère tocotriénol (TRF) jouent un rôle important dans la lutte contre la toxicité induite par le glutamate sur les cellules neuronales et les astrocytes Ceci indique également que le TRF et l' α -TCP pourraient jouer un rôle clé en tant qu'agents anti-apoptotiques avec des propriétés neuroprotectrices (Selvaraju et al., 2014). Les composants majoritaires des stérols, le schotténol et le spinastérol présents dans l'huile d'argan peuvent jouer un rôle protecteur par la modulation du métabolisme du cholestérol en jouant le rôle d'agoniste des récepteurs nucléaires LXR dans les cellules microgliales BV2, par modulation de

l'expression génique des deux isotypes du récepteur nucléaire du foie, LXR (Liver X receptor)- α et LXR β et de leurs gènes cibles ABCA1 et ABCG1 (El Kharrassi et al., 2014a). Il a été montré que l' α -tocophérol est capable d'inhiber les effets délétères du 7KC et le 7 β -OHC sur des oligodendrocytes murins 158N (Ragot et al., 2013, 2011). Le 7-cétocholestérol (7KC) résultant qui est un produit de l'auto-oxydation du cholestérol et dont le taux augmente dans certains tissus, dans le plasma et/ou dans le liquide céphalorachidien des patients atteints de maladies neurodégénératives (Vejux and Lizard, 2009; Zarrouk et al., 2014).

3. Huile d'argan et prévention de la prolifération cancéreuse

De multiples causes peuvent être à l'origine de l'apparition et du développement d'un cancer, dans le domaine de la prévention des cancers, la nutrition occupe une place particulièrement importante. Plusieurs types de cancers (cancer du sein, cancer de la prostate et cancers digestifs...etc) peuvent être influencés par l'alimentation et plus particulièrement par les lipides et certains antioxydants (Bennani, 2007) (Khallouki et al., 2003a). Bien qu'elles soient présentes en petite quantité, ces substances antioxydantes confèrent à l'huile d'argan des propriétés utiles pouvant jouer un rôle très important dans des processus physiopathologiques conduisant au développement du cancer. Des expériences de culture cellulaire in vitro ont conduit au consensus dans la littérature que certains AGPI ont un effet cytotoxique ou antiprolifératif sélectif sur les cellules tumorales et un effet faible, voire nul, sur les cellules normales (Diggle, 2002). Dans le cancer de la prostate (Drissi et al., 2006) l'effet antiprolifératif des tocophérols obtenus à partir d'huile d'argan vierge et de saponines extraites du tourteau d'arganier en comparaison avec le 2-méthoxyestradiol, un médicament connu pour son effet antiprolifératif. Les résultats indiquent que les tocophérols et les saponines présentent une activité cytotoxique et exercent un effet inhibiteur sur la prolifération des trois lignées cancéreuses prostatiques. L'effet antiprolifératif des antioxydants contenues dans l'huile d'argan contre le cancer de la prostate a bien été investigué dans plusieurs autres études (Bennani et al., 2007; Venkateswaran et al., 2002; Zhang et al., 2004).

4. Huile d'argan et dermo-cosmétologie

L'huile d'argan et grâce à son profil lipidique et sa richesse en acide linoléique est pourvue de propriétés revitalisantes sur la peau. L'huile d'argan est démontrée avoir un effet hydratant et restructurant de la peau (Fabre, 1999). L'huile d'argan est utilisée depuis des siècles par les femmes berbères pour ses qualités cosmétologiques. Elle s'utilise en massages légers sur le visage ou sur les autres parties desséchées du corps il est connu chez la

population amazighe pour avoir des effets anti-acné, anti-psoriasis, anti-rougeurs, anti-inflammatoire et également des effet de ralentissement du vieillissement (Tichota et al., 2014). Dans son étude (Boucetta et al., 2014) ont démontré que la consommation quotidienne et l'application topique de l'huile d'argan améliore l'élasticité de la peau chez les femmes ménopausées après une période de 60 jours.

5. Huile d'argan et activité anti-inflammatoire

L'inflammation et plus particulièrement l'inflammation chronique peut potentiellement déclencher ou faciliter l'apparition de plusieurs maladies, telles que l'athérosclérose les maladies cardiovasculaires le syndrome métabolique, le diabète type 2, l'obésité; la sarcopénie et l'ostéoporose aussi les maladies neurodégénérative; la dépression et le cancer (Calder et al., 2017). L'inflammation est une réponse nécessaire du système immunitaire à une infection aiguë ou à un traumatisme. Cependant, un état inflammatoire chronique a des effets néfastes sur la santé (Beavers et al., 2015). De nombreuses études ont démontrés l'effet bénéfique d'un régime végétarien sur l'évolution de la réponse inflammatoire, la consommation élevée de fruits, de légumes et d'aliments végétaux est associée à des faibles concentrations circulantes de marqueurs inflammatoires, notamment la protéine C réactive et les interleukines (Smidowicz and Regula, 2015). Des travaux récents menées, chez l'homme ou chez l'animal, ont démontrés l'effet anti-inflammatoire de l'huile d'argan associé au rôle de l'enzyme peroxysomale acyl-CoA oxydase de type 1 (ACOX1) (Vamecq et al., 2018a). En terme d'acides gras, l'acide linoléique, (précurseur de l'acide arachidonique et des eicosanoïdes) dont l'arganier est fortement riche, a été largement investigué pour son effet anti-inflammatoire. Cependant, les résultats des études épidémiologiques chez l'homme montrent que l'apport d'acide linoléique entraîne plutôt des effets anti- que pro-inflammatoires (Marklund et al. 2019). Des données regroupées de l'étude de Poli et Visioli (2015) indiquent clairement que l'acide linoléique abaisse de manière contre-intuitive l'inflammation. De plus, la fraction insaponifiable de l'huile d'argan est riche en polyphénols, en tocophérols et en stérols qui ont une activité anti-inflammatoire puissante (Gorzynik-Debicka et al., 2018) comparable a celle du diclofénac (H. Ben Menni et al., 2019). Les (poly) phénols connus pour être des composés anti-inflammatoires issus du métabolisme secondaire des plantes (Del Rio et al., 2013). D'après (Kamal et al., 2019a) les extraits polyphénoliques de l'huile d'argan déminuent d'une manière dose-dépendante l'œdème à différentes phases de la réaction inflammatoire.

6. Autres propriétés pharmacologiques de l'huile d'argan

L'effet de l'huile d'argan sur le diabète a été étudié chez des animaux et les résultats obtenus indiquent que l'huile d'argan pourrait avoir des effets anti-diabétiques (Bellahcen et al., 2012; Bnouham et al., 2008). Dans une autre étude menée sur des rats l'administration de l'huile d'argan n'avait aucun effet sur le niveau de la glycémie à jeun (Bellahcen et al., 2013). En revanche, (Emonard et al., 1999) ont démontré qu'un régime à base d'huile d'argan réduit significativement le taux de la glycémie chez des rats sains rendus diabétiques. Ces effets antidiabétiques de l'huile d'argan sont attribués à son profil d'acide gras et à sa teneur élevée en tocophérols et en polyphénols (acide férulique) qui améliorent le statut antioxydant au niveau des tissus (Ohnishi et al., 2004).

Par ailleurs, l'huile d'argan pourrait être utilisée comme approche nutritionnelle préventive pour prévenir le risque de obésité (Adlouni et al., 2008). Chez des rats obèses, nourris avec l'huile d'argan, l'analyse lipidique a montré une diminution significative des triglycérides. Elle agirait en améliorant le profil lipidique plasmatique et l'état antioxydant, réduisant ainsi le risque cardiovasculaire associé à l'obésité.

Une étude chez le rat, portant sur l'effet de l'huile d'argan sur le système immunitaire, a montré que la consommation de l'huile d'argan ou huile d'olive n'a pas d'effet sur le système immunitaire (Benzaria et al., 2006).

Chapitre II : Stress oxydatif/nitrosatif

I. Définition du stress oxydatif et nitrosatif

L'oxygène est une molécule qui joue un rôle fondamental dans la biologie des organismes vivants, notamment en raison de ces propriétés physico-chimiques exceptionnelles, et à sa potentialité à entrer dans de nombreuses voies métaboliques. Parmi ces voies, certaines réactions sont impliquées dans la genèse d'espèces radicalaires à travers des réactions d'oxydo-réduction.

A l'état physiologique normal, la concentration des radicaux libres est régulée par le maintien d'un équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants. Le stress oxydant s'installe lorsqu'il y'a un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO)/ espèces réactives d'azote (ERA) et les capacités de défense antioxydante de l'organisme.

Le stress oxydant est connu par sa capacité à induire des modifications irréversibles sur les lipides, les protéines et les acides nucléiques. Ces modifications génomiques, métaboliques et fonctionnelles induites par le stress oxydant ont été impliquées dans l'apparition ou la progression de nombreuses pathologies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires avec une atteinte de la paroi des vaisseaux sanguins, les maladies inflammatoires, les maladies neurodégénératives, et le diabète type 2 (Baudin, 2020a).

II. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA)

1. Origine et rôles physiologique

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique (Gardès-Albert et al., 2003). Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'électrons à partir d'un composé non radical à un état stable en donnant ou en prenant un électron à une autre molécule. Ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants. En jouant le rôle d'accepteur ou donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de la nano- à la milliseconde)

(Favier, 2003). Les ERO/ERA peuvent avoir plusieurs origines: exogène (agents environnementaux pro-oxydants), intoxication aux métaux lourds, irradiations, carence en antioxydants apportés par l'alimentation ou anomalies génétiques (Migdal and Serres, 2011). La phosphorylation oxydative réalisée par l'intermédiaire la chaîne de transport d'électrons de la membrane interne mitochondriale constitue la voie métabolique qui produit le plus de radicaux libres chez les organismes aérobies (Mazat and Ransac, 2010). Ainsi, la plupart des réactions enzymatiques produisant des ERO/ERA peuvent être subdivisées en trois groupes : (i) le premier groupe des cyclo-oxygénases-1, lipoxygénases, cytochrome P450, xanthine oxydase et NAD(P)H oxydase, qui produisent l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, et la NO synthase endothéliale, source du radical $\bullet NO$; (ii) le deuxième groupe comprenant la thromboxane synthase, la COX-2 et la NO synthase inducible (iNOS) dont les activités sont induites en conditions physiopathologiques. Enfin, le troisième groupe constitué des enzymes macrophagiques telles que la NAD(P)H oxydase leucocytaire, la iNOS et la myéloperoxydase constituent le troisième groupe (Beaudeau et al., 2006).

Bien que les radicaux libres soient connus par leurs effets délétères sur l'organisme, toute fois ils constituent des molécules indispensables à la vie. Les radicaux libres participent au cycle et à la différenciation cellulaire, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes à la destruction par apoptose des cellules tumorales à la phagocytose des bactéries et parasites par les macrophages ou les polynucléaires qui s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène si brutale et intense qu'elle est connue, sous le nom de «burst oxydatif», au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la régulation de la dilatation capillaire, à la fécondation de l'ovule, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire et à l'expression des gènes (Kiyoshi, 2000)

2. Effets nocifs des ERO/ERA

a) *Oxydation des protéines*

Les acides aminés et les protéines sont les premières cibles des ERO. En effet, 50% à 70% des ERO produites par une cellule peuvent être piégées par les protéines. Les acides aminés Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine (Haleng et al., 2007). Ces réactions d'oxydation, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} , conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées (Levine, 2002). Ainsi la de glyco-oxydation des

protéines induit une augmentation de la glycémie en cas de diabète, alors que l'accumulation de protéines oxydées est considérée comme jouant un rôle important dans le vieillissement cellulaire (Dean et al., 1993).

b) Altération des acides nucléique

Le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant dix fois supérieure à celle du génome nucléaire (Richter et al., 1988). Les dommages oxydatifs de l'ADN résultent généralement de réactions avec les bases puriques et pyrimidiques, du désoxyribose ou du phosphodiester. L'arrachement d'un atome d'hydrogène au groupement méthyle en position 5 de la thymine produit un carbone qui réagit avec l'oxygène pour former un hydroperoxyde qui est ensuite réduit en 5-hydroxyméthyl-désoxyuracile. Le 8-oxo-désoxyguanine possède un fort pouvoir mutagène conduisant à des transversions de type G > T au sein de l'ADN impliquées dans le déclenchement de plusieurs pathologies. Cependant, il existe des enzymes capables de réparer ces anomalies (système de réparation par excision de bases) comme par exemple les glycosylases (Mendoza-Núñez et al., 2001).

c) Altération des Lipides

La présence d'un ou plusieurs groupements méthylène entre deux doubles liaisons dans les AGPI les rend particulièrement sensibles à l'oxydation par les métaux, les radicaux libres oxygénés. L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs. La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (Hong et al, 2004). Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), les acides thiobarbituriques (TBARS) et le 4-hydroxynonanal (4- HNE) sont utilisés comme marqueurs de la peroxydation lipidique.

III. Stress oxydant et septicémie

La septicémie constitue la conséquence clinique la plus prononcée du stress oxydant. Au cours du choc septique, les stress oxydant et nitrosant, lié à une libération excessive, notamment par les leucocytes, d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN), et une diminution des défenses antioxydantes endogènes, entraînent des lésions cellulaires, en particulier des cellules endothéliales et musculaires lisses vasculaires (Annane et al., 2005a; Taylor and Piantadosi, 1995). Les stimuli inflammatoires et oxydants/nitrosants altèrent le fonctionnement de l'endothélium (Trzeciak et al., 2008).

Par ailleurs, le lien entre la septicémie et les dommages mitochondriaux résultant du stress oxydant, a été décrit dans plusieurs revues comme élément fondamentale à la physiopathologie de la défaillance d'organes dans la septicémie (Luciano, 2012)

La pathogenèse des dommages mitochondriaux à la suite d'une septicémie est constituée par une série complexe d'événements. En effet, l'oxyde nitrique et les ROS combinés à la libération d'une variété de médiateurs inflammatoires qui peuvent agir pour influencer directement ou indirectement la fonction mitochondriale et la production d'énergie. Des dommages ont été observés dans l'ultrastructure des mitochondries des foies de patients décédés de septicémie sévère (Vanhorebeek et al., 2005). Un dysfonctionnement mitochondrial a été démontré chez des animaux modèles de septicémie (Brealey et al., 2004; Saeed and Singer, 2013). Notamment, l'injection des LPS chez les souris conduit au développement du stress oxydant avec une septicémie sévère (El Kamouni et al., 2017a; Kebbaj et al., 2013).

IV. Les pathologies liées au stress oxydatif/nitrosatif

Le stress oxydant est la cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, la cataracte, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, Sclérose Latérale Amyotrophique), le diabète type 2, et le vieillissement entre autres.

Le stress oxydant est également considéré comme un des facteurs potentialisant la genèse ou développement des maladies plurifactorielles tels que le diabète sucré, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires et la maladie d'Alzheimer avec l'accumulation de la protéine β amyloïde, qui serait liée à la stimulation de la lipoperoxydation des membranes cellulaires synaptiques, à l'atteinte radicalaire des protéines et de l'ADN nucléaire ou mitochondrial, à la stimulation de la production de radicaux libres dans les cellules microgliales (Christen, 2018). Cette production anormale de radicaux libres est à l'origine de nombreux effets délétères au niveau cellulaire comme l'oxydation des LDL résultant du stress oxydant semble être le facteur prédominant dans les complications évolutives chez le sujet diabétique (Kassab et al., 2003).

v. Le système antioxydant

Pour affronter le stress oxydant les organismes aérobies ont développées de puissants systèmes de défenses antioxydantes permettant de contrôler et de maintenir la balance antioxydants/pro-oxydants dans les différents tissus. Les antioxydants désignent toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde

ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1999). Cette définition s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques. Mais aussi à des petites molécules hydro- ou liposolubles. Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action et leur localisation cellulaire et leur origine : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres (Beaudeau et al., 2006).

1. Les antioxydants enzymatiques

Les principales enzymes antioxydantes sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX), dont les activités seront décrites par la suite. Ainsi que la glutathion réductase (GR) et la glutathion S-transférase (GST). Ce sont des enzymes de la première ligne de défense cellulaire contre les agressions radicalaire, leurs séquences ont été conservées au cours de l'évolution et ils agissent de manière coordonnée.

a) *La superoxide dismutase*

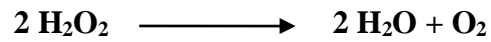
Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloprotéine (McCord and Fridovich, 1969) qui existent sous plusieurs formes et diffèrent par le ou les métaux présent(s) dans leurs sites actifs permettant la liaison enzyme-ligand et par leur localisation cellulaire. Elles possèdent une activité enzymatique leur permettant de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 . Celui-ci est un composé oxydant mais peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathion peroxydases.



Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer chez l'homme trois différentes classes de SOD, catalysant toutes la même réaction : la SOD à cuivre et à zinc (Cu/Zn SOD) que l'on trouve dans le cytosol, le peroxisome et au niveau des liquides extracellulaires, la SOD à fer (Fe-SOD) et la SOD à manganèse (Mn-SOD), dans les mitochondries (Folz et al., 1997).

b) *La catalase*

La catalase est une enzyme tétramérique contenant un noyau hème, que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes dans différents types cellulaires. C'est une enzyme qui catalyse la décomposition du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Elle est constituée de quatre chaînes polypeptidiques comportant chacune un atome de fer sous forme ferrique (Fe^{3+}) et une molécule de NADPH (Beaudeau et al., 2006).



De hauts niveaux de H_2O_2 intracellulaires entraînent une activation préférentielle de la catalase tandis que de plus faibles niveaux seraient préférentiellement pris en charge par la GPX. Ces mécanismes redondants deviennent ainsi complémentaires (Pamplona and Costantini, 2011).

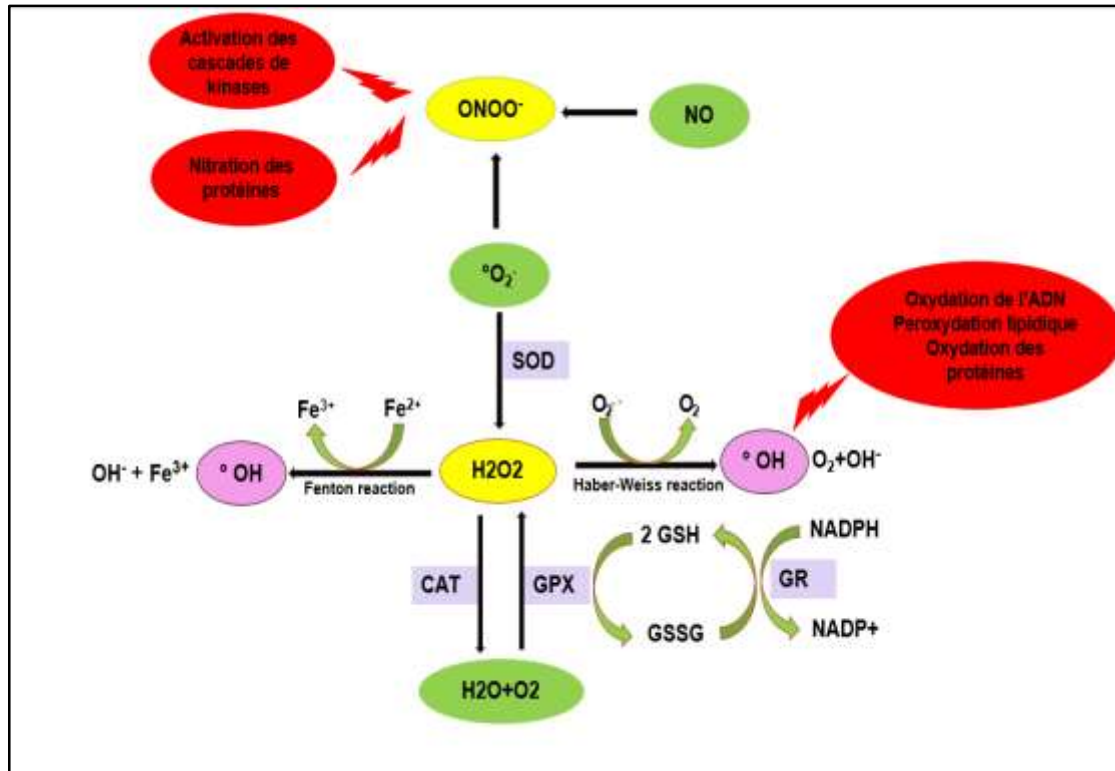
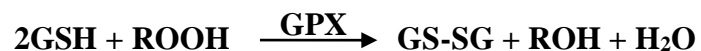


Figure 6 : Système de défense antioxydant enzymatique

c) La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme à sélénium qui catalyse la réduction des hydroxyperoxydes. Elle permet essentiellement la décomposition du H_2O_2 produit de manière continue dans la cellule par l'oxydation de son cosubstrat le GSH en GSSG qui sera réduit par la suite par l'action de la glutathion réductase.



La glutathion peroxydase agit plus lentement que la catalase mais elle a une meilleure affinité pour le H_2O_2 que cette dernière. C'est une enzyme tétramérique composée de 4 sous-unités contenant chacune un atome de sélénium. Elle présente dans le cytosol et le peroxysome

(MILLS, 1957). Jusqu'à présent cinq isoformes de GPx sélénocystéine ont été identifiées variant suivant leur localisation dans l'organisme (Comhair and Erzurum, 2002).

2. Les antioxydants non enzymatiques

Le glutathion (GSH) est l'antioxydant endogène le plus important et le plus abondant dans le milieu intracellulaire. Il protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le NO (Favier, 2003). C'est un tripeptide formé par la condensation d'acide glutamique, de la cystéine et de la glycine (γ -L-Glutamyl-L-cystéinyl-glycine). On le retrouve dans de nombreux compartiments intracellulaires (cytosol, noyau, mitochondries) soit sous forme réduite (GSH) soit sous forme oxydée (GS-SG). Dans des conditions physiologiques, le glutathion sous forme réduite (GSH) représente la très grande majorité du glutathion total (90 à 98%). Il agit comme cosubstrat d'enzymes antioxydants telles que le glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase (Ravi et al., 2004). Il peut également régénérer la vitamine E (Reddy et al., 1982) et réagir avec les radicaux HO \cdot et O $_2^{\cdot-}$ directement et ainsi limiter le processus d'oxydation (Hermes-Lima and Zenteno-Savín, 2002).

d) La vitamine E

La vitamine E est une molécule liposoluble présente en grande quantité dans les huiles végétales (e.g., l'huile de d'argan, d'olive et de tournesol). La vitamine E est en réalité formée de huit composés chimiques différents regroupés en deux sous-ensembles en fonction de la présence de groupements de substitution et de doubles liaisons. Nous trouvons donc le sous-ensemble des tocophérols (α -, β -, γ -, ou δ -tocophérol) et des tocotriénols (α -, β -, γ -, ou δ -tocotriénol) (Cuvelier et al., 2003).

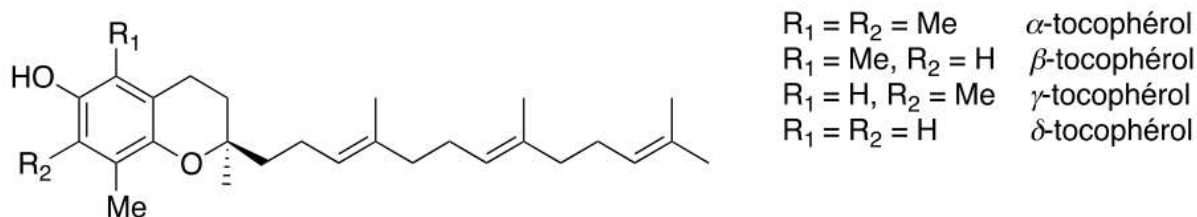


Figure 7 : Structures chimiques des vitamines E. Les tocophérols possèdent un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à seize atomes de carbone. Sur le plan structural, les tocotriénols diffèrent des tocophérols au niveau de la chaîne latérale avec la présence de trois doubles.

La vitamine E est capable d'arrêter la propagation de la peroxydation lipidique. Elle réagit directement avec les ROS (en parallèle de la vitamine C et du glutathion) ou d'autres molécules radicalaires. Bien qu'essentiels pour les animaux, ce composé et d'autres

composés vitaminiques ne sont synthétisés que par les organismes photosynthétiques et quelques champignons. Ils doivent donc être apportés dans le régime alimentaire (LEGER, 2000).

e) La Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble que l'on retrouve dans de nombreux fruits et légumes comme les oranges, les citrons et les fraises. Elle est considérée comme l'antioxydant le plus important dans les fluides extracellulaires (Fain, 2004). C'est une molécule capable de réagir directement avec les ROS en agissant comme piègeur des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et peroxydes, et de l'oxygène singulet, réduisant ainsi les dommages aux protéines et à l'ADN et inhibant la peroxydation lipidique à travers sa capacité à régénérer la vitamine E au sein de la membrane (Fabre et al., 2015). Ceci lui confère un rôle important dans la protection des biomembranes et des lipoprotéines.

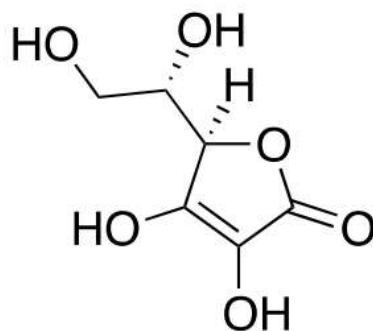


Figure XX : Structure de la vitamine C. Elle possède un cycle lactone avec une fonction cétone, une fonctionène-diol et de deux fonctions alcools.

f) Les oligo-éléments

Les oligo-éléments est une classe de nutriments nécessaires, en quantité très faible, à la vie d'un organisme. L'apport par l'alimentation, en quantité raisonnable est crucial. En effet, ils n'agissent pas directement contre les ROS, mais ils sont nécessaires pour le bon fonctionnement des enzymes décrites précédemment (Ferry, 2009). Le sélénium est un élément minérale essentiel contenu à l'état de traces dans l'organisme et joue un rôle important dans la défense antiradicalaire cellulaire en participant aux structures des sélénoprotéines (Latorre, 2014). Le zinc est un autre oligoélément essentiel qui possède des propriétés antioxydantes comme la stabilisation des membranes cellulaire, la protection des

fonctions thiols des protéines contre l'oxydation. Il est aussi un cofacteur de la SOD. Ainsi l'analyse du rapport des taux sanguins Cuivre/ Zinc permet d'évaluer le stress oxydant. De plus, il existe une corrélation forte entre ce rapport et le taux circulant des lipides oxydés (Pincemail et al., 2001). Le cuivre est également un des cofacteurs essentiels de la Cu/Zn-SOD étant donné sa facilité à passer de l'état réduit à l'état oxydé. Il participe au bon fonctionnement de la cytochrome c oxydase, tout comme le fer le cuivre joue également un rôle important dans l'initiation des réactions produisant des ROS (Laliberté and Labbé, 2008).

Chapitre III : Le peroxysome et la β -oxydation peroxysomale

I. Biogenèse du peroxysome

Les peroxysomes sont des organites ubiquitaires découverts pour la première fois en 1945 par Rhodin dans les reins de souris au niveau des tubules proximaux, où il sont décrits sous l'appellation de « microbodies ». Cette même structure fut décrite en 1956 par Rouiller dans le foie des rat au niveau des cellules parenchymateuses (Rouiller and Bernhard, 1956). En 1966, Duve et Baudhuin purifièrent pour la première fois ces microbodies en utilisant des techniques de centrifugation différentielle et de gradient de densité et les appelèrent « peroxysome » suite à la découverte de leur première fonction, la décomposition du peroxyde d'hydrogène ($2\text{H}_2\text{O}_2$ en $2\text{H}_2\text{O}$ et en O_2) par la catalase (De Duve and Baudhuin, 1966). Les peroxysomes peuvent résulter d'une biogenèse de novo, par bourgeonnement du réticulum endoplasmique (Kim et al., 2006). En effet, la membrane du réticulum endoplasmique recrute des facteurs protéiques particuliers tels que les peroxines qui sont des protéines indispensables à la biogenèse du peroxysome et à l'importation des protéines peroxysomales (Agrawal and Subramani, 2016). Elles s'associent à leur tour dans des structures lamellaires recrutant d'autres protéines membranaires et matricielles. Les vésicules du RE se détachent et deviennent des peroxysomes (Kim et al., 2006).

Les peroxysomes peuvent également dériver des peroxysomes préexistants et sont alors considérés comme des organites autonomes se multipliant par croissance et division (Motley and Hettema, 2007). Le processus de fission du peroxysome est divisé en trois étapes : l'élongation des membranes peroxysomales, la constriction, puis la fission (Schmidt et al., 2012). Ce phénomène est régulé par trois peroxines (PEX) : PEX11p, PEX25p et PEX27p. Alors que les autres étapes n'ont pas encore été complètement décryptées (Koch

et al., 2004). En revanche les peroxysomes ont une demi-vie de 1,5 à 2 jours avant d'être dégradés au hasard par autophagie.

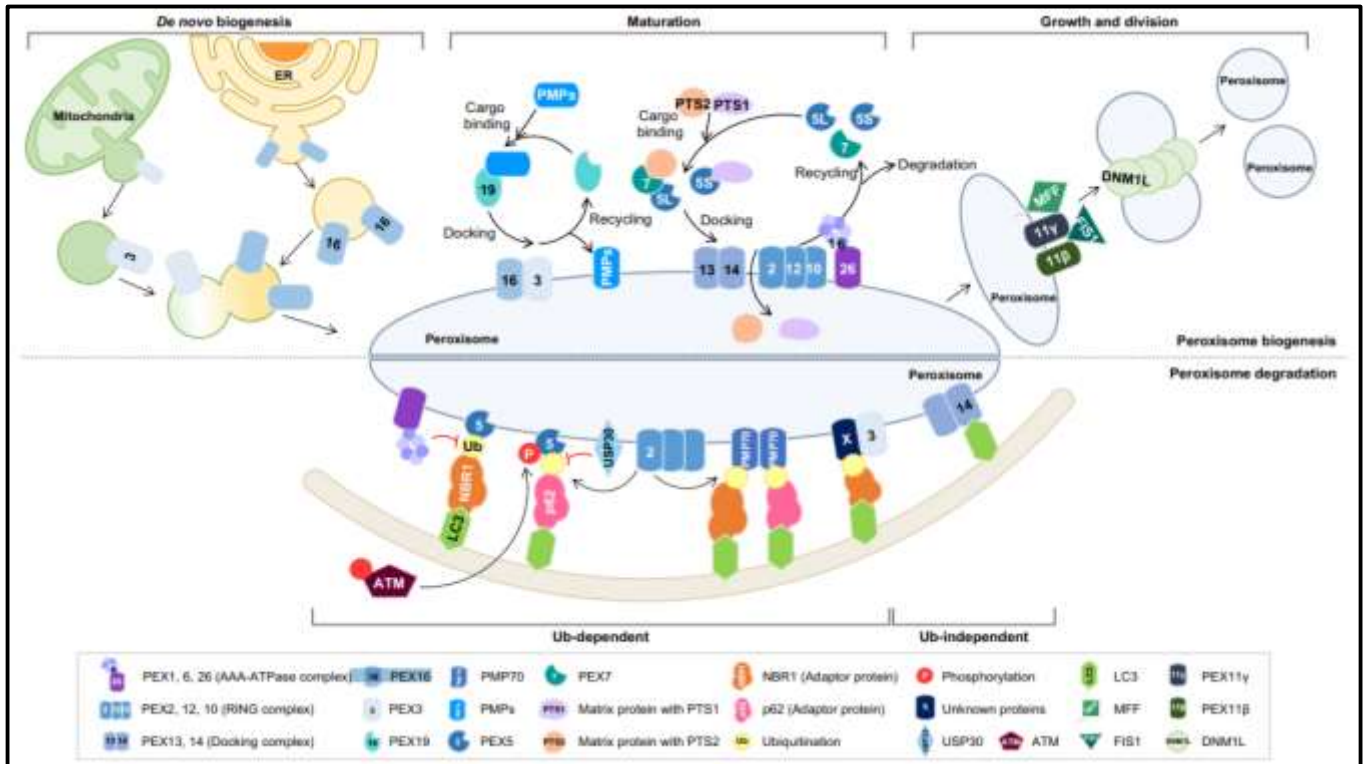


Figure 8 : Biogenèse et dégradation des peroxysomes. Le nombre de peroxysomes est régulé par la biogenèse de novo et la croissance et la division des organites préexistants. Premièrement, les peroxysomes peuvent être formés par la maturation de vésicules pré-peroxysomales qui émergent de la RE ou des mitochondries et contiennent des protéines membranaires peroxysomales, notamment PEX16, PEX3 et PEX14. La fusion des vésicules pré-peroxysomales entraîne la génération de peroxysomes matures médiée par PEX19. Deuxièmement, les peroxysomes peuvent être formés par l'allongement et la division des peroxysomes matures, qui sont clivées par les protéines PEX11, Fis1, MFF et DNM1L (en haut). La pexophagie est régulée par des voies dépendantes de l'ubiquitination et indépendantes de l'ubiquitination. L'ubiquitination de la région cytosolique des peroxysomes déclenche leur dégradation par pexophagie. Lors d'un stress oxydatif, l'ATM interagit avec et phosphoryle PEX5, ce qui favorise l'ubiquitination de PEX5 par PEX2. Le PEX5 ubiquitiné est reconnu par p62 qui recrute l'autophagosome. Le complexe ATPase peroxysomale de type AAA, PEX1, PEX6 et PEX26, prévient la pexophagie en régulant l'accumulation de PEX5 ubiquitiné. Dans des conditions de carence en acides aminés, PEX2 régule l'ubiquitination de PEX5 et PMP70, augmentant la pexophagie de manière dépendante de NBR1. L'USP30 prévient la pexophagie en neutralisant le PEX2. En revanche, PEX14 interagit directement avec LC3 sous conditions de privation (Jo et al., 2020)

II. Morphologie et rôle métabolique

Le peroxysome est un organite entouré chacun d'une simple membrane phospholipidique de 6 à 8 nm d'épaisseur. Il apparaît comme une vésicule close de petite taille d'un diamètre allant de 0,5 à 1 µm de diamètre. La composition chimique, la taille et le nombre des peroxysomes varient selon le type cellulaire. Ils sont présents dans toutes les cellules eucaryotes nucléées ainsi que dans les eucaryotes unicellulaires et les cellules végétales de plantes supérieures (Islinger et al., 2012). Les peroxysomes sont impliqués dans de nombreuses voies métaboliques importantes, avec plus de 70 enzymes identifiés (Braverman et al., 2016). Ces protéines participent à des voies de synthèse ou de dégradation (Violante et al., 2019).

D'une part, ils participent à la dégradation des AGTLC par la voie de la β -oxydation et à celle de l'acide phytanique par la voie de l' α -oxydation. D'autre part, ils sont impliqués dans la synthèse des plasmalogènes et des acides biliaires (Schrader and Fahimi, 2008), la désamination des D et L-aminoacides, le métabolisme du glycolate en glyoxylate, la dégradation des polyamines (spermine et spermidine) le catabolisme du méthanol, des purines, et des leucotriènes (Baarine et al., 2009).

III. Les pathologies liées au dysfonctionnement peroxysomal

Les pathologies liées au dysfonctionnement peroxysomal sont généralement des maladies héréditaires résultant de l'absence ou le déficit d'une ou plusieurs enzymes peroxysomales. Ces maladies peroxysomales sont généralement subdivisées en trois sous-groupes comprenant les désordres de la biogenèse des peroxysomes (PBD) dans lesquelles plusieurs enzymes peroxysomales sont affectées ; les déficits liés à l'absence d'une seule protéine ou enzyme peroxysomale ; et la déficience dans le transport d'un substrat unique peroxysomal (Wanders and Waterham, 2006). Ces maladies sont généralement héritées de manière autosomique récessive. Le groupe des PBD est composé de quatre pathologies : le syndrome de Zellweger, l'adrénoleucodystrophie néonatale (NALD), la maladie infantile de Refsum (IRD), La chondrodysplasie ponctuée type rhizomélique (RCDP). Les trois maladies ,ZS, NALD et IRD, sont clairement distincts de la RCDP et sont généralement appelées spectre de Zellweger, ZS étant le plus sévères et NALD et IRD sont les troubles les moins sévères (Steinberg et al., 2006).

La famille des pathologies liées au déficit d'une unique enzymes-protéine peroxysomale comprend sept pathologies différentes la déficience en acyl-CoA oxydase 1, la déficience en enzyme D-bifonctionnelle, la déficience en α -méthyl-acyl-CoA racémase (AMACR), la déficience en protéine porteuse de stérols X (SCPx), La maladie du Refsum (ARD), la déficience en acyl-CoA-DHAP réductase , la déficience en acyltransférase (RCDP2) et en alkyl-DHAP synthase (RCDP3).

La pseudo-adrénoleucodystrophie néonatale est une pathologie causée par la déficience en acyl-CoA oxydase 1 (ACOX1), l'enzyme catalysant la première étape de la β -oxydation peroxysomale. C'est une maladie autosomique récessive. Les manifestations cliniques de cette pathologie sont très similaires à celles des patients atteinte d'adrénoleucodystrophie néonatale, sauf que chez les patients atteints de la (P-NALD), les peroxysomes sont de grande taille et leur nombre ne diminue (Poll-The et al., 1988).

La déficience en enzyme D-bifonctionnelle (OMIM #261515) : le déficit en protéine D-bifonctionnelle (DBP) est une pathologie également autosomique récessive liée à un trouble d'oxydation des acides gras peroxysomaux, une enzyme qui catalyse la deuxième et la troisième étapes de la β -oxydation peroxysomale des acides gras linéaires et ramifiés (Möller et al., 2001). Les symptômes cliniques typiques de cette pathologie sont une hypotonie, une dysmorphie faciale, un retard psychomoteur, des convulsions néonatales, des anomalies de la migration neuronale et la démyélinisation. Les résultats biochimiques sont des niveaux très élevés de AGTLC dans le plasma et les fibroblastes de patients (Clayton, 2001; Paton et al., 1996).

Le syndrome de Zellweger (MIM 214100) : ou syndrome cérébro-hépatorénal est un syndrome d'anomalie congénitale multiple caractérisé par un retard psychomoteur et de plusieurs anomalies primaires du développement : cranio-faciales, de la migration neuronale, squelettiques, des kystes rénaux avec une insuffisance surrénale une hépatomégalie et une chondrodysplasie ponctuée (Abe et al., 2014; Roscher et al., 1985; Wilson et al., 1986). C'est un syndrome prototypique des troubles de la biogenèse des peroxysomes (PBD), causé par des mutations dans les gènes *PEX* qui codent pour des protéines, appelées peroxines, nécessaires à la biogenèse normale du peroxysome (Crane, 2014). Au niveau moléculaire, les mutations dans les peroxines perturbent l'assemblage moléculaire requis pour l'importation post-traductionnelle dans le peroxysome des protéines matricielles contenant soit un signal de ciblage peroxysomal (PTS) 1 ou 2 (Purdue and Lazarow, 2001; Subramani et al., 2000).

La déficience en α -méthyl-acyl-CoA racémase (AMACR) (OMIM 604489) : est une maladie peroxysomale rare avec un âge d'apparition variable de la petite enfance à l'âge adulte. Les Patients présentant un déficit en AMACR montrent une accumulation d'acide pristanique, et les deux intermédiaires des acides biliaires, acide di- et trihydroxycholestanoïque (DHCA et de THCA). Le taux des AGTLC et les plasmalogènes sont normaux chez les patients (Clarke et al., 2004; Smith et al., 2010).

La déficience en protéine X porteuse de stérols (SCPx : Sterols carrier protein X) (MIM #184755) : une deuxième thiolase peroxysomale. SCP2 contient à la fois un domaine thiolase et un domaine de protéine porteuse de stérol, elle est l'enzyme clé dans la β -oxydation de l'acide pristanique et les intermédiaires des acides biliaires. Les analyses des métabolites du plasma des patients atteints de la SCPx ont révélé une accumulation d'acide pristanique et d'acide phytanique, de DHCA et de THCA et le taux des AGTLC était légèrement élevé (D'amico and Bertini, 2013).

La maladie du Refsum (ARD) (MIM # 266500) : une maladie autosomique peroxydomale qui se caract rises par une rétinite pigmentaire, neuropathie périphérique, ataxie cérébelleuse et accumulation pathognomonique d'acide phytanique (acide 3,7,11,15 t tram thylhexad canoique) dans les fluides corporels et les tissus en raison d'un défaut dans l' α -oxydation de l'acide phytanique (Skjeldal et al., 1987).

Le troisième groupe, c'est-à-dire les déficiences de transport des AGTLC se limite à une seule maladie, l'adrénoleucodystrophie liée à l'X (X-ALD).

l'X-ALD (ALD, OMIM 300 100) : une maladie neurodégénérative sévère qui résulte d'une mutation dans le gène *ABCD1* sans aucune corrélation génotype-phénotype. Elle se caract rises par une démyélinisation progressive du système nerveux central et périphérique, une insuffisance surrénale (maladie d'Addison) et une accumulation d'acides gras à très longue chaîne (AGTLC) dans le plasma, les fibroblastes et dans différents tissus (Aubourg, 2007). Le diagnostic positif repose sur l'accumulation des AGTLC. Cette pathologie est la plus fréquente des maladies peroxydomales avec une incidence d'environ 1 cas pour 17 000 naissances. Le gène *ABCD1* qui appartient à la sous-famille D des transporteurs ABC (ATP-binding cassette) code pour une protéine peroxydomal transmembranaire (protéine ALD) portée par le chromosome Xq28 (Douillard, 2011). La protéine ALD a un rôle dans le transport des AGTLC ou AGTLC-CoA à travers la membrane peroxydomale pour leur dégradation par le système de β -oxydation peroxydomale. Deux principaux phénotypes ont été décrits : la forme cérébrales démyélinisantes chez l'enfant  g  de 5 à 15 ans retrouvée également chez l'adulte dans 35% des cas ; et la forme limitée à une atteinte médullaire, ou adr nomy loneuropathie (20-60 ans) (Berger et al., 2014; Nascimento et al., 2012).

IV. La B-oxydation peroxydomale

Le peroxydome joue un rôle important dans le métabolisme des acides gras (AG). Avec la mitochondrie, ils constituent le siège principal de la dégradation des acides gras (en fonction de leurs nombre de carbones) (Poirier et al., 2006). Cependant, le peroxydome dégrade principalement les acides gras à très longue chaîne (AGTLC) saturés (C24:0 et C26:0), et insaturés, les acides gras ramifiés (acide pristanique) les intermédiaires de la synthèse des acides biliaires l'acide dihydroxycholestanoique (DHCA) et l'acide trihydroxycholestanoique (THCA), n'ont pris en charge par la mitochondrie. Les étapes de la β -oxydation est identique dans ces deux organites et implique une série de quatre réactions successives qui sont la déshydrogénation, une hydratation, une seconde déshydrogénation et un clivage thiolitique,

permettant le raccourcissement de la chaîne d'AG de 2 carbones et la libération d'un acétyl-CoA (Jean and Fatima, 2019). Le nombre de cycles de β -oxydation pour chaque lipide dépend de la longueur de la chaîne carbonée et se poursuit généralement jusqu'à l'obtention d'un acyl-CoA à chaîne moyenne (entre 6 et 8 carbones) (Réf).

1. Les enzymes impliqués dans la β -oxydation peroxysomale

Les acides gras métabolisés par le peroxysome nécessitent une activation avant de pouvoir être pris en charge (Guimaraes, Sa-Miranda et al. 2005). Par thioestérification au Coenzyme A (CoA). Cette réaction est assurée par des enzymes de la famille des acyl-CoA synthétases et nécessite l'hydrolyse d'une molécule d'ATP (Adénosine TriPhosphate).

Le cycle de la β -oxydation peroxysomale fait intervenir plusieurs enzymes (Figure 10), la première réaction est catalysée par une acyl-CoA oxydase, c'est une réaction de déshydrogénation qui constitue une étape limitante qui contrôle le flux métabolique à travers cette voie. C'est une réaction de α,β -déshydrogénation de l'acyl-CoA en présence du coenzyme flavine adénine dinucléotide (FAD) au cours de laquelle l'acyl-CoA est désaturé en 2-trans énoyl-CoA (Violante et al., 2019). Par ailleurs, trois acyl-CoA oxydase (ACOX) ont été identifiées. L'ACOX1 (ou palmitoyl-CoA oxydase), une enzyme qui prend en charge les AG à chaîne linéaire tandis que l'ACOX2 (ou « branched-chain acyl-CoA oxidase») et l'ACOX3 seraient toutes deux impliquées dans la dégradation des AG à chaîne branchée. L'ACOX1 et l'ACOX2 exerceraient leur activité à l'état de dimère et l'ACOX1, protéine de 75 kDa serait clivée sélectivement après son import dans le peroxysome en deux polypeptides de 50 et 25 kDa (Mizuno et al., 2013). Les deux étapes suivantes sont une hydratation et une seconde déshydrogénation réalisée par une seule enzyme dite bifonctionnelle la PBE "Peroxisomal Bifunctional Enzyme". Chez l'homme et les rongeurs le peroxysome renferme deux enzymes bifonctionnelles (PBE ou peroxisomal bifunctional enzyme) distinctes : la L-PBE spécifique de l'énantiomère L du 3-hydroxyacyl-CoA et la D-PBE spécifique de l'isomère D du 3-hydroxyacyl-CoA. Ces deux enzymes catalysent les 2^{ème} et 3^{ème} réactions de la β -oxydation et prennent en charge les énoyl-CoAs avec une chaîne linéaire, tandis que la D-PBE prend en charge aussi bien l'énoyl-CoA de l'acide pristanique et les intermédiaires des acides biliaires. Au cours de ces réactions le 2-trans-énoyl-CoA est transformé en 3-hydroxyacyl-CoA par hydratation et sera par la suite converti en 3-cétoacyl-CoA par déshydrogénation en présence de NAD⁺ (Figure 10) (Wanders and Waterham, 2006). La dernière étape de la β -oxydation est assurée par des thiolases ces enzymes catalysent une réaction qui consiste en un clivage

thiolytique entre le carbone α et β du 3-cétoacyl-CoA libérant un acyl-CoA écourté de 2 atomes de carbone et un acétyl-CoA ou un propionyl-CoA (dans le cas d'un acide gras ramifié) (Wanders and Waterham, 2006).

Chez l'homme il existe deux types d'enzymes ayant une activité thiolase : la pTh1 et la SCPx essentielle à l'oxydation de l'acide pristanique, de l'acide hydrodésoxycholique (HDCA) et de l'acide tri-hydroxycholestanoïque (THCA)(Seedorf et al., 1998).

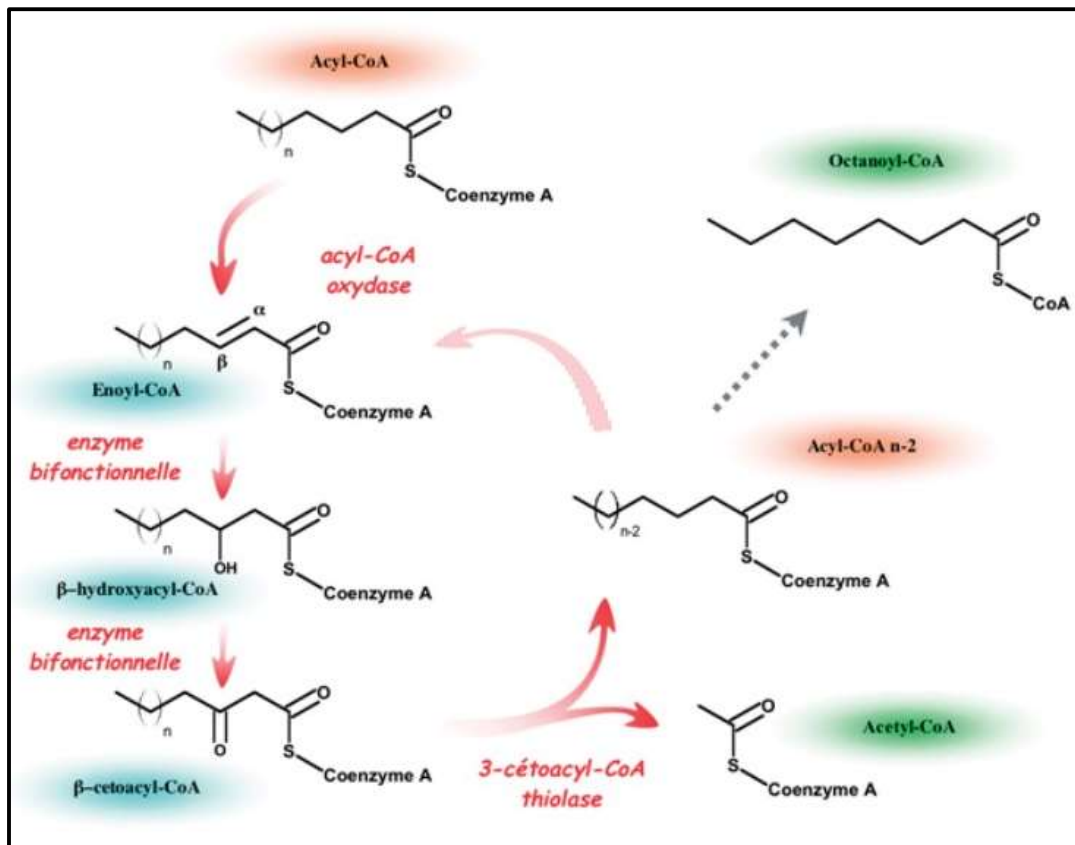


Figure 9 : Enzymes impliqués dans la β -oxydation peroxysomale (Nicolas et al., n.d.)

2. La déficience en Acyl- CoA oxydase 1

Le déficit en acyl-CoA oxydase peroxysomale est causé par une mutation du gène ACOX1 associé à une maladie autosomique récessive [OMIM: #264470] décrite pour la première fois par Poll-The et al., (1988). Ce groupe de chercheur a décrit l'existence d'un retard psychomoteur sévère avec une hypotonie et une détérioration neurologique chez deux enfants de la même famille. En générale, les nouveau-nés ayant un déficit en acyl-CoA oxydase peroxysomale présentent un faible tonus musculaire (hypotonie) et des convulsions. Chez certaines patients atteints, on peut trouver également une dysmorphie faciale avec des yeux très écartés (hypertélorisme), un pont nasal bas avec des oreilles basses, des doigts ou des orteils supplémentaires (polydactylie) ou une hépatomégalie. La majorité des enfants malades

apprennent à marcher et commencent à parler, mais ils subissent ce qu'on appelle une régression développementale qui résulte en une perte progressive de ces compétences, commençant généralement entre 1 et 3 ans, une hyper-réflexie et ou des crises sévères et récurrentes (épilepsie) et perte de la vision et de l'audition avec une démyélinisation cérébrale (Ferdinandusse et al., 2007). Les symptômes cliniques sont proches de ceux observés dans le symptôme de Zellweger et les ALD néo-natal. La plupart des enfants atteints ne survivent pas et décèdent après la petite enfance. Biochimiquement, les patients atteints montrent une élévation des niveaux plasmatiques des AGTLC, des anomalies enzymatiques multiples, entraînent une accumulation d'intermédiaires d'acides biliaires, AGTLC, d'acides pipécolique, pristanique et phytanique (dépendant de l'âge), ainsi qu'une altération sévère de la biosynthèse du plasmalogène (Infante et al., 2002).

3. La déficience en ACOX1 et inflammation

L'ACOX1 est l'enzyme limitante de la voie de la β -oxydation peroxysomale, elle est responsable du catabolisme des acides gras à très longue chaîne. La déficience en ACOX1 induit une accumulation des AGTLC dans le plasma et dans différentes tissus, Les acides gras saturés à longue chaîne sont connus par leur capacité à induire une réponses immunitaires inflammatoires et à activer le système immunitaire innées dans les cellules immunitaires (Stauber et al., 2005). Par ailleurs, les patients atteints d'adrénoleucodystrophie pseudo-néonatale, présentent une hépatomégalie due à une altération de la β -oxydation des AGTLC. De même, les souris déficientes en ACOX1 présentent une stéatose hépatique et une stéatohépatite spontanées, une régénération hépatique accrue et un développement spontané de carcinomes hépatocellulaires (Cherkaoui-Malki et al., 2012; Sheridan et al., 2011). Dans leur étude El Hajj et al., (2012) ont montré que dans la déficience en ACOX1 est associée à des altérations de la réponse inflammatoire conduisant à l'activation de la voie inflammatoire de l'IL-1. Une telle activation déclenche une forte induction des cytokines IL-6 et IL-8 principalement via la voie MAPK et p38 MAPKK. De même Moreno-Fernandez et al., (2018) ont démontré que la déficience en ACOX1 avait particulièrement un impact sur la polarisation des cellules Th17 *in vivo* et *in vitro*, et qu'elle avait un impact sur la capacité des cellules Th17 à produire plusieurs cytokines, y compris la sécrétion de l'IFN- γ et de l'IL-17A. Or l'analyse de modèles murins ayant un défaut d'une fonction peroxysomale montre que l'altération des fonctions peroxysomales dans les oligodendrocytes et les cellules microgliales contribue majoritairement à l'inflammation cérébrale au cours du processus de démyélinisation (Bottelbergs et al., 2010). Dans Les deux maladies neurodégénératives peroxysomales l'X-

ALD associées ou à la déficience en ACOX1, on constate une augmentation importante des transcrits de cytokines inflammatoires et la présence d'infiltrats périvasculaires de lymphocytes T et B et de macrophages dans les lésions cérébrales (Geillon et al., 2012). Ces données montrent que l'enzyme ACOX1 en plus de son rôle dans le métabolisme, peut également jouer un rôle primordiale dans la régulation de l'inflammation via la β -oxydation peroxysomale.

4. Les transporteurs ABC peroxysomaux

Les peroxysomes sont délimités par une simple membrane phospholipidique. Le transport à travers cette membrane imperméable nécessite donc des protéines et des transporteurs pour le transfert des différents substrats, produits et cofacteurs depuis et vers le cytosol. Les transporteurs ABC constituent une superfamille de protéines membranaires présents dans presque tous les organismes allant des eubactéries jusqu'aux mammifères. La structure des protéines ABC est hautement conservée et elles catalysent le transport transmembranaire ATP-dépendant d'une grande variété de substrats. Les transporteurs ABC sont classés en deux groupes, les ABC importateurs et les ABC exportateurs (Higgins, 1992; Saurin et al., 1999). Les ABC importateurs sont retrouvés uniquement chez les procaryotes où ils jouent le rôle d'un système d'absorption des nutriments. En revanche, presque tous les transporteurs ABC eucaryotes fonctionnent comme des exportateurs et sont localisés dans les membranes des peroxysomes, les mitochondries, le réticulum endoplasmique (RE), l'appareil de Golgi, et les lysosomes.

Les transporteurs ABC peroxysomaux appartiennent à la sous-classe D de la superfamille des protéines ABC, chez l'homme la sous-famille ABCD comprend quatre membres : la protéine adrénoleucodystrophie (ALDP ; ABCD1), la protéine associée à l'adrénoleucodystrophie (ALDRP ; ABCD2) et les deux protéines membranaires peroxysomales de 69 et 70 kDa, PMP69 (ABCD4) et PMP70 (ABCD3). Ce sont tous des transporteurs demi-ABC qui doivent dimériser pour constituer un transporteur actif fonctionnel (Kamijo et al., 1990; Lombard-Platet et al., 1996; Mosser et al., 1993; Shani et al., 1997). Les membres de la sous-famille ABCD de la souris sont strictement orthologues à ceux de l'homme. Le premier transporteur ABC peroxysomal a été identifié par Kamijo et al. (Kamijo et al., 1990) nommée PMP70 et codée par le gène ABCD3, l'une des principales protéines membranaires

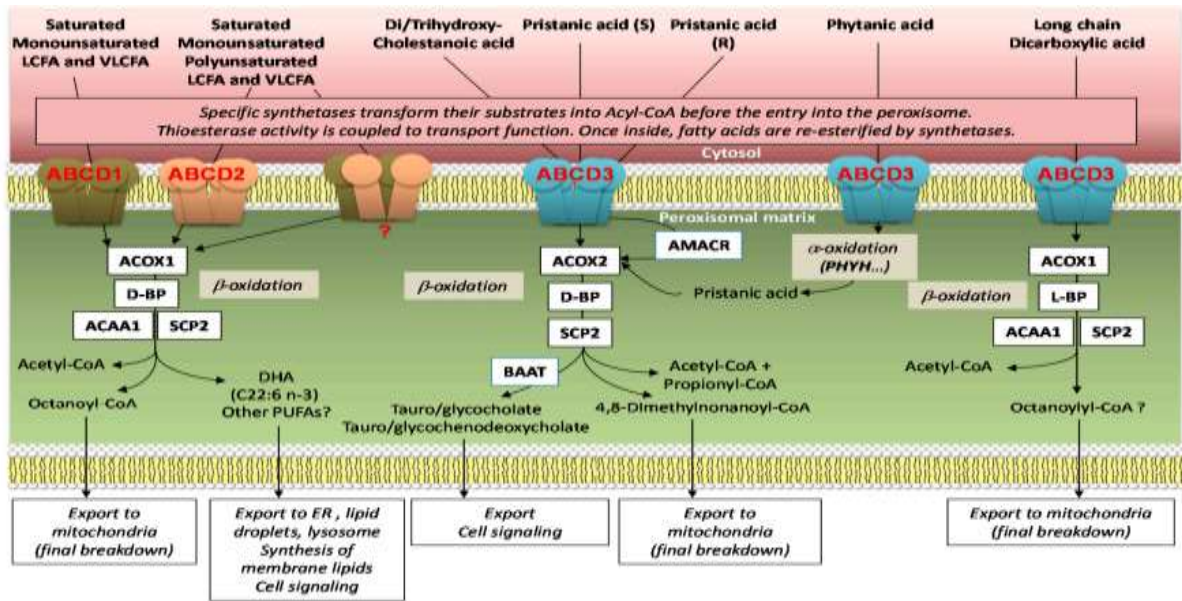


Figure 10 : Transporteurs ABC peroxysomaux et leur implication dans le métabolisme des lipides (Tawbeh et al., 2021). Les transporteurs ABC peroxysomaux sont représentés sous forme d'homo ou d'hétérotétramères avec leurs substrats préférentiels et leur implication dans les voies métaboliques, comprenant plusieurs étapes enzymatiques, catalysées par l'acyl-CoA oxydase 1 et 2 (ACOX1 et ACOX2), les protéines D- et L-bifonctionnelles (D-BP et L-BP), acétyl-CoA Acyltransférase 1 (3-cétoacyl-CoA thiolase, ACAA1), protéine porteuse de stérol 2 (SCPXthiolase, SCP2), alpha-méthylacyl-CoA racémase (AMACR), acide biliaire-CoA: acide aminé N-acyltransférase (BAAT), et phytanoyl-CoA hydroxylase (PHYH).

intégrales du peroxysome, connue pour être fortement induite par l'administration d'agents hypolipémiants. Elle est impliquée dans le transport des esters 2-méthylacyl-CoA, y compris le pristanoyl-CoA, le dihydroxycholestanoïl-CoA (DHC-CoA) et le trihydroxycholestanoïl-CoA (THC-CoA) et des acides dicarboxyliques à chaîne moyenne vraisemblablement sous forme d'esters de CoA. De plus, une étude plus récente réalisée sur des modèles cellulaires HEK-293 a démontré qu'ABCD3 est nécessaire pour le transport des MCFA à travers la membrane peroxysomale (Violante et al., 2019).

Le deuxième transporteur ABC mammifère, nommé ALDP est codé par le gène *ABCD1*, il a été identifié en utilisant une stratégie de clonage positionnel en 1993 par Mosser et al (Mosser et al., 1993) la fonction principale attribué à ABCD1 est le transport des AGTLC saturés et monoinsaturés à travers la membrane peroxysomale pour une dégradation supplémentaire via la β -oxydation. La mutation du gène *ABCD1* cause l'adrénoleukodystrophie liée à l'X (X-ALD) la maladie neurodégénérative peroxysomale la plus courante. Par ailleurs, l'accumulation des AGTLC saturés et monoinsaturés dans le plasma et les tissus des patients X-ALD, est utilisée pour le diagnostic de la (X-ALD). Des études de complémentation ont démontré que l'expression de l'ADNc du gène *ABCD1* normal dans les fibroblastes de patients atteints de X-ALD rétablissait l'oxydation des AGTLC et réduisait les AGTLC à des niveaux normaux (Shinnoh et al., 1995).

Le troisième transporteur ABC nommé ALDRP est codé par le gène ABCD2 il est l'homologue le plus proche de l'ALDP. Généralement il est admis que ABCD2 a une certaine redondance fonctionnelle avec ABCD1 (Tawbeh et al., 2021). Les deux protéines présentent des spécificités de substrat qui se chevauchent pour les AGLC et AGTLC saturés et monoinsaturés. Ce qui explique la correction du défaut de β -oxydation dans les fibroblastes X-ALD en cas de surexpression d'ABCD2 après transfection. L'ALDRP semble aussi avoir une fonction dans la synthèse de l'acide docosohexaénoïque polyinsaturé (DHA, C22:6w3) qui nécessite un raccourcissement de la chaîne de C24:6w3 par oxydation peroxysomal. Les souris ABCD2 knockout ont des niveaux réduits de C22:6w3 dans les neurones primaires (Fourcade et al., 2009)

Enfin, le quatrième transporteur peroxysomal demi-ABC est nommé PMP69 ou, alternativement, PMP70R. Il est codé par le gène *ABCD4*. Ce transporteur a été identifié simultanément par deux groupes de chercheurs. Il fait également partie de la famille ABCD localisé plutôt dans la membrane du réticulum endoplasmique (Kashiwayama et al., 2007). Le PMP69 humain a une faible homologie de séquence avec les autres transporteurs de demi-ABC peroxysomaux.

V. La relation entre les maladies peroxysomales et les maladies neurodégénératives

Le dysfonctionnement peroxysomale a été associée à divers pathologies humaines, tels que les maladies métaboliques, le cancer, les troubles de la biogenèse des peroxysomes (PBD) et les maladies neurodégénératives (Braverman et al., 2013; Islinger et al., 2018). Le peroxysome joue un rôle important dans le métabolisme des lipides qui constituent 50 à 60 % de la matière cérébrale totale (Bourre, 2004). Par conséquent, de légères altérations de la composition en acides gras peuvent entraîner des modifications, parfois irréversibles, de la fonction neuronale. L'altération de la fonction peroxysomale est la cause principale de l' X-ALD et la P- NALD le résultat est une accumulation accrues des AGTLC affectant en particulier le système nerveux (Wanders et al., 2010). La cytotoxicité des AGTLC est liée à la démyélinisation et l'axonopathie inflammatoires, la mort cellulaire des oligodendrocytes et des astrocytes, la dérégulation de l'homéostasie du Ca^{2+} intracellulaire et une diminution avérée du potentiel membranaire des mitochondries dans les oligodendrocytes (Hein et al., 2008). Le peroxysome joue également un rôle important dans le maintien de l'équilibre redox de la cellule via la dégradation du peroxyde d'hydrogène par la catalase. En effet, un déséquilibre redox peut

entraîner des maladies neurodégénératives comme dans le cas de la maladie d'Alzheimer ou de la maladie de Parkinson qui sont connues pour présenter un stress oxydatif accru. Les données actuelles indiquent que la fonction peroxysomale se détériore avec le vieillissement et le dysfonctionnement peroxysomal est lié à l'apparition précoce de plusieurs maladies liées à l'âge, y compris les maladies neurodégénératives (Fransen et al., 2013; Terlecky et al., 2012).

La maladie d'Alzheimer est considérée comme le trouble neurodégénérative le plus courant qui affecte la population âgée et se caractérise cliniquement par la détérioration progressive de la mémoire, la cognition et le comportement. Chez les patients atteints de cette maladie, on constate une diminution du taux du plasmalogène comme chez les patients atteints du syndrome de Zellweger (Ginsberg et al., 1995). Pendant les phases précoces de la maladie une altération importante dans le métabolisme lipidique, en particulier dans le peroxysome (Kou et al., 2011; Söderberg et al., 1991). L'analyse post mortem des cerveaux de patients atteints de la maladie d'Alzheimer a montré une accumulation des AGTLC tels que C24:0 et C26:0 dans toutes les zones corticales à l'exception du para subiculum. Cette accumulation des AGTLC est souvent associé à la présence des enchevêtrements neurofibrillaires (des agrégats intracellulaire de la protéine tau hyper phosphorylée) (Kou et al., 2011; Lizard et al., 2012a). L'observations des neurones en culture montre que la surexpression de la protéine tau inhibe le transport kinésine-dépendant des peroxysomes dans les neurites (Mandelkow et al., 2003; Stamer et al., 2002).

L'analyse post-mortem des cerveaux de patients atteints de la maladie de Parkinson montre dans les cortex frontaux une réduction remarquable des taux en acides gras polyinsaturés, y compris le DHA et l'acide arachidonique, tandis que les niveaux d'acides gras saturés sont augmentés par rapport au cerveau des sujets témoins (Fabelo et al., 2011). Une autre étude, ayant examiné les profils lipidiques sériques chez les patients parkinsoniens, a montré des taux plus faibles de cholestérol total et de triglycérides chez les patients parkinsoniens que chez les individus témoins (Guo et al., 2015). De plus, plusieurs études ont indiqué une relation étroite entre les niveaux de lipides peroxysomaux, tels que le cholestérol, l'utilisation de médicaments régulateurs des niveaux du cholestérol et le développement de la maladie de Parkinson (Doria et al., 2016).

Matériels et Méthodes

Origine et méthode d'extraction des huiles

1. L'huile d'argan

L'huile d'Argan vierge comestible (VAO) utilisée pour les traitements des souris ou des cellules de *Tetrahymena pyriformis* provient de la région d'Agadir (sud-ouest du Maroc). Elle a été préparée dans une association marocaine qui utilise un procédé d'extraction artisanal qui consiste respectivement en dépulpage des fruits, le concassage de la coque entre deux pierres, la torréfaction de l'amande oléagineuse et le broyage des amandes torréfiées à l'aide d'une meule en pierre. L'application d'une pression manuelle de la pâte permet l'obtention de l'huile qui est séparée par décantation.

2. L'huile d'olive

L'huile d'olive vierge comestible (VOO) provient de la région d'Essaouira (Nord-ouest du Maroc). L'huile d'olive est extraite premièrement par un broyage qui consiste à briser la peau et écraser la chair des olives pour obtenir la pâte d'olive, cette dernière est pressée pour en extraire l'huile, qui va être séparée de l'eau contenue par décantation.

3. L'huile de Colza

L'huile de colza (CO) a été achetée dans un supermarché local de la ville de Casablanca auprès d'une marque commerciale connue

I. Préparation des extraits des huiles

Afin d'extraire une fraction polaire et une fraction apolaire à partir des huiles, ces derniers ont été exposés au méthanol, pour cela un mélange (1:1) de (méthanol : huile) a été préparé et vigoureusement agité 1h puis centrifugé à 2500g pendant 5min afin de séparer les deux phases : la phase supérieure constitue la Fraction Méthanolique (FM) et la phase inférieure constitue la Fraction Lipidique (FL) selon la méthode décrite par (Espín et al., 2000a). L'huile totale (HT) a été utilisée dans l'étude pour mieux comparer les différentes fractions avec l'huile non fractionnée.

II. Screening phytochimique

1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques dans les huiles et leurs deux fractions a été estimée selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (Osorio-Esquivel et al., 2011a). L'ensemble des composés phénoliques sont oxydés par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors

de l'oxydation des substances phénoliques, en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols oxydés présente dans l'échantillon. Pour cela, 2,5 mL de réactif de Folin (dilué 10 fois) ont été ajoutés à 500 µl de l'échantillon correspondant à la FM, FL ou HT, et aux standards (préparés dans du méthanol) avec des dilutions appropriées, 2 ml de carbonate de sodium (7,5 %). Après 15 minutes d'incubation dans un bain-marie à 45°C, l'absorbance a été mesurée à 765 nm contre un blanc sans extrait. La quantification des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la gamme de calibration établie avec l'acide gallique réalisée dans les mêmes conditions. Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent acide gallique par gramme de poids sec de matière végétale (mg EAG/g de poids sec).

2. Dosage de la teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique du chlorure d'aluminium décrite par (Dehpour, 2009) une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Brièvement, 0,5 ml de la FM, FL ou HT a été mélangé avec 1,5 ml de méthanol, 0,1 ml de chlorure d'aluminium (10 %), 0,1 ml d'acétate de potassium (1 M) et 2,8 ml d'eau distillée et laissé à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 415 nm. La concentration en flavonoïdes a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine ; les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec de matière végétale (mgEQ/g de poids sec).

III. Evaluation du pouvoir antioxydant des huiles et de leurs extraits

1. Test DPPH

Afin d'évaluer l'activité anti-radicalaire, la méthode du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH•) a été utilisée selon le protocole décrit par (Huang et al., 2011a). C'est un test qui permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire des extraits dans un système modèle

(solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le radical chimique DPPH° par transfert d'une atome d'hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle. l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu. Les échantillons FM, FL ou HT (0,3 ml) ont été mélangés avec une solution de DPPH (0,2 mM) dissoute dans du méthanol. Après agitation du mélange par un vortex le mélange est laissé au repos pendant une heure à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 517 nm. L'activité de piégeage des radicaux a été calculée par l'équation suivante : $[(As-Ai)/As] \times 100$ dont (As = absorbance du DPPH seul, Ai = absorbance du DPPH en présence de FM, FL ou HT). Une courbe d'étalonnage générée à l'aide d'acide ascorbique a été utilisée comme référence.

2. Test FRAP

Le test FRAP (ferric reducing power) permet d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits on évaluant leur capacité de réduction ferrique. La méthode suivie est celle de (Oyaizu, 1986a). Le test FRAP est basé sur la réduction en milieu à faible pH, d'un complexe ferrique incolore (Fe³⁺-tripyridyl-triazine) en un complexe ferreux de couleur bleue (Fe²⁺-tripyridyl-triazine) par les antioxydants. En mode opératoire un millilitre de FM, FL ou HT a été mélangé avec 2,5 ml de tampon phosphate de sodium (0,2 M ; pH 6,6) et 2,5 ml de solution de ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) à 1 %, le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 min. Ensuite, 2,5 ml d'acide trichloroacétique (10 %) a été ajouté au mélange. Ensuite, 2,5 ml de cette solution ont été mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de FeCl₃ (0,1 %) et l'absorbance a été suivie à 700 nm. L'acide ascorbique a été utilisé afin de générer une courbe d'étalonnage ; les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent d'acide ascorbique par gramme de poids sec de matière végétale.

3. Test ABTS

Le test ABTS a été mesuré en utilisant la méthode de décoloration décrite par (RE, 1999a). Cette méthode est basée sur la capacité des molécules antioxydantes à inhiber le cation radical ABTS •+ obtenu à partir de l'ABTS (2,2' -azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), L'obtention du radical ABTS •+ , de couleur bleue-verte, résulte du contact de l'ABTS avec le persulfate de potassium L'ajout d'antioxydants va réduire ce radical et provoque la décoloration du mélange. cette décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydants. Dans cette étude, Le radical cationique ABTS+ a été produit par la réaction d'une solution aqueuse d'ABTS (7 mM) et d'une solution de persulfate de potassium

(K₂S₂O₈) (2,45 mM). Après stockage à l'obscurité pendant 16 h, la solution de cations radicalaires a été diluée avec du méthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de (0,7 ± 0,05) à 734 nm. Ensuite, 160 µl de la solution ABTS·+ ont été ajoutés à 40 µl de la FM, FL ou HT. L'absorbance a été mesurée à 734 nm après 10 min et l'activité de piégeage du radical ABTS (%) pour chaque concentration a été calculée par rapport à une absorbance du blanc selon l'équation suivante :

$$\text{ABTS (\%)} = \frac{(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon})}{(A \text{ contrôle})} \times 100$$

Où A contrôle représente la concentration initiale de l'ABTS·+ et A échantillon est l'absorbance de la concentration restante de l'ABTS·+ en présence de l'échantillon. Trolox a été utilisé comme contrôle positif.

IV. Culture, traitement cellulaire et élevage des souris

1. Culture et traitement des cellules de *Tetrahymena pyriformis*

La lignée cellulaire utilisée dans la première partie de notre étude était le protozoaire *Tetrahymena pyriformis* un eucaryote unicellulaire cilié en forme de poire avec un temps de régénération de 2--3h donc apparition de 8 à 9 générations par jour cet avantage et d'autre fait de ce protozoaire un organisme modèle couramment utilisé dans des domaines tels que la biologie et la biomédecine (Cassidy-Hanley, 2012).

Les cellules de *Tetrahymena pyriformis* ont été cultivées dans un milieu PPYG (peptone protéase-levure-glucose), composé de 1,50 % (p/v) de peptone protéase, 0,25% (p/v) d'extrait de levure 0,2% (p/v) de glucose, supplémenté avec de la pénicilline G (100 U / ml) et de la streptomycine (100 µg /ml) pour empêcher la croissance bactérienne dans le milieu de culture préparé dans de l'eau distillée stérilisée avec l'autoclave. Les cellules ont été maintenues en phase exponentielle par repiquage toutes les 72 heures. Les cellules en phase logarithmique ont été utilisées pour les différentes expériences avec à une concentration finale de 1 x 10⁴ cellules/ml.

L'induction du stress oxydant a été faite avec un traitement avec le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ à une concentration finale de 350µM, le stress nitrosatif a été induit par traitement au Nitroprusside de sodium à une concentration finale de 1mM. Pour le co-traitement aux huiles une concentration de 0,5 % de l'huile d'Argan, l'huile d'olive et l'huile de colza, préalablement solubilisées dans l'Ethanol (0.15%), est mélangée dans le milieu PPYG. Tous les traitements ont duré 24 heures.

2. Elevage et traitement des souris :

a) Elevage des souris

Des souris C57BL/6J (âgées de 12 à 16 semaines) ont été obtenues de l'institut Pasteur de Casablanca au Maroc toutes les expérimentations ont été approuvées et réalisées selon les recommandations du comité d'éthique animale de l'Université Hassan 1er, Settat, Maroc.

Les animaux ont été maintenus dans l'animalerie de la faculté des sciences et technique sous un environnement exempt de pathogènes sous des cycles lumière-obscurité (12–12 h), humidité relative de (45–65%) à une température de 22 ± 2 ° C et nourries avec un régime standard et de l'eau ad libitum pendant dix jours d'acclimatation afin de favoriser les interactions sociales entre les animaux et stabiliser les différents paramètres pouvant interagir avec les traitements.

Après la période d'acclimatation les souris ont été réparties au hasard en huit groupes (5 souris / groupe) qui ont reçues les traitements Tableau 1.

Nom du groupe	Traitement reçue	Injection appliqué
CTRL	Alimentation standard	Eau physiologique
LPS	Alimentation standard	LPS
AO	Alimentation enrichie avec 6% de l'huile d'Argan	Eau physiologique
OO	Alimentation enrichie avec 6% de l'huile d'Olive	Eau physiologique
CO	Alimentation enrichie avec 6% de l'huile de Colza.	Eau physiologique
AO+LPS	Alimentation enrichie avec 6% de l'huile d'Argan	LPS
OO+LPS	Alimentation enrichie avec 6% de l'huile d'Olive	LPS
CO+LPS	Alimentation enrichie avec 6% de l'huile de Colza.	LPS

b) Préparation des aliments et des injections :

Les souris ont reçu pendant 28 jours une alimentation enrichie avec l'huile d'Argane, l'huile d'Olive et l'huile de Colza pour cela 100 g de granulés destinés à l'alimentation des souris sont mélangés avec 6 % d'huile d'Argan, d'Olive ou de Colza (6 g de l'huile qui correspond à 6,53 mL/100g de nourriture) (El Kebbaj et al., 2015) l'huile d'Argan utilisé dans cette étude a été obtenu de la région d'Agadir au Maroc. Le 28ème jours à la fin du traitement et quatre heures avant le sacrifice les souris ont reçu une injection via la veine caudale de Lipopolysaccharides d'Escherichia coli 0111: B4 (Sigma) (solution 1mg/ml dans du PBS Stérile) avec une dose de 100µg/ 20g de poids vif de souris ou PBS stérile pour le contrôle négatif (voir tableau1).

Le jour du sacrifice les souris ont été anesthésiées sous une hotte, par inhalation de chloroforme. Ensuite, le sang a été prélevé par ponction cardiaque à l'aide d'une seringue montée d'une aiguille. Puis centrifugé à 8000g pendant 2 min pour récolter le plasma. Les organes (foie, cerveau, reins et cœur) ont été prélevés et congelés rapidement dans la carboglace et stockés à -80 °C jusqu'à l'utilisation.

3. Culture des cellules BV-2 WT et Acox1-/-

La lignée cellulaire murine BV2 dérivent des cellules murines microgliale de cerveaux de souris C57/BL6. Ce sont des cellules immortalisées par l'oncogène v-raf/v-myc et sont fréquemment utilisée pour se substituer à la culture de cellules microgliales primaires (Banca-Biologica e Cell Factory; catalogue no. ATL03001). Elles sont cultivées en milieu DMEM (Lonza, Bale, Suisse) supplémenté avec 10% de sérum de veau fœtal (Pan Biotech GmbH, Aidenbach, Germany), 1% d'antibiotiques: pénicilline (100 U/ml) /streptomycine (100U/ml) (Pan Biotech GmbH) et Glutamate (2 mM) . Le SVF est «décomplémenté» au bain marie à 56°C pendant 30 minutes pour tous les milieux de culture. Les cultures BV-2 sont maintenues à 37°C dans une atmosphère humide avec 5% CO₂.

V. Evaluation de la cytotoxicité par le test MTT

Le principe du test MTT consiste à mesurer l'activité de la succinate déshydrogénase mitochondriale une enzyme qui par coupure du cycle tétrazolium transforme le MTT (3 [4,5-diméthylthiazol-2-yl] -2,5-diphényltétrazolium bromure), de couleur jaune, en cristaux de bleu de formazan de couleur pourpre. En présence de composés toxiques, un certain nombre de cellules meurent ou deviennent moins actives et ne présentent donc plus d'activité enzymatique mitochondriale. Le MTT n'est donc plus métabolisé en cristaux de formazan

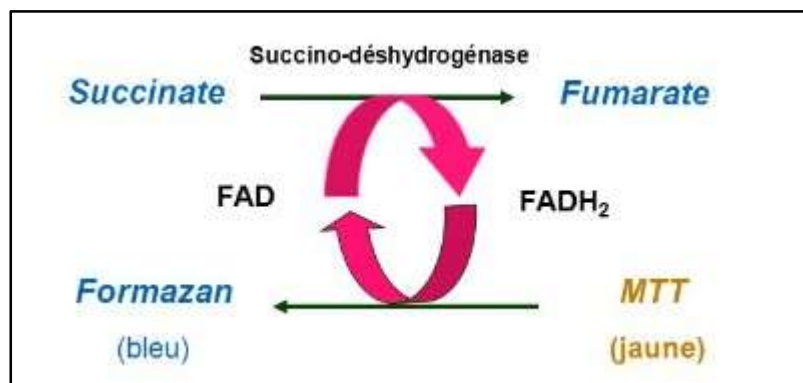


Figure 11 : transformation du MTT en Formazan par la succinate déshydrogénase

1. Test MTT pour *Tetrahymena pyriformis*

Afin d'évaluer l'effet de nos différents traitements à différentes concentrations sur la viabilité de *T.pyriformis*, le test MTT a été réalisé selon le protocole décrit par (Lizard et al., 1997). Après traitement avec diverses concentrations de H₂O₂ [50,150,250, 350,450 et 550 µM], SNP [0,4, 0,6, 0,8, 1, 1,2 et 1,4 mM] des huiles [0,25, 0,5, 0,75, 1,25 et 1,5 %] et d'éthanol [0,1, 0,15, 0,3, 0,6, 1,2 et 2,4 %] pendant 24h. Les cellules ont été incubées avec du MTT à une concentration finale de 0,05 mg/ml pendant 3 heures à 37°C. Ensuite, les cellules ont été centrifugées à 4000 g pendant 5 min, le surnageant a été jeté et les cristaux de formazan dans le culot ont été dissous par l'ajout de 1ml de DMSO. Les densités optiques ont été révélées par spectrophotométrie à 540 nm. La viabilité des cellules de *T.pyriformis* a été calculée en pourcentage par rapport au contrôle selon la formule : % Viabilité = (DO de l'échantillon / DO du contrôle) × 100 %.

2. Test MTT pour les BV2 WT et Acox1-/-

Le test MTT a été utilisé afin d'évaluer la cytotoxicité du Spinasterol et du Schottenol à 24h et 48h de traitement sur la prolifération et/ou la viabilité des cellules BV2WT et BV2 Acox1-/. Les cellules ont étéensemencées dans des plaques à 24 puits 4×10^4 cellules/puits et traitées avec du Spinasterol à [1-2,5-5 et 20 μM], ou du Schottenol à [1-2,5-5 et 20 μM], ou avec du 7KC cetocholestérol à [20 μM] pour le contrôle positif pendant 24h ou 48h. Ensuite, les cellules ont été incubées pendant 3h avec une solution de MTT à une concentration finale de 0,05 mg/ml après l'incubation, le milieu contenant le MTT est éliminé, les cellules ont été rincées avec 1 ml de DPBS. Ensuite 1 ml de DMSO a été ajouté dans chaque puit afin de dissoudre les cristaux de formazan. La densité optique a été mesurée à 595 nm. La viabilité des cellules a été calculée en pourcentage par rapport au contrôle selon la formule : % Viabilité = (DO de l'échantillon / DO du contrôle) \times 100 %.

VI. Evaluation des marqueurs de stress oxydatif et nitosatif

1. Détection des ERO par la sonde H2DCFDA:

La détection des ROS dans les systèmes biologiques est difficile pour plusieurs raisons parmi lesquelles on cite la sensibilité de la méthode et la spécificité de la sonde.

La sonde fluorescente 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCFDA) est une sonde souvent utilisé pour la détection des ROS qui peut réagir avec plusieurs radicaux libres y compris le peroxyde d'hydrogène, les radicaux hydroxyles et le peroxydinitrite. Les membranes cellulaires sont perméables à la sonde H2DCFDA elle diffuse passivement vers le milieu intracellulaire où ces groupes acétates sont clivés par les estérases intracellulaire. Une fois

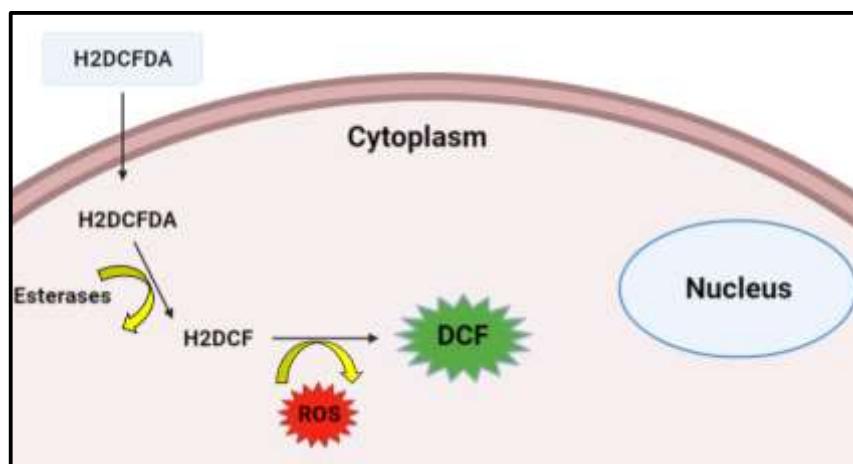


Figure 12 : clivage de la 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate par les estérases intracellulaire

oxydée par les ROS présents dans la cellule la sonde H2DCFDA non fluorescente donne un

composé hautement fluorescent la 2',7'-dichlorofluoresceine (DCF) qui reste piégé à l'intérieur des cellules.

a) Localisation fluorimétrique et quantification des ERO cellulaires par CLSM Chez Tetrahymena pyriformis

Après 24 heures de traitement, les cellules ont été collectées par centrifugation à 4000 g pendant 10 min puis incubées avec la sonde DCFH2-DA (Calbiochem) avec une concentration finale de 10 µM préparée dans du tampon MES (acide 2- [Nmorpholino] éthanesulfonique) -KCl (5 µM KCl, 50 µM de CaCl₂, 10 mM de MES, pH 6,15) pendant 30 min à 37 ° C. Suivi d'une étape de lavage dans le même tampon pendant 15 min, puis observé dans un (microscope confocal Nikon C1 utilisant une source laser Ar-488). Les contrôles négatifs ont été traités uniquement avec du tampon MES-KCl. L'intensité de la fluorescence verte a été quantifiée par le logiciel image J. L'écart moyen et standard ont été calculés après la mesure d'un minimum de trois images correspondant à trois expériences indépendantes.

b) Détection des ERO dans les cellules de BV2 WT et Acox1-/-

Dans une plaque de 96 puits noire à fond transparent (adaptée à la mesure de la fluorescence) les cellules BV2 WT ou Acox1-/- (2*10⁴ cellules/puits) sont ensemencé dans un milieu DMEM sans rouge de phénol. Après 7h de traitement avec (spinastérol ou schotténol) à 1 et 2,5µM et/ou avec LPS 1µg/ml le milieu de traitement est éliminé les cellules sont lavées avec du PBS préalablement chauffée à 37°C. Ensuite 100µl de la sonde H2-DCFDA (C6827 Thermo fisher) à une concentration finale de 10µM est ajoutée. Après incubation de 70 min à 37°C à l'obscurité. La plaque est transféré dans le lecteur de microplaque (Tecan Infinite Pro M200) avec (λEx Max= 485 nm ; λEm Max= 535 nm).

Les résultats ont été normalisés par rapport aux données obtenues lors de l'incubation des cellules avec la sonde Hoechst (2µg/ml) réalisée sous les même condition avec (λEx Max= 350 nm ; λEm Max= 461 nm). Enfin le ratio R a été calculé pour chaque condition avec

$$R = \left(\frac{\text{moyenne H2DCFDA} - \text{bruit de fond}}{\text{moyenne Hoechst} - \text{bruit de fond}} \right)$$

2. Mesure des anions superoxydes par la dihydroéthidine dans les cellules de BV2 WT et Acox1-/-

Le dihydroéthidine est un composé non fluorescent qui a la capacité de traverser les membranes cellulaires. Le marquage au DHE permet d'évaluer la production d'anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) qui a la capacité de l'oxyder en hydro-éthidium (HE). Ce dernier est un composé fluorescent qui marque les noyaux en s'intercalant entre les bases d'ADN.

Ainsi, dans une plaque de 96 puits noire à fond transparent (adaptée à la mesure de la fluorescence) les cellules BV2 WT ou Acox1-/- (2×10^4 cellules/puits) sont ensemencées dans un milieu DMEM sans rouge de phénol. Après 7h de traitement avec (spinastérol ou schottérol) à 1 et 2,5 μ M et/ou avec LPS 1 μ g/ml le milieu de traitement est éliminé les cellules sont lavées avec du PBS préalablement chauffée à 37°C. Ensuite 100 μ l de la sonde DHE (DHE; (Molecular Probes/Invitrogen)) est ajoutée à une concentration finale de 10 μ M. Après incubation de 70 min à 37°C à l'obscurité. La plaque est transférée dans le lecteur de microplaque (Tecan Infinite Pro M200) avec ($\lambda_{Ex} \text{ Max} = 518 \text{ nm}$; $\lambda_{Em} \text{ Max} = 605 \text{ nm}$).

Les résultats ont été normalisés par rapport aux données obtenues lors de l'incubation des cellules avec la sonde Hoechst (2 μ g/ml) réalisée sous les mêmes conditions avec ($\lambda_{Ex} \text{ Max} = 350 \text{ nm}$; $\lambda_{Em} \text{ Max} = 461 \text{ nm}$). Enfin le ratio R a été calculé pour chaque condition avec

$$R = \left(\frac{\text{moyenne H2DCFDA} - \text{bruit de fond}}{\text{moyenne Hoechst} - \text{bruit de fond}} \right)$$

3. Dosage du monoxyde d'azote

La production du NO dans les surnageants de culture des *cellules de BV2 WT et Acox1-/-* a été estimée par dosage des produits de son oxydation en nitrites et nitrates par la méthode de Griess. Le monoxyde d'azote (NO) est un biomédiateur synthétisé par la famille des NO synthases (NOS) composée de trois isoenzymes. Ces enzymes catalysent l'oxydation de L'arginine en N-hydroxyarginine, puis de celle-ci en NO. Cette réaction d'oxydation mène à la formation du NO^{\bullet} qui ensuite réagit avec l'enzyme pour former dans les conditions aérobies une molécule de nitrite.

Après 24h d'incubation des cellules avec différents les différents traitements avec ou sans stimulation au LPS (1 μ g/ml). Le surnageant (50 μ l) cellulaire a été récupéré et placé dans une plaque à 96 puits, un volume de 50 μ l de réactif de Griess (Sigma Aldrich) (1% sulfanilamide, 0,1% naphthyl-éthylène-diamine dans 5% H_3PO_4) a été ajouté dans chaque puit, après incubation pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante l'absorbance a été

évaluée à 540 nm. Pour la courbe d'étalonnage, une dilution en cascade de nitrite de sodium (NaNO_2) a été utilisée (0,39-0,78-1,56-3,12-6,25-12,5-25-50-100 μM).

4. Détection de gouttelettes lipidiques intracellulaires par coloration au rouge du Nil

Le Nile red est une sonde fluorescente, le [9-diéthylamino-5H-benzo[α]phénoxazine-5-one], soluble dans plusieurs solvants organiques, C'est un excellent colorant des lipides neutres tels que les triglycérides ou les esters de cholestérol car il présente une couleur forte, il est utilisé pour révéler l'accumulation intracellulaire de lipides neutres sous forme de gouttelettes lipidiques.

En mode opératoire, après 24h de traitement, les cellules de *T.pyriformis* ont été collectées par centrifugation à 4000g pendant 10 min, lavées deux fois avec du PBS pour éliminer les résidus de milieu de culture, puis fixées avec du formaldéhyde 3% pendant 30min. Après trois lavages avec du PBS, les cellules ont été incubées avec la sonde Nile red à une concentration finale de 10 $\mu\text{g/ml}$ pendant 30 minutes à température ambiante dans l'obscurité (Dürichen et al., 2016a). Ensuite, les cellules ont été lavées dans du tampon PBS frais, puis observées dans un microscope confocal à balayage laser (CLSM) Nikon C1. L'intensité de la fluorescence verte dans chaque cellule a été quantifiée par le logiciel d'image J en utilisant des cellules traitées comme ci-dessus mais en omettant le fluorophore comme contrôle. La moyenne et l'écart type ont été calculés cellule par cellule après mesure d'un minimum de trois images contenant plusieurs cellules, correspondant à trois expériences indépendantes.

VII. Préparation des homogénats cellulaires et tissulaires

1. Préparation de l'homogénat cellulaire de *Tetrahymena pyriformis*

Les cellules de *T. pyriformis* ont été collectées par centrifugation à 4000 g pendant 10 min à 4°C, puis lavées avant d'être mises en suspension dans 1 ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7,4). Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un ultraturax pendant 20 min à 4°C suivi d'une sonication de l'échantillon (80W, 60 s). L'homogénat a ensuite été centrifugé à 4000g pendant 10 min à 4°C. Le surnageant obtenu représente l'extrait protéique brut.

2. Préparation des homogénats de tissus :

Les homogénats ont été préparés à partir des foies et des cerveaux des souris en ajoutant à 10 % (p/v) pour les foies et 4 % (p/v) pour le cerveau du tampon phosphate de potassium

(0,05M ; pH 7,4) après une homogénéisation à l'aide d'un homogénéisateur potter Elvehjm (Dominique Dutscher, Issy-les-Moulineaux, France). Le tout a été centrifugé 10 min à 3000 g à 4°C les surnageants considérés comme aliquotes ont été conservés à -20°C, leur teneur en protéines a été mesurée en utilisant comme standard le sérum albumine bovine, selon la méthode décrite par Lowry (LOWRY et al., 1951a).

3. Dosage des protéines

La détermination de la concentration totale des homogénats en protéines a été performé en utilisant le kit BCA (Sigma Aldrich). C'est une méthode qui permet la détection colorimétrique et la quantification des protéines. Elle est considéré comme une méthode alternative de la méthode Lowry. Dans cette réaction le Cu²⁺ est réduit en Cu par le complexe protéine-Cu²⁺ dans des conditions alcalines, le produit de la réaction de couleur violette de cet essai est formé par la chélation de deux molécules de BCA avec un ion cuivreux. Ce complexe soluble dans l'eau présente une forte absorbance à 562 nm.

Dans un premier temps on prépare un mix constitué de BCA et Cu²⁺ (50/1) respectivement, le dosage est effectué en plaque 96 puits, dans chaque puis on met 2,5 µL d'échantillon (homogénat de tissus ou lysat cellulaire) auxquels 22,5 µL d'eau distillée et 200µL du mix BCA/ Cu²⁺ sont ajoutés. En parallèle une gamme d'étalonnage allant de 0 à 25 µg est préparé avec du sérum albumine bovine (BSA) (1mg/ml). La plaque ensuite est incubée pendant 30 minutes à 37°C puis l'absorbance est lue à 562 nm sur un spectrophotomètre (MRX Revelation, Dynex).

VIII. Evaluation de l'activité antioxydante

1. Dosage de la catalase

La catalase est une enzyme tétramérique dont chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Elle catalyse la réaction de dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



L'activité de la catalase est mesurée par le suivie de la cinétique de disparition du H₂O₂ dégradé par l'enzyme à 240nm. Le dosage est réalisé dans une plaque de 96 puits spécifique UV. La réaction se fait dans un volume totale de 200µl contenant du Tris-HCl (1M ; pH 7) et

du H₂O₂ à (20 mM) et 10µl de l'extrait protéique. La réaction est suivie pendant 2 minutes pour 40 cycles avec un intervalle de 3 secondes chacun dans un spectrophotomètre (Fluorimètre/ luminomètre Infinite M200 pro, TECAN). L'activité spécifique de la catalase est exprimé en unité de d'H₂O₂ consommé par minutes par milligramme de protéine.

2. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase par la méthode au KMnO₄

Cette technique est une méthode indirecte pour le dosage de l'activité de la catalase, elle consiste à ajouter dans le milieu réactionnel contenant l'extrait biologique un excès de peroxyde d'hydrogène. Ensuite la réaction est stoppée par acidification au bout d'un temps donné et une forte concentration de permanganate de potassium est ensuite ajoutée dans le mélange réactionnel. Le permanganate réagit avec le peroxyde d'hydrogène qui n'a pas été dégradé par l'enzyme et la quantité de permanganate de potassium qui n'a pas réagi avec le H₂O₂ est mesurée par spectrophotométrie à 480 nm. L'activité de la catalase est inversement proportionnelle à la quantité de permanganate de potassium encore présente dans le milieu réactionnel (Ni et al., 2002).

La réaction a été effectuée dans un volume totale de 200 µl, Pour cela 30µL d'une solution de H₂O₂ (7,3 mM) fraîchement préparée est ajoutée à 10µl de l'extrait cellulaire le tout est incubé pendant trois minutes. Ensuite la réaction est arrêtée par l'ajout de 20 µl d'acide sulfurique 6N. Ainsi 140µl de KMnO₄ à (2mM) est ajoutée. La réaction est suivie à 480nm dans un spectrophotomètre (Fluorimètre - luminomètre Infinite M 200 pro TECAN). Enfin, l'activité spécifique de la catalase est exprimée en unité d'H₂O₂ consommées par minutes par milligramme de protéine.

3. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase est une enzyme qui catalyse la dismutation des anions superoxydes (O₂⁻) en l'oxygène et en peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



L'activité de la superoxyde dismutase a été déterminé selon la méthode décrite par (Beyer and Fridovich, 1987) une méthode spectrophotométrique basée sur la réduction du nitro bleu de tétrazolium (NBT) en bleu de formazan stable . Ainsi, les solutions suivantes ont été

mélangées Tampon phosphate (50 mM), le triton x-100 (0,025 %), le chlorure de nitro bleu tétrazolium NBT (75 mM), EDTA (0,1 mM ; pH 8), L-méthionine (12 mM), avec 20µl de l'aliquote d'enzyme. Enfin 2 µM de la riboflavine ont été ajoutés pour initier la réaction l'absorbance a été lu à 560 nm. Une unité d'activité de SOD est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour inhiber de 50 % la réduction de NBT.

4. Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase

L'activité de la GPX a été mesurée en suivant le protocole de (Flohe and Gunzler, 1984a) . La GPX dans cette réaction catalyse l'oxydation du glutathion par l'hydroperoxyde de cumène. En présence du glutathion réductase et de la NADPH, le glutathion oxydé est immédiatement converti sous une forme réduite avec oxydation concomitante de NADPH en NADP+. La diminution d'absorbance qui en résulte est mesurée à 340 nm.



A cet égard, un mix réactionnel contenant 0,3 ml de tampon phosphate de potassium (0,1M ; pH 7,0), 0,2 ml de GSH (glutathion réduit) (2 mM), 0,1 ml de H2O2 et 0,1 ml de sodium azide(1 mM) a été préparé, sur lequel on rajoute 0,3 ml de l'échantillon le mélange a été incubé pendant 15 min à 37°C, puis 0,5 ml de TCA (5%) a été ajouté pour arrêter la réaction suivi d'une centrifugation pendant 5 min à 1500g. Ensuite, 0,1 ml du surnageant a été collecté et ajouté à 0,2 ml de tampon phosphate (50mM) et 0,7 ml de DTNB (0,4 mg/ml). L'absorbance a été mesurée à 420 nm. l'activité a été exprimée en unité de GSH/min/mg de protéine (une gamme GSH a été réalisée dans les mêmes conditions).

5. Dosage de l'activité de ACOX1

L'activité de l'enzyme ACOX1 a été déterminée par la méthode fluorimétrique décrite par (Brocard et al., 1993). C'est une méthode basée sur le mesure de la fluorescence émise à 420 nm par un composé fluorescent excité à 310 nm. Ce composé qui provient de la réaction, catalysée par la peroxydase, entre une molécule d'H2O2 produite lors de la réaction catalysée par l'ACOX1 et deux molécules d'acide homovanillique. C'est une méthode sensible permettant la mesure de l'activité de l'ACOX1 indirectement.

En premier lieu, une gamme étalon de peroxyde d'hydrogène allant de 0 µM à 5 µM a été rélisée en préparant un milieu réactionnel composé de tampon Tris (55 mM ; pH 8,3) , d'acide homovanillique (27mM) et de peroxydase HRP (1mg/ml) . La réaction est

déclenchée par l'addition des solutions d' H_2O_2 de concentrations connues. Le volume réactionnel final est de 200 μ l. Ensuite, la mesure de l'activité ACOX1 a été réalisée en utilisant le même milieu réactionnel que précédemment dans lequel est ajouté du palmitoyl-CoA (50 μ M) (substrat de l'ACOX1). La réaction est déclenchée par l'addition de 10 μ l de l'extrait cellulaire. La cinétique d'apparition de la fluorescence est mesurée à 420 nm toutes les 30 secondes durant 120 cycles (cinétique de 60 minutes) grâce à un fluorimètre à plaques (Fluorimètre/ luminomètre Infinite M200 pro, TECAN) thermostaté à 30°C. La vitesse initiale de la réaction a été déterminée à partir des courbes cinétiques et le calcul de l'activité spécifique de l'ACOX1 est exprimé en unité de H_2O_2 consommé par minute par milligramme de protéine.

IX. Evaluation des marqueurs de stress

1. Evaluation du taux du Glutathion réduit

Le dosage du glutathion réduit a été effectué selon la méthode décrite par Ellman (Ellman, 1959a). C'est une méthode basée sur l'évaluation de la réduction du réactif d'Ellman DTNB (5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoïque)) par les groupes thiols (SH) pour former l'acide 2-nitro-5-mercapto-benzoïque, ce dernier est caractérisé par une coloration jaune intense, ce qui permet sa quantification par spectrophotométrie à 412 nm.

Ainsi, un volume de 400 μ l de l'extrait protéique a été mélangé avec 200 μ L de l'acide trichloracétique TCA (5%) après centrifugation à 12000g pendant 10 min le surnageant a été ajouté à du tampon phosphate (50 mM, pH 8) et du DTNB (6 mM). Ensuite après 5 min l'absorbance a été lue à 412 nm contre un blanc contenant les mêmes réactifs. Les concentrations de GSH ont été calculées en utilisant une courbe de glutathion utilisé comme standard.

2. Evaluation du taux de MDA

La réaction de dosage du malondialdéhyde (MDA), repose sur la formation en milieu acide et à chaud entre le MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA), d'un pigment absorbant à 532 nm, extractible par le butanol (Ohkawa et al., 1979a). La réaction colorée mesure non seulement le MDA préexistant mais aussi le MDA formé par décomposition thermique des peroxydes et des MDA générés au cours de la réaction (Favier, 1997).

La peroxydation lipidique a été mesurée dans un mélange réactionnel contenant 0,5 ml de l'homogénat, 0,5 ml de l'acide trichloracétique (TCA, 20 %) et 1ml de l'acide thiobarbiturique (TBA, 0,67 %) le mélange a été chauffé à 100°C pendant 15 min. Après refroidissement, le

MDA a été extrait avec du n-butanol, une centrifugation à 3000 g pendant 15 min a été effectuée et l'absorbance de la couche organique a été mesurée à 532 nm.

Western Blot

I. Extraction des protéines

1. Extraction des protéines à partir des foies et des cerveaux

Les homogénats obtenus à partir des foies et des cerveaux de souris ont été préparés en ajoutant à 10% (w/v) pour les foies et 4% (w/v) pour les cerveaux du tampon RIPA (Tris 1M, NaCl 150 mM, NP-40 à 1% , SDS 0,1%, désoxycholate de sodium 1%) les tissus ont été broyés à l'aide d'un homogénéisateur potter Elvehjm (Dominique Dutscher, Issy-les-Moulineaux, France). Les homogénats ont été centrifugés 10 min à 3000 g à 4°C et les surnageants ont été récupérés, leur teneur en protéines a été déterminée à l'aide de la solution d'acide bicinchoninique (Sigma-Aldrich).

2. Extraction des protéines à partir des cellules BV2 WT et Acox1

L'extraction des protéines a été réalisée à partir des cellules BV2 WT et Acox1^{-/-} afin d'obtenir un lysat cellulaire contenant les protéines membranaires ainsi que les protéines solubles intracellulaire. la solubilisation des protéines et réaliser en utilisant un tampon de lyse contenant un détergent le Triton X-100.

les cellules BV2 étant semi adhérentes, le milieu de culture et récupérer. D'une part les cellules adhérentes sont décrochées de la boîte de culture en incubant les cellules avec 1ml de solution d'EDTA 2 mM dans du PBS pendant 10 min à température ambiante. d'autre part les cellules flottantes sont récupérées on centrifugeant le milieu de culture à 200g pendant 5min. Le culot cellulaire est ajouté à la suspension des cellules adhérentes. Les cellules sont ensuite centrifugées 5 min à 300G à température ambiante et lavées 3 fois au PBS afin d'éliminer toute trace de milieu contenant les protéines du sérum et les protéines secrétées. le culot contenant les cellules est solubilisé avec 200µl de solution de lyse composé de tampon Tris à 50mM, NaCL à 150mM, Triton X-100 à 1% auquel sont ajoutés des inhibiteurs de protéases PMSF à 1Mm (« Fluorure de phénylméthylsulfonyl » inhibiteur de protéase à sérine) et un mélange commercial d'inhibiteurs (« complet inhibitor cocktail » Roche Diagnostics). Les cellules sont alors lysées et les protéines solubilisées grâce à une incubation à 4 °C pendant 20 à 30 min. Afin d'éliminer les gros débris cellulaire non solubilisés. Les cellules sont centrifugées 10

min à 10000g à 4 °C le surnageant contenant les protéines est ensuite récupéré et utilisé directement ou stocké à - 20° C.

II. Séparation des protéines en SDS-PAGE (PolyAcrylamid Gel Electrophoresis)

Cinquante microgrammes de protéines ont été dilués dans du tampon de charge (125 mmol/L Tris/HCl, pH 6,8, 4,6 % (w/v) SDS, 20 % (v/v) glycérol, 10 % (w/v) mercaptoéthanol et 0,003 % (p/v) bleu de bromophénol) et chauffé à 100°C pendant 5 min. Les protéines sont en premier lieu concentrées dans un gel de concentration à 4% composé de (Tris HCl 125 mM, SDS 0,1%, acrylamide/bisacrylamide 4%, pH 6,8) et migré pendant 15min à 75V, puis séparés à 150V dans le gel de séparation (Tris HCl 375 mM, pH 8,8, SDS 0,1%, acrylamide/bisacrylamide 8 à 14%) d'épaisseur de 1 à 1,5 mm dans un système d'électrophorèse MiniPROTEAN (BioRad). Le gel de séparation peut être de 8 à 14% d'acrylamide/bisacrylamide (rapport:37,5/1) selon le poids moléculaire de la protéine cible. Les protéines séparées sont ensuite transférées sur une membrane PVDF activée pendant 1min dans du méthanol. La séparation s'effectue en milieu liquide dans un tampon de transfert Tris/glycine/acide borique sous l'action d'un champ électrique de 100V pendant une heure et demi.

III. Détection et révélation des protéines

Après avoir bloqué les sites de liaison non spécifiques avec du lait écrémé à 5 % dans du BST-T (10 mM de Tris-HCl, 150 mM de NaCl, 0,1 % de Tween 20, pH 8) pendant 1 h à température ambiante, la membrane est incubée pendant une nuit avec l'anticorps primaire préparé dans du (BST-Tween 20 avec 1 à 5 % de lait) à 4° sous agitation. L'anticorps dirigé contre ABCD1 était un anticorps préparé au laboratoire (sérum #029) anticorps polyclonal utilisé au 1/2000, Anti-ABCD2 provenaient d'Abcam (ab 102948) utilisé au 1/1000. Après trois lavages de 10 min avec du PBS-Tween 20, les membranes ont été incubées pendant 1 h à température ambiante avec un anticorps secondaire de chèvre anti-lapin conjugué à la peroxydase de raifort (Cell Signaling, ref : #7074S). L'Anti-catalase (AF3398) provenait de R&D Systems (Minneapolis, MN, USA), et utilisé à une concentration finale de 1/400. Après trois lavages de 10 min avec du PBS, les membranes ont été incubées avec un anticorps secondaire anti-chèvre à une dilution de 1:5000 (PBS-Tween avec 3% de lait écrémé) pendant 1 h à température ambiante et lavées trois fois dans du PBS-T pendant 10 min. Toutes les

membranes ont été incubées avec un anticorps dirigé contre la β -actine (anticorps monoclonal de souris ; ref : A2228 ; Sigma-Aldrich) utilisé à une concentration finale de 1/10.000. Les autoradiographies des immunoblots ont été réalisées à l'aide d'un kit de détection amélioré par chimiluminescence (Supersignal West Femto Maximum Sensitivity Substrate, Thermo-Scientific) et Chemidoc XRS+ (Bio-Rad, Marnes la Coquette, France) elles ont été quantifiées avec le logiciel Image Lab (Bio-Rad) .

RT QPCR

I. Extraction des ARN

Pour extraire L'ARN des cellule BV2 WT et *Acox1*^{-/-} les cellules ont été collecté par trypsination après deux lavages au PBS et centrifugation à 300g pendant 5min les culot cellulaires sont désormais prêts pour l'extraction de l'ARN avec le kit RNeasy Mini (Qiagen). De même, L'ARN total des tissus du cerveau et du foie a été extrait et purifié à l'aide du kit RNeasy Mini (Qiagen) en suivant les instructions du fabricant, vu la richesse du cerveau en lipides une étape supplémentaire d'extraction avec le Trizol-chloroforme a été appliqué en premier lieu. Des échantillon de tissu de foie (environ 30mg) et du cerveau des souris est pesé très précisément. L'échantillon du cerveau a été mélangé avec 1ml de Trizol après broyage 200 μ l de chloroforme ont été rajoutés le mélange est vortexé vigoureusement, après incubation pendant 15min le tout est centrifugé à 12000g pendant 15min à 4°C, le surnageant contenant l'ARN est récupéré . Le foie a été broyé dans des tubes Eppendorf de 2ml contenant 600 μ l de tampon de lyse RLT le tampon de lyse est ajouté aussi directement sur les cellules (adapté en fonction du nombre de cellules). Après centrifugation à 12000g pendant 3 minutes à 4°C. La phase supérieure qui correspond à la phase aqueuse contenant les ARN a été récupérée (Le reste des étapes est identique pour les deux tissus et pour les deux lignées cellulaire). Ensuite sur les surnageants récupérés un volume d'éthanol à 70% est ajouté et le mélange est homogénéisé. Le mélange est alors passé sur une colonne RNeasy spin placée dans un tube de 2 ml puis centrifugé 30 secondes à 8000g. Ensuite un lavage de la colonne est effectué avec 700 μ l de tampon RW1 après une centrifugation pendant 15 sec à 8000g, 500 μ l du tampon RPE est ajoutée sur la colonne, une centrifugation est performée pendant 15 sec à 8000g et à nouveau 500 μ l du tampon RPE est rajouté sur la colonne, après une centrifugation de 2 min à 8000g la colonne est placé dans un nouveau tube Eppendorf de 1,5ml et un volume de 30 μ L d'eau ultra-pure (RNase free) est ajouté dans la colonne puis une centrifugation d'une

minute à 8000 g est performée afin de récupérer les ARN totaux. Les ARN peuvent alors être conservés à -80°C.

II. Dosage des ARN par spectrophotométrie

Afin de contrôler la qualité des ARN extraits et avant la passage à la transcription en cDNA. Les ARN totaux sont dosés par spectrophotométrie. En effet 2 µL d'échantillons sont placés sur le lecteur du dispositif TrayCell (Hellma) et la densité optique (DO) est lue à 260 nm et 280 nm par le spectrophotomètre (UV-1800, Shimadzu). La pureté des acides nucléiques a été contrôlée en mesurant le rapport de l'absorbance 260 nm/280 nm qui était compris entre 1,8 et 2,2. La valeur de l'absorbance des ARN totaux à 260 nm permet de calculer la concentration en ARN de l'échantillon avec le logiciel UVProbe (Shimadzu).

III. Transcription inverse des ARN en cDNA

La transcription inverse permet la synthèse d'un d'ADN complémentaire (ADNc) monobrin à partir d'une matrice ARN grâce à une reverse-transcriptase. Le principe repose sur l'utilisation d'oligo-dT qui se lie aux ARN et servent d'amorces pour une ADN polymérase ARN-dépendante. En présence de désoxyribonucléotides triphosphate (dNTP), Ainsi, il y a élongation des amorces et synthèse d'ADNc représentatifs de l'ensemble des ARN. La réaction de transcription inverse a été réalisée en utilisant le kit iScript cDNA Synthesis Kit (BioRad). Dans un premier temps, Les ont été tous ajustés à la même concentration de 0.2µg/µl dans un volume totale de 30 µL d'eau ultra pure. Dans chaque tube on met 5µl d'ARN à 0.2µg/µl (équivalent de 1 µg d'ARN), 4 µL de 5X iScript react mix, 10 µL d'eau ultra pure et 1 µL de iScript RT rajouté à la fin, le volume final est de 20 µL. Ensuite, les échantillons sont chauffés 5 minutes à 25°C puis 1 heure à 42°C (température de réaction de la RT) et 5 minutes à 95°C (destruction de l'enzyme). Les ARN sont alors rétro-transcrits en ADNc et peuvent être stockés à -20°C jusqu'à utilisation.

IV. Préparation des échantillons pour la qPCR

Les cDNA obtenues par la transcriptions inverses font un volume final de 20 µl auquel on rajoute 80 µl de DNA Free water pour obtenir un volume final de 100 µl. À partir de ces échantillons, une gamme de dilution a été réalisée pour servir de standard pour chaque réaction de qPCR et donc pour chaque gène étudié. Un volume de 25 µl de chacun des échantillons est prélevé et mélangé Un volume de 25 µL de dans un même tube afin de réaliser une gamme de dilutions en cascades (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64) qui servira de gamme standard. Un

nouveau volume de 225 μL d'eau est ensuite ajouté aux 75 restants pour obtenir un volume final d'échantillon de 300 μL . Cette gamme permet de mesurer l'efficacité de l'amplification de chaque gène sur la plaque de qPCR. En effet, pour une efficacité de 100%, il y aura un cycle d'amplification d'écart entre chaque point de la gamme.

V. qPCR : Réaction de polymérisation en chaîne en temps réel:

la PCR quantitative permet quantifier le niveau d'expression d'un gène donné en amplifiant les ADNc issus des ARNm par une réaction de PCR qui implique la quantification du signal fluorescence émis par un fluorophore qui s'intercale entre les brins de l'ADN néosynthétisé. Le fluorophore utilisé au cours de cette réaction est le SYBR® Green (PCRArray-Qiagen). Les amorces utilisées pour chacun des gènes amplifiés ont été choisies grâce à la base de données PrimerBank (Harvard Medical School). Le gène de ménage utilisé code la phosphoprotéine ribosomale acide PO (36B4). Pour réaliser la réaction de qPCR, un mélange réactionnel est préparé dans chaque puits. Le mélange est composé de 7,5 μl de MESA GREEN qPCR MasterMix Plus (Eurogentec), 0,04 μl d'amorce sens (100 μM), 0,04 μl d'amorce anti-sens (100 μM), 3,5 μl de ADNc le tout est ajusté à un volume final de 15 μl avec de l'eau RNase free la concentration finale des amorces est de 300nM ils permettent d'obtenir des amplicons d'une taille entre 100 et 200 paires de bases.

La qPCR est effectué sur l'appareil StepOne Plus de (Life Science Technologies) avec le programme suivant : 20 secondes à 90°C pour activer la Taq polymérase, 40 cycles de 3 secondes à 95°C puis 30 secondes à 60°C et enfin un cycle passant de 60°C à 95°C pour faire une courbe de fusion. Pour chaque transcrit, l'efficacité d'amplification a été déterminée par la pente de la courbe standard générée à partir de dilutions en série doubles d'ADNc. L'expression génique a été quantifiée à l'aide des valeurs de seuil de cycle (C_t) et normalisée par le gène de référence 36B4. L'expression quantitative des gènes a été déterminée en calculant $2^{-\Delta C_t}$ avec $\Delta C_t = (C_t \text{ du gène étudié}) - (C_t \text{ du gène } 36B4)$.

VI. Immunolocalisation en CLSM :

Après un traitement de 24 heures, les cellules ont été collectées par centrifugation à 4000g pendant 10 min à 4°C et lavées deux fois avec du tampon HEPES (sigma ,Aldrich) , puis fixées avec 4% (p/v) de paraformaldéhyde et 0,2% (v/v) de glutaraldéhyde dilué dans le tampon HEPES avant d'être incluses dans l'agarose (6%). Après, les cellules ont été remises en suspension dans du tampon Cacodylate (0,03 M, pH 7,2) dans la glace et lavées trois fois 30 min chacune. Les échantillons ont été déshydratés dans une série d'éthanol et inclus dans de la

résine Unicryl à -20°C à l'aide de lumière ultraviolette. Des coupes semi-fines ont été obtenues avec un microtome Reichert-Jung Ultracut E en utilisant un couteau en verre. Les coupes ont été placées sur des lames revêtues de Biobond et utilisées pour l'immunolocalisation de GPX (glutathion peroxydase) SOD et catalase. La perméabilisation des cellules a été réalisée en incubant les cellules avec du PBS-Triton X 100 (0,1%), puis les lames ont été lavées avec du PBS trois fois 5 min chacune. Ensuite, les lames ont été incubées avec 1 % de BSA, 22,52 mg/mL de glycine dans du PBST (PBS + 0,1 % de Tween 20) pendant 30 minutes pour bloquer la liaison non spécifique des anticorps. Les lames ont ensuite été incubées avec l'un des anticorps suivants : solution d'anticorps primaire de lapin anti-GPX (Agrisera) (dilution 1:1500 dans le tampon de blocage), solution d'anticorps primaire de lapin anti-SOD (Agrisera) (dilution 1:1000 dans le tampon de blocage) , solution d'anticorps primaire de lapin anti-catalase (Agrisera) (dilution 1:1000 dans du tampon de blocage) en chambre humidifiée pendant 1 h à température ambiante ou une nuit à 4°C. Les lames ont été lavées trois fois dans du PBS pendant 5 min. L'anticorps secondaire (solution 1:1000 d'anticorps IgG anti-lapin de chèvre conjugué à DyLight 488) (Agrisera) a été ajouté dans 1% BSA pendant 1h à température ambiante dans l'obscurité et lavé trois fois avec du PBS pendant 5 min. Les lames ont été observées dans un microscope confocal à balayage laser (CLSM) Nikon C1 utilisant une source laser Ar-488). Les coupes témoins négatives ont été traitées comme ci-dessus mais en utilisant du sérum pré-immun de lapin normal au lieu des différents anticorps.

Résultats

*Article 1 : Effet modulateur de l'huile d'argan sur le stress oxydatif et nitrosatif induit chez *Tetrahymena pyriformis**

Introduction

Dans ce premier chapitre nous avons en premier lieu réalisé une étude phytochimique sur l'huile d'argan comparé avec l'huile d'olive. En second lieu nous avons évalué l'effet de l'huile d'argan et l'huile d'olive sur le stress oxydatif et le stress nitrosatif, induit chez *Tetrahymena pyriformis*.

Le screening phytochimique réalisé sur l'huile d'argan et l'huile d'olive avait pour but la détermination de leurs teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Ensuite l'évaluation de leurs effets antioxydants et leurs pouvoir de piégeage de radicaux libre par les tests chimiques (DPPH, FRAP et ABTS). Dans la deuxième partie nous avons évalué l'effet potentiel antioxydant de l'huile d'argan et l'huile d'olive cette fois-ci *in-vitro* sur un modèle unicellulaire, *Tetrahymena pyriformis*, ce protozoaire est largement utilisé comme organismes modèles dans la recherche biomédicale depuis des décennies pour ses nombreux avantages, en particulier sa capacité à se développer dans un milieu simple et également un temps de génération court d'environ 2 heures (Cassidy-hanley, 2013).

On outre, *T. pyriformis* a été traité par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le nitroprusside de sodium (SNP) afin d'induire le stress oxydatif et le stress nitrosatif respectivement. Avant de procéder aux différents traitement, il était indispensable d'évaluer l'effet des différents agents et les deux huiles sur la viabilité cellulaire pour cela le test MTT a été performé. Les résultats de ce test nous ont permis de déterminé les IC50 du H_2O_2 et le SNP, et les concentration non toxique de l'HA et l'HO. Les concentrations déterminé à l'issu du test MTT ont été utilisé dans le reste des expériences.

Ensuite les niveaux de production des ERO essentiellement la production d'anions superoxydes et du peroxyde d'hydrogène, ont été évalué en utilisant la sonde H_2 -DCFDA, une sonde capable de franchir les membranes cellulaires, utilisé souvent pour la détection des ERO produite dans le milieu intracellulaire. Ainsi le rouge de Nil, 9-diéthylamino-5H-benzo[a]phénoxazine-5-one (Nile Red), a été utilisé comme colorant vital pour la détection de

gouttelettes lipidiques intracellulaires par microscopie à fluorescence. De plus le taux du MDA a été mesuré, Le MDA est l'un des produits secondaires les plus connus de la peroxydation lipidique, il est utilisé comme marqueur de lésion des membranes cellulaires. Ainsi le taux du GSH a été estimé, le GSH est l'antioxydant hydrophile le plus important qui protège les cellules contre les toxines exogènes et endogènes, y compris les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS) (Marijke et al., 2012).

Enfin l'activité antioxydante de la catalase, la SOD et la GPX a été mesuré par spectrophotométrie ainsi que leur immuno-localisation. par microscopie à fluorescence ces enzymes constitue la première ligne de défense contre la perturbation de la balance pro-antioxydant, en effet ils constituent la clé de la stratégie de défense cellulaire contre le processus d'oxydation.

Modulatory effects of the addition of argan and olive oils on oxidative and nitrosative stress induced in *Tetrahymena pyriformis*

Soukaina Essadek ^{1,†}, Elena Lima-Cabello ^{2,†}, Soufiane El Kamouni ¹, Riad El Kebbaj ^{1,3}, Abdelkhalid Essamadi ¹, Gérard Lizard³, Pierre Andreoletti ³, Mustapha Cherkaoui-Malki ³, Boubker Nasser ¹ and Juan de Dios Alché ^{2,*}

¹ Laboratoire Biochimie, Neurosciences, Ressources Naturelles et Environnement, Faculté des Sciences et Techniques, Université Hassan I, BP577, Settat 26000, Morocco; ess.soukaina@hotmail.fr (S.E.); eks.soufiane@gmail.com (S.E.K.); elkebbajriad@gmail.com (R.E.K.); essamadi@uhp.ac.ma (A.E.); boubker_nasser@hotmail.com (B.N.)

² Plant Reproductive Biology and Advanced Imaging Laboratory, Estación Experimental del Zaidín (EEZ), CSIC, 18008 Granada, Spain; elena.lima@eez.csic.es (E.L.C.)

³ Laboratoire Bio-PeroxiL EA7270, University Bourgogne Franche-Comté, 6 Bd Gabriel, 21000 Dijon, France; malki@u-bourgogne.fr (M.C.-M.); pierre.andreoletti@u-bourgogne.fr (P.A.)

* Correspondence: juandedios.alche@eez.csic.es (J.D.A.) Tel.: +34-958526520

Tel.: +33-380-39-6237 (M.C.-M.); +33-380-39-6255 (P.A.)

† Co-first authors.

ABSTRACT

Extracted from the fruits of the Moroccan endemic species argan [*Argania spinosa* (L.) Skeels], Virgin Argan Oil (VAO) is known for its richness in polyunsaturated fatty acids and its unique composition in tocopherols conferring to this liquid gold a panoply of pharmacological properties, which have been documented in several studies.

The aim of this study was to investigate the potential protective effect of VAO against oxidative and nitrosative stress induced in cells of the model species *Tetrahymena pyriformis*. As a comparison, well-known Virgin Olive Oil was used instead. Both oils were subjected to a preliminary analysis of phytochemicals and properties of interest.

Oxidative stress in *T. pyriformis* cells was induced by hydrogen peroxide (H₂O₂) at 350µM, whereas sodium nitroprusside (SNP) nitrosative stress was induced using a 1mM concentration. The level of reactive oxygen species (ROS) was evaluated in the cell cultures by using H₂-DCFDA dye. The activity and cell localization of the antioxidant enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) was evaluated as well as the levels of glutathione (GSH) and the malondialdehyde (MDA) generated after lipid peroxidation. Finally, the presence and localization of intracellular lipid droplets was assessed by using Nile red.

The treatment of cultures with H₂O₂ produced significant increases in the activity of CAT, SOD and GPX and in the level of GSH. However, SNP treatment determined a significant decrease in the activity of the antioxidant enzymes. MDA level was increased by both the treatments. VAO and VOO treatment were found to protect *T. pyriformis* from oxidative stress and increased cells defense in nitrosative stress. In another hand VAO and VOO decreased significantly MDA level increased by H₂O₂ treatment and failed after SNP treatment. The quantification of fluorescence signal obtained from immunolocalization of antioxidant enzymes confirmed the results obtained after the evaluation of their activities. Interestingly the level of ROS and the number of lipid droplets increased by H₂O₂ treatment was significantly decreased by VAO and VOO treatments.

VAO today represent a strong antioxidant, we suggest that this oil plays an important role in protecting cells against oxidative stress.

Keywords: *Argania spinosa*, *Skeels (L.)*, *Oxidative stress*, *Nitrosative stress*, *Tetrahymena pyriformis*.

BACKGROUND

The argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] of the family Sapotaceae is an endemic tree mainly located in the south-western region of Morocco, where the argan forest covers about 8000 km² (Charrouf and Guillaume, 2008a). From the fruit of this specie, berber women extract what is one of the world's most expensive vegetable oils. Edible argan oil is a cold-pressed oil prepared from the roasted kernels contained in the argan fruits, whereas unroasted kernels are used to prepare argan oil destined for cosmetics, which is used as moisturizing and to repair various skin conditions, slow down the appearance of wrinkles and prevent hair loss (Boucetta et al., 2014).

Chemical analysis of argan oil revealed a unique composition in terms of mono-unsaturated and polyunsaturated fatty acids. Unsaturated fatty acids are the major component (80%) of argan oil, principally oleic and linoleic acids (44.8% and 33.7%, respectively) (Cherki et al., 2006). Unsaponifiable compounds represent a minor fraction of 1% of total oil constituents only. They comprise tocopherols (α , β , δ , and especially γ -tocopherol), phenols (ferulic, syringic, and vanillic acids), sterols (schottenol and spinasterol), carotenoids, triterpene alcohols, xanthophyls, and squalene (Khallouki et al., 2003a). These compounds are the reason why argan oil is considered an important and powerful antioxidant source (Bakour et al., 2018; Drissi et al., 2004a; Haimeur et al., 2013) and an anti-inflammatory agent (Kamal et al., 2019a; H. Ben Menni et al., 2019). Moreover, argan oil exerts potential actions on risk factors for cardiovascular diseases, such as hyperlipidemia, hypercholesterolemia, and hypertension (Cherki et al., 2006; El Abbassi et al., 2014). In his study, (Ursoniu and Serban, 2017) suggest the efficacy of argan oil supplementation in lowering plasma concentrations of total cholesterol, LDL and triglycerides as well as increasing HDL. Indeed, oleic acid is directly responsible for the reduction of blood pressure, through regulation of membrane lipid structure (Teres et al., 2008).

It is now clear that Reactive Oxygen Species (ROS) and Reactive Nitrogen Species (RNS) contribute to the appearance and/or progression of several human diseases. Oxidative/nitrosative stress can be defined as a disturbance in the pro-oxidant/antioxidant balance in favor of the former, leading to potential damages (Sies, 1997). These damages are not only the result of the elevation of the level of oxidation. They can also result from failure of repair or neutralization systems (Liguori et al., 2018). ROS/RNS are products of normal metabolic processes in all aerobic organisms, with mitochondria as the major responsible for most of the reactive oxygen species via oxidative phosphorylation (Holzerová and Prokisch,

2015). When ROS and RNS are present at certain physiological concentration, they play important roles in cell signaling and maintenance of the functioning of the body. When excessively produced, and because of their high reactivity with multiple macromolecules (proteins, DNA, lipids, sugars...), ROS/RNS may lead to serious damage in the body. Cells responses to oxidative/nitrosative stress range from prevention of cell division, senescence and necrosis, to apoptosis (Tang et al., 2004). According to several studies (Kobayashi et al., 2005; Xu et al., 2019; Zhang et al., 2020), the interactions between RNS and ROS promote the apoptotic process by generating powerful oxidants. To cope with the oxidative and nitrosative stress, cells had to develop defense strategies to maintain the intracellular redox homeostasis; these strategies can be divided to two principal mechanisms: enzymatic and non-enzymatic systems (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018). The enzymatic systems involve superoxide dismutase (SOD, considered as the primary defense of cells against the oxidative injury caused by superoxide) (Younus, 2018), catalase and glutathione peroxidase, which hydrolyze H_2O_2 to H_2O and O_2 . Non-enzymatic defenses include redox-active cellular low-molecular-mass compounds such as glutathione (GSH), flavonoids, carotenoids, thiols and the radical-scavenging vitamins E and C (Elsayed Azab et al., 2019). These antioxidants can be synthesized *in vivo* or taken in from the diet (Kanarek et al., 2020). Thus, several edible oils have demonstrated health-promoting properties due to their antioxidant capacity, which is transferred to humans and animal systems through their intake. Such properties are highly remarkable, and have been widely reported in the virgin olive oil (Covas et al., 2016; Sánchez-Rodríguez et al., 2018, 2019).

In order to investigate the harmful effect of oxidative/nitrosative stress many type of cells and animals have been used as models: mice (Hamilton et al., 2014; Navarro et al., 2021; Yamauchi et al., 2017) rats (Devaraj et al., 2020; Samarghandian et al., 2016) and even humans in clinical studies (Marrocco et al., 2017; Usharani et al., 2019)., Simple biological organisms like the protozoa *T. pyriformis* have been extensively used as model organisms in biomedical research for decades for its many advantages especially its ability to grow on simple media, cost-effective laboratory handling and also short generation time of about 2 hours (Cassidy-Hanley, n.d.) which has made of it a model of choice for *in-vitro* rapid bioassays. The purpose of the present study was to investigate the potential beneficial effects of argan oil on preventing damages caused by oxidative/nitrosative stress induced on *T. pyriformis*. For this purpose, olive virgin oil (VOO) was used in most experiments in a parallel way, as a comparison.

[Tapez ici]

MATERIALS AND METHODS

Preparation of oil extracts

Edible virgin argan oil (VAO) and virgin olive oil (VOO) were provided by associations in south Morocco, who used traditional processes for oils extraction.

The oils were exposed to methanol to separate the polar and non-polar fraction following the method described by (Espín et al., 2000b). For this purpose, mixtures of methanol:oil (1:1) were prepared and vigorously stirred 1 h and then centrifuged at 2500 g for 5 m in order to separate the two phases: the methanolic fraction (MF) and the lipidic fraction (LF). Whole oils (total fraction: TF) were also used in the study to compare the different fractions with the non-fractioned oils.

Determination of total phenolics content (TPC)

The content of phenolic compounds in the different extracts was estimated using the Folin-Ciocalteu method according to (Osorio-Esquivel et al., 2011b). Briefly, 2.5 mL of Folin's reagent (diluted 10 times) was added to 500 µL of the samples corresponding to the MFs, LFs and TOs, and to the standards (prepared in methanol) with suitable dilutions, together with 2 mL of sodium carbonate (7.5%). After 15 minutes of incubation in a water bath at 45°C, the absorbance was measured at 765 nm against a blank without extract. The quantification of total polyphenols was calculated from the regression equation of the calibration range established with gallic acid under the same conditions as the sample. The results were expressed in mg of gallic acid equivalent per gram of dry weight of plant material (mg EAG / g of dry weight).

Determination of total flavonoids content (TFC)

The determination of total flavonoids was carried out by the colorimetric method of aluminum chloride described by (Abbas et al., 2009). The concentration of flavonoids was deduced from a calibration curve established with quercetin; results were expressed as micrograms of quercetin equivalent per gram of dry weight of plant material (mgEQ/g of dry weight).

Determinations of antioxidant capacity

DPPH radical scavenging assay

[Tapez ici]

In order to evaluate the anti-radical activity of the MFs, LFs fractions and TOs, the method of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH•) was used according to the protocol described by (Huang et al., 2011b) Samples (0.3 mL) were mixed with a solution of 0.2 mM DPPH in methanol (2.7 mL). The mixture was shaken vigorously and allowed to stand for 1 h before the absorbance was measured at 517 nm. Radical-scavenging activity was calculated as the following percentage: $[(As-Ai)/As] \times 100$ (As = absorbance of DPPH alone, Ai = absorbance of DPPH in the presence of MFs, LFs or TOs). A calibration curve generated using ascorbic acid was used as the reference.

Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

The ferric reducing ability was determined according to the method described by (Oyaizu, 1986b). FRAP is based on the reduction at low pH of a colorless ferric complex (Fe³⁺-tripyrindyl-triazine) to a blue-colored ferrous complex (Fe²⁺-tripyrindyl-triazine) by the antioxidants. One milliliter of the MFs, LFs or TOs were mixed with 2.5 mL sodium phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) and 2.5 mL of 1% potassium ferricyanide (K₃Fe(CN)₆) solution. The mixture was incubated at 50 °C for 20 m. Then, trichloroacetic acid (10%, 2.5 mL) was added to the mixture. Afterwards, 2.5 mL of this solution was mixed with 2.5 mL distilled water and 0.5 mL of 0.1% FeCl₃, and the absorbance was followed at 700 nm. Ascorbic acid was used in order to generate a calibration curve. Results were expressed as mg ascorbic acid equivalent per gram of dry weight of plant material.

ABTS radical scavenging assay

The ABTS test was measured using the decolorization assay described by (RE, 1999b). This method is based on the ability of antioxidant molecules to quench the stable bisradical cation [2,2' -azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium] ABTS^{•+}. In this study, the ABTS^{•+} solution was prepared by reaction of a 7 mM aqueous ABTS^{•+} solution and 2.45 mM potassium-persulfate solution. After storage in the dark for 16 h, the radical cation solution was further diluted with 5 mM phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) until the initial absorbance value of 0.7 ± 0.05 at 734 nm was reached. Then, 160 µL of ABTS^{•+} solution was added to 40 µL of MFs, LFs fractions or TOs. Absorbance was measured at 734 nm after 10 min and ABTS radical scavenging activity (%) for each concentration relative to a blank absorbance was calculated using the following equation:

[Tapez ici]

$$ABTS (\%) = \frac{A \text{ control} - A \text{ sample}}{A \text{ control}} \times 100$$

Where A control represents the initial concentration of the ABTS^{•+} and A sample is the absorbance of the remaining concentration of ABTS^{•+} in the presence of the sample. Trolox was used as a positive control.

Cell culture

Ciliate *Tetrahymena pyriformis*, wild strain (E, ATCC 30005), was used in this study. *Tetrahymena pyriformis* cells were aseptically cultured at 25 °C in a PPYG medium [1.5% (w/v) peptone, 0.25% (w/v) yeast extract and 0.2% (w/v)] glucose supplemented with penicillin G (100 U/mL) and streptomycin (100 µg/mL) to prevent bacterial growth in the culture medium. Log-phase culture was used for the different experiments. The cells were used in a final concentration of 1×10⁴ cells/mL.

Cell treatments and viability assay

Cells were maintained in a PPYG medium supplemented with a panel of concentrations of H₂O₂ (50, 150, 250, 350, 450 and 550 µM) and sodium nitroprusside (SNP) (0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 and 1.4 mM) in order to determine the 50% inhibitory concentrations (IC₅₀). To evaluate the protective effects of olive and argan oil against hydrogen peroxide- and SNP-induced cytotoxicity, the cultures of *T. pyriformis* cells were supplemented with non-toxic concentrations of each one of the oils dissolved in ethanol 0.15% at different concentrations [0.25, 0.5, 0.75, 1.25 and 1.5% (v/v) oil in ethanol 0.15%]. Cells treated with ethanol only (0.15%) were used as the control. To determine the adequate concentration of ethanol used as the vehicle for oils (0.15%), prior experiments were carried out by adding ethanol at different concentrations (0.1, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2 and 2.4%) to the culture medium, and assessing cell viability. All treatments were maintained for 24h.

In order to assess *T. pyriformis* viability, the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) test was performed according to the protocol described by (Lizard et al., 1997). Cells were incubated with MTT at a final concentration of 0.05 mg/ml for 3 hours at 37 °C. Afterwards, the cell suspension was centrifuged at 4000 g for 5 min, the supernatant was discarded and the formazan crystals in the pellet were dissolved by the addition of 500 µL of DMSO. The optical densities were revealed by spectrophotometry at 540 nm. The

[Tapez ici]

viability of *T. pyriformis* cells was calculated as percentage compared to the control following the formula: % Viability = (OD experiment/OD control) × 100%.

Localization and quantification of cellular ROS by Fluorescence Microscopy (FM).

After 24 hours of treatment, *T. pyriformis* cells were collected by centrifugation at 4000 g for 10 min then incubated with DCFH₂-DA (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate) (Calbiochem) to a final concentration of 10 μM prepared in MES (2- [N-morpholino] ethanesulfonic acid)-KCl buffer (5 μM KCl, 50 μM CaCl₂, 10 mM MES, pH 6.15) for 30min at 37 °C. Cells were subjected to a wash step in fresh buffer for 15 min, stained with Hoechst dye and then imaged in a Nikon Eclipse Ti-U inverted microscope fitted with a CoolLed pI-300^{White} epifluorescence excitation device, by using sequentially the ultraviolet and then the blue ranges of excitation. Negative controls were treated with MES-KCl buffer only. The intensity of the green fluorescence in each cell was quantified by image J software using cells treated as above but omitting the fluorophore as the control. Both average and standard deviation were calculated after measurement of a minimum of three images containing multiple cells, corresponding to three independent experiments.

Detection of intracellular lipid droplets by Nile Red staining

Nile Red is a fluorescent probe used to reveal intracellular neutral lipid accumulation in the form of lipid droplets. After 24h treatment, *T. pyriformis* cells were collected by centrifugation at 4000 g for 10 min, washed twice with PBS to eliminate the culture medium residues, and then fixed with 3% formaldehyde in PBS for 30 min. After three washes with PBS cells were incubated with Nile red dye at a final concentration of 10 μg/ml for 30min at room temperature in the dark (Dürichen et al., 2016b). Afterwards, cells were washed in fresh buffer, stained with Hoechst dye and imaged in a Nikon Eclipse Ti-U inverted microscope fitted with a CoolLed pI-300^{White} epifluorescence excitation device, by using sequentially the ultraviolet and then the green ranges of excitation. The intensity of the green fluorescence in each cell was quantified by image J software using cells treated as above but omitting the fluorophore as the control. Both average and standard deviation were calculated after measurement of a minimum of three images containing multiple cells, corresponding to three independent experiments.

Preparation of cell extracts

[Tapez ici]

T. pyriformis cells were harvested by centrifugation at 4000 g for 10 min at 4 °C, and then washed before been suspended in 1 mL of phosphate buffer (50 mM, pH 7.4). The mixture was homogenized using an ULTRA TURRAX homogenizer (Sigma) for 20 min at 4°C followed by sonication of the sample (80 W, 60s). The homogenate was then centrifuged at 4000 g for 10 min at 4 °C. The supernatant obtained represents the crude protein extract.

Protein assay

The protein content was measured according to the method described by (LOWRY et al., 1951b) using bovine serum albumin as standard.

Total superoxide dismutase (SOD) activity measurement

The activity of SOD was quantified according to the method of (Paoletti et al., 1986). This method involves the inhibition of the photochemical reduction of nitroblue tetrazolium (NBT) in the presence of riboflavin. One unit of SOD activity is defined as the amount of enzyme required to inhibit NBT reduction by 50%. Briefly, 3 mL of the reaction mixture contained 50 mM sodium phosphate (pH 7.8), 13 mM methionine, 75 mM NBT, 2 mM riboflavin, 100 mM EDTA, and 200 μ L of the enzyme extract. The change in absorbance of the sample was then recorded at 560 nm after the production of blue formazan.

Catalase (CAT) activity measurement

Catalase activity was determined by measuring the kinetics of H₂O₂ disappearance at 240 nm according to the method described by (Aebi, 1984). In a 3 mL quartz tank, 0.05 mL of the homogenate was added to 1.95 mL of 50 mM phosphate buffer and 1 mL of H₂O₂ (0.019 M). The optical density was followed at 240 nm. The catalase activity was expressed as μ mol/min/mg of protein.

Glutathione peroxidase (GPX) activity measurement

The activity of glutathione peroxidase (GPX) was determined using the method of (Flohe and Gunzler, 1984b). Briefly, 1 mL of the homogenate, 0.2 mL of phosphate buffer (0.1 M pH 7.4), 0.2 mL of GSH (4 mM) and 0.4 mL of H₂O₂ (5 mM) was incubated at 37°C for 1 min and the reaction stopped by the addition of 0.5 mL TCA (5%, w/v). After centrifugation at 1500g for 5 min, aliquot (0.2 mL) from supernatant was mixed with 0.5 mL of phosphate buffer

[Tapez ici]

(0.1 M pH 7.4) and 0.5 mL DTNB (10 mM) and absorbance recorded at 412 nm. GPx activity was expressed as μmol of GSH consumed/min/mg protein.

Determination of the level of glutathione (GSH)

Glutathione level was evaluated based on the method described by (Ellman, 1959b). The reaction mixture contained 200 μL of TCA (5%) and 400 μL of the protein extract. After centrifugation at 12,000 g for 10 minutes, 50 μL of the supernatant was removed and added to 100 μL of DTNB (6 mM) and to 850 μL phosphate buffer (50 mM, pH 8). The optical density was measured after 5 minutes at 412 nm. Results of glutathione assay were expressed as $\mu\text{mol}/\text{mg}$ of protein.

Lipid peroxidation measurement

Lipid peroxidation was determined by the measurement of malondialdehyde (MDA) generated by the thiobarbituric acid (TBA) reaction as described by (Ohkawa et al., 1979b). For analysis, 0.5 ml of the homogenate was mixed with 0.5 ml of trichloroacetic acid (TCA, 20%) and 1 ml of thiobarbituric acid (TBA, 0.67%), and heated at 100 °C for 15 minutes. After cooling the mixture, 4 ml of n-butanol was added and a centrifugation at 3000 g for 15 minutes was performed. The absorbance of the upper phase containing the pink pigment was read at 532 nm. MDA levels were determined by using an extinction coefficient for MDA– TBA complex of $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, and expressed as $\mu\text{mol}/\text{mg}$ of protein.

FM Immunolocalization of SOD, CAT and GPX

After treatments for 24 hours, cells were collected by centrifugation at 4000 g for 10 min at 4 °C and washed twice with HEPES buffer, then fixed with 4% (w/v) paraformaldehyde and 0.2% (v/v) glutaraldehyde diluted in HEPES buffer before being embedded in Agarose (6%). After that, cells were re-suspended in cacodylate buffer (0.03M, pH 7.2) in ice and washed three times 30 min each. Samples were dehydrated in ethanol series and embedded in Unicryl resin at -20°C using ultraviolet light. Semithin sections were obtained with a Reichert-Jung Ultracut E microtome using a glass knife. Sections were placed on Biobond-coated slides and used for immunolocalization of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX). Cells permeabilization was performed by incubating cells with PBS-Triton X 100 (0.1%), then slides were washed with PBS three times 5 min each. Afterwards slides were incubated with 1% BSA, 22.52 mg/mL glycine in PBST (PBS+ 0.1%

[Tapez ici]

Tween 20) for 30 min to block unspecific binding of the antibodies. Slides were then incubated with one of the following antibodies: rabbit anti-SOD primary antibody (Agrisera) solution (1:1000 dilution in blocking buffer), rabbit anti-CAT primary antibody (Agrisera) solution (1:1000 dilution in blocking buffer), or rabbit anti-GPX primary antibody (Agrisera) solution (1:1500 dilution in blocking buffer) in a humidified chamber for 1 h at room temperature or overnight at 4 °C. The slides were washed three times in PBS for 5 min. The secondary antibody (1:1000 solution of goat anti-rabbit IgG antibody conjugated to DyLight 488) (Agrisera) was added in 1% BSA for 1h at room temperature in the dark and washed three times with PBS for 5 min. The slides were then stained with Hoechst dye and then imaged in a Nikon Eclipse Ti-U inverted microscope fitted with a CoolLed pI-300^{White} epifluorescence excitation device, by sequentially using the ultraviolet and then the blue ranges of excitation. Negative control sections were treated as above but using normal rabbit preimmune serum instead of the different antibodies.

Statistical Analysis

Data were statistically analyzed with GraphPad Prism 8.0 soft-ware (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). They were expressed as mean values \pm standard deviations (SD) from at least three separate experiments and compared with an ANOVA test followed by a Tukey's test, which provide multiple comparisons and allows to assess any interactions. MTT test and data from phytochemical screening tests were compared with a student's *t*-test. A *p*-value less than 0.05 was considered statistically significant.

Results

3.1 Total polyphenols and flavonoids content

Table 1 shows several quantitative data regarding chemical characteristics of the oils analyzed. Significant differences between the MF and LF fractions extracted from VAO and VOO, oils and the non-fractioned oils (TF) were detected. In terms of total polyphenol content, the values ranged from 80.64 ± 1.32 to 28.31 ± 4.6 mg EAG / g of oil). We noticed that MF always displayed the highest value when compared to LF and TF, and this for the two oils, with the MF of VOO showing the highest value, followed by the MF of VAO. Table 1 also show

[Tapez ici]

similar trends for LFs and TFs than with MFs, with the LF and TF of VOO, significantly higher than LF and TF of VAO.

Table 1: Total phenolic and flavonoids content, and antioxidants activities determined by DPPH, FRAP and ABTS of the Methanolic Fraction (MF), Lipidic Fraction (LF) and Total Oil (TO) from Virgin Olive Oil (VOO) and Virgin Argan Oil (VAO). All values are means \pm standard deviations of data from three independent experiments. Means with different asterisks (*) are significantly different according to the student's test compared to VOO.

	Virgin Olive Oil (VOO)			Virgin Argan Oil (VAO)		
	MF	LF	TO	MF	LF	TO
Total						
polyphenols (mg EAG / g of dry weight)	80.64 \pm 1.32	50.73 \pm 1.63	66.72 \pm 1.36	76.20 \pm 2.33	31.10 \pm 1.69 ***	50.85 \pm 1.51 **
Flavonoids (mg EQ/mg of dry weight)	169 \pm 9.24	100.5 \pm 9.78	139.36 \pm 5.63	151.18 \pm 8.53 **	72.72 \pm 8.41	103.48 \pm 4.2 *
DPPH (% of inhibition)	55.35 \pm 1.71	43.76 \pm 1.03	54.43 \pm 0.99	47.27 \pm 0.68 **	39.33 \pm 0.88	42.95 \pm 1.03 **
FRAP (mg EAA/g of the extract)	71.65 \pm 4.33	32.99 \pm 2.36	55.68 \pm 3.76	66.76 \pm 1.61	33.31 \pm 2.76	51.65 \pm 2.58
ABTS (% of inhibition)	49.31 \pm 1.48	32.24 \pm 1.77	50.11 \pm 0.72	39.26 \pm 1.51 *	26.50 \pm 0.82	55.09 \pm 2.24

3.2 Antioxidant activity and free radical scavenging capacity

The antioxidant activity and free radical scavenging capacities of the MF, LF and TF of VOO and CO were evaluated using the DPPH, ABTS and FRAP assay. The results varied from an oil to another and among the fractions in each oil (Table 1).

DPPH• radical scavenging activity

DPPH• radical scavenging activity was quantified in terms of percentage inhibition of a pre-formed free radical by antioxidants in each sample (Table 1). The percentage inhibition of the DPPH• radical by the oils and oils fractions varied from 55.35% \pm 1.71 to 31.67% \pm 0.62. The MF of VOO showed the highest value, followed by TO from the same oil, both inhibiting

[Tapez ici]

the radical over the half. In the next places came the MF and TF of VAO that exhibited values of inhibition significantly lower than the MF and TF of VOO, respectively.

FRAP assay

In order to determine the ferric reducing activity of our samples the FRAP assay was performed. The results (Table1) show a variation between the oils and oil fractions in term of ferric reducing capacities. VAO MF and TF showed ferric reducing activity very close to those of MF and TF of VOO (less than 8 % and 9.5% inferior, respectively). Oppositely, ferric reducing activity of VAO LF was even slightly higher than that of VOO LF (1 % higher).

ABTS•+ radical cation scavenging activity

In ABTS assay the antioxidant activity of the oil fractions was quantified in terms of percentage inhibition of the ABTS•+ radical cations by antioxidants in each sample (Table 1). Within the oils and oils fractions the TF of VAO fraction displayed the highest ABTS•+ scavenging capacity, that reached (55.09%) compared to the TF of VOO. Oppositely, the MF fraction of VAO showed a significant decrease (39.26%) compared to the MF of VOO.

Determination of potential cytotoxic effects of the treatments

In order to determine the potential cytotoxicity of H₂O₂, SNP, ethanol and the two oils (VAO, VOO) on *T. pyriformis*, MTT viability tests were performed after 24h incubation with different concentrations of the components, and the results were expressed as a percentage of the viability displayed by a control culture (untreated) (Figure 1). Viability of *T. pyriformis* cells treated with H₂O₂ produced statistically relevant reductions of viability even at low concentrations like 50 µM. Viability was reduced by 50% when a concentration of 350µM H₂O₂ was used, and reached a minimum of 12.88% at the highest concentration tested (550µM) (Figure 1A).

SNP (Figure 1B) lowered significantly viability starting at a concentration at 0.8 mM. Such reduction reached 50% at 1mM, whilst the highest concentration tested (1.4mM SNP) allowed 14.32% viability only. Ethanol (Figure 1C), although significantly lowered viability at concentrations higher than 1.2% (v/v) (82.87% viability), was used in the present study at much

[Tapez ici]

lower concentrations (0.15%) as a vehicle for oils. At such concentration, viability was not significantly different than untreated controls.

The treatment with the two oils (Figure 1D, E and F) had no pronounced effect on viability even reaching 1% concentration. Nevertheless, VOO stimulated viability at low concentration over the control (112.23%). High viability levels were maintained in the cultures (e.g. 66% in the case of VOO) even with a concentration of 1.5% VOO. These results suggest that VAO and VOO at low concentrations had no toxic effects on *T. pyriformis* cells.

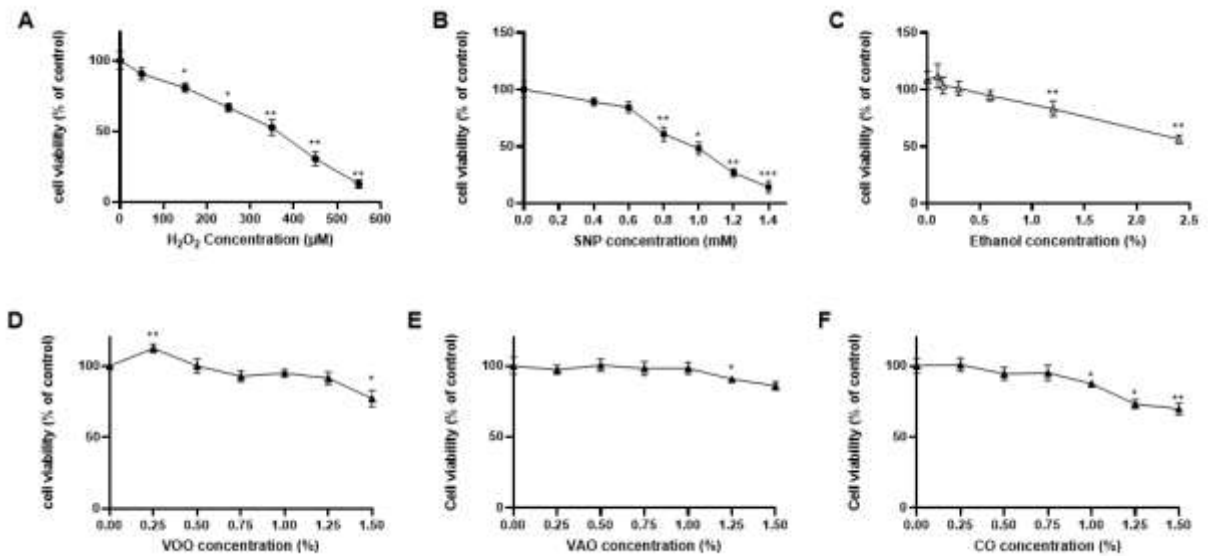


Figure 1: Effect of H₂O₂ (A), SNP (B), ethanol (C), VOO (D) and VAO (E) on *T. pyriformis* viability measured by the MTT test. The values were normalized against the control. The protozoan cells were maintained in PPYG medium supplemented with H₂O₂ [50, 150, 250, 350, 450 and 550 µM], SNP [0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2 and 1.4 mM] oils [0.25, 0.5, 0.75, 1.25 and 1.5 % in ethanol] and ethanol [0.1, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2 and 2.4%] for 24h. Prior to incubation with MTT at 0.05 mg/ml. All values are means ± SD (n= 3). An asterisk indicates values that were significantly different (P ≤0.05) from control group.

Fluorescence detection of ROS by H₂-DCFDA in challenged cultures.

To assess the putative anti-oxidative activity of VAO and VOO, we examined the generation of intracellular ROS by using a H₂-DCFDA staining assay of *T. pyriformis* cells in culture. Treatments used include VOO, VAO and the combined treatment VOO-H₂O₂ and VAO-H₂O₂ (Fig. 2A, C). The presence of green fluorescence revealed the cellular distribution

of ROS in a quantitative manner. ROS were broadly present in most cellular compartments (Fig. 2B). One-way ANOVA multiple comparison Tukey test analysis of FM quantification data showed that the treatment with H_2O_2 (Fig. 2C) significantly increased ROS generation by control cells. Also, the treatment with either VOO or VAO significantly lowered the amounts of ROS generated by the cells in comparison with the control cells, independently of whether H_2O_2 was added to the culture (Fig. 2C). No statistical differences were detected between the effects of VOO or VAO themselves.

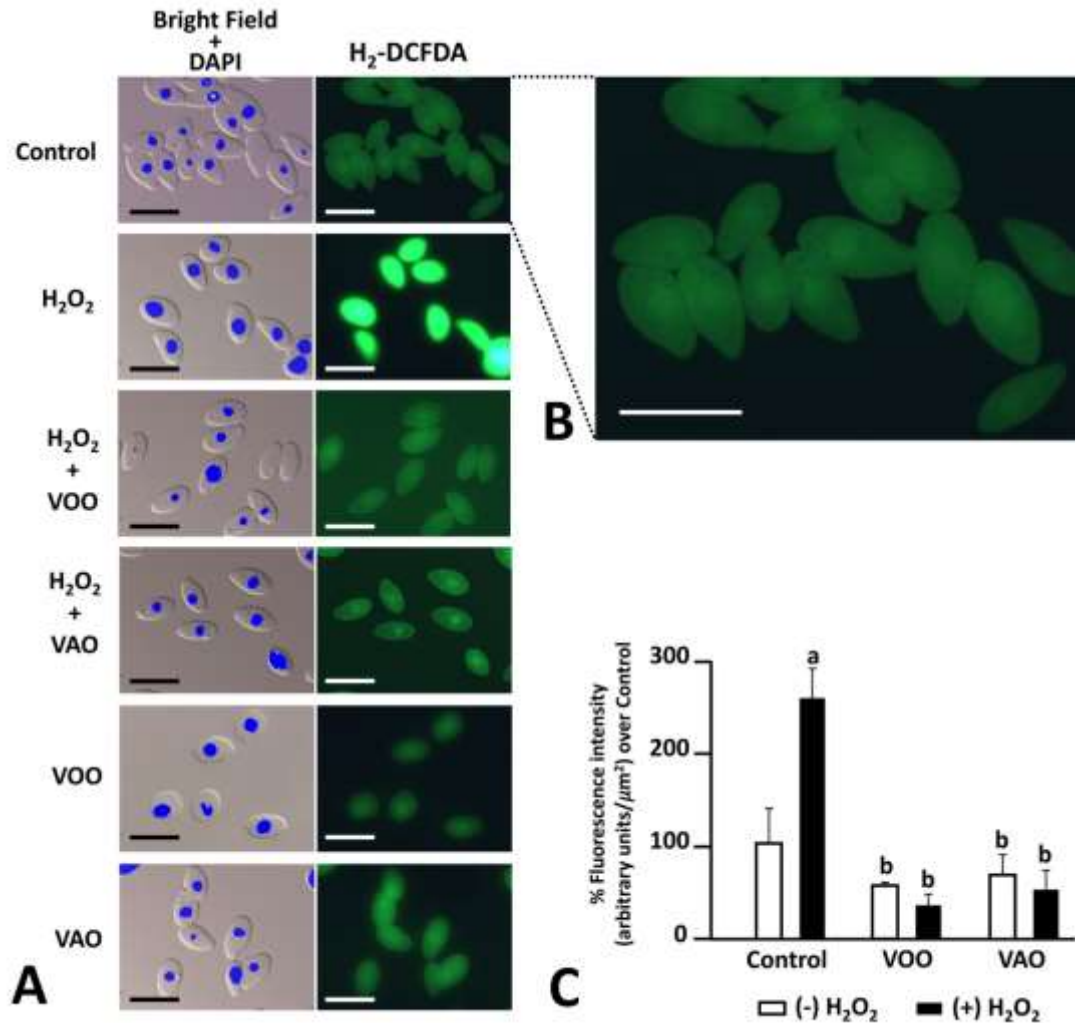


Figure 2. A: FM images of *T. pyriformis* cells exposed to the different treatments, and stained with H_2 -DCFDA ROS staining dye. Left panel in A shows transmitted light images combined with DAPI detection of nuclei, whereas right panel in A shows identical images captured after blue excitation (H_2 -DCFDA). The intensity of the green fluorescent staining differs among the treatments applied (control, H_2O_2 , H_2O_2 + VOO, H_2O_2 + VAO, VOO and VAO). **B:** Large magnification image of the control cells shown in A. Fluorescence is present

[Tapez ici]

in most cell compartments. **C:** Quantification of green fluorescence intensity as percentage of intensity compared to the control culture (100%). Original measurement was performed as arbitrary units/ μ^2 using imageJ software. The values were expressed as mean \pm SD (n = 10). A multiple comparative analysis between the groups was carried out using a one-way ANOVA test followed by a Tukey's test. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant. The statistically significant differences between the groups are indicated by different letters, a: comparison *versus* control, b: comparison *versus* H₂O₂. Scale bars represent 50 μ m.

Effects of oxidative treatments on the presence of lipids and lipid droplets.

Nile red (9-diethylamino-5H-benzo[a]phenoxazine-5-one), has been widely used as a vital stain for the detection of intracellular lipids and lipid droplets/lipid bodies by fluorescence microscopy and flow cytometry. We report here the use of Nile red as a rapid and inexpensive method to estimate cellular lipids of *T. pyriformis* by the direct application of the dye to fixed cells without any extraction or purification.

To assess the potential effects of the different components assayed here on the presence of lipid components in *T. pyriformis* cells in culture, we used Nile red after the oxidative induction treatments, which included the combined treatment VOO-H₂O₂ and VAO-H₂O₂, as well as additional controls consisting of VOO and VAO oils (Fig. 3A). FM observations show both diffuse orange fluorescence in the cytoplasm of *T. pyriformis* cells, as well as abundant discrete signals corresponding to lipid droplets (Fig. 3B). Statistical analysis of fluorescence intensity data showed that the treatment with H₂O₂ significantly increased overall lipid staining in cells treated with H₂O₂ alone, in comparison with the control group (Fig. 3C). When VAO or VOO were added to the culture medium, the intensity of green fluorescence remained, or was restored to levels statistically similar to that of control cultured cells in the absence of H₂O₂, independently of whether the oils were co-incubated or not with H₂O₂. The effect of VAO was even stronger than that of VOO, as fluorescence with VOO in the presence of H₂O₂ did not statistically differ of the control cells treated with H₂O₂ (Fig. 3C).

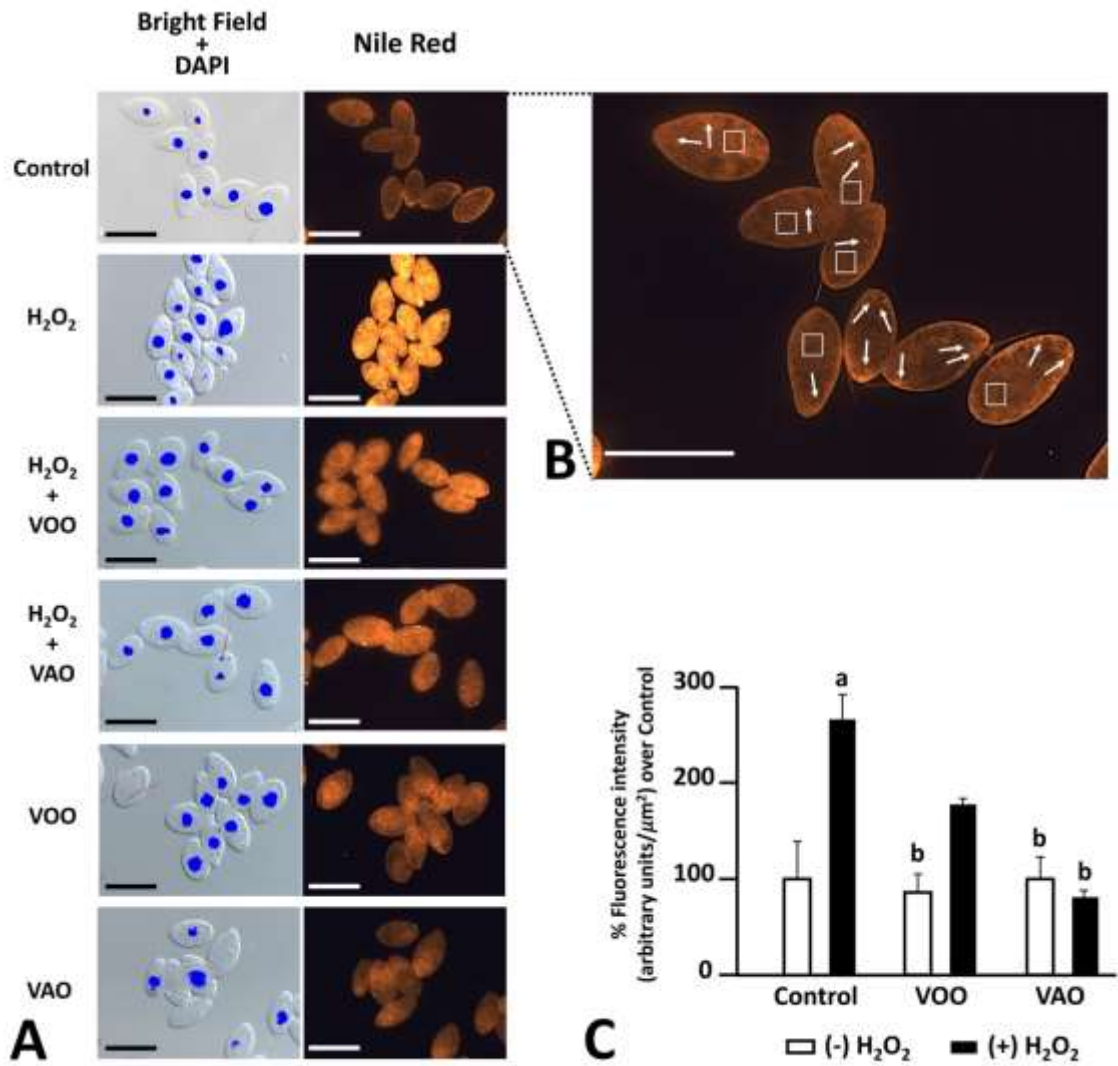


Figure 3. A: FM images of *T. pyriformis* cells exposed to the different oxidative treatments, and stained with Nile red staining dye. Left panel in A shows transmitted light images combined with DAPI detection of nuclei, whereas right panel in A shows identical images captured after green excitation. The intensity of the orange fluorescent staining differs among the treatments applied (control, H₂O₂, H₂O₂ + VOO, H₂O₂ + VAO, VOO and VAO). B: Large magnification image of the control cells shown in A. Fluorescence is present in the form of diffuse orange cytoplasmic staining (squares) together with discrete orange spots likely representing lipid droplets (white arrows). C: Quantification of orange fluorescence intensity as percentage of intensity compared to the control culture (100%). Original measurement was performed as arbitrary units/ μm^2 using imageJ software. The values were expressed as mean \pm SD (n = 10). A multiple comparative analysis between the groups was carried out using a one-way ANOVA test followed by a Tukey's test. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant. The statistically significant differences between the groups are indicated by

[Tapez ici]

different letters, a: comparison *versus* control, b: comparison *versus* H₂O₂, Scale bars represent 50 μm.

Effects of nitrosative treatments on the presence of lipids and lipid droplets.

Nile red was used again to assess the potential effects of nitrosative induction treatments, which included the combined treatment VOO-SNP and VAO-SNP, as well as additional controls consisting of VOO and VAO oils (Fig. 3A). As shown before, FM observations show both diffuse orange fluorescence in the cytoplasm of *T. pyriformis* cells, as well as abundant discrete signals corresponding to lipid droplets (Fig. 4B). Statistical analysis of fluorescence intensity data show that the treatments with SNP, or with VOO or VAO oils either alone or in combination with SNP do not significantly alter overall lipid staining of control cells (Fig. 4C). However, cells treated with VOO and SNP display a significantly higher level of fluorescence than cells treated just with VOO. An analogous relationship was detected after comparing cells treated with VAO in combination SNP and just VAO (Fig. 4C).

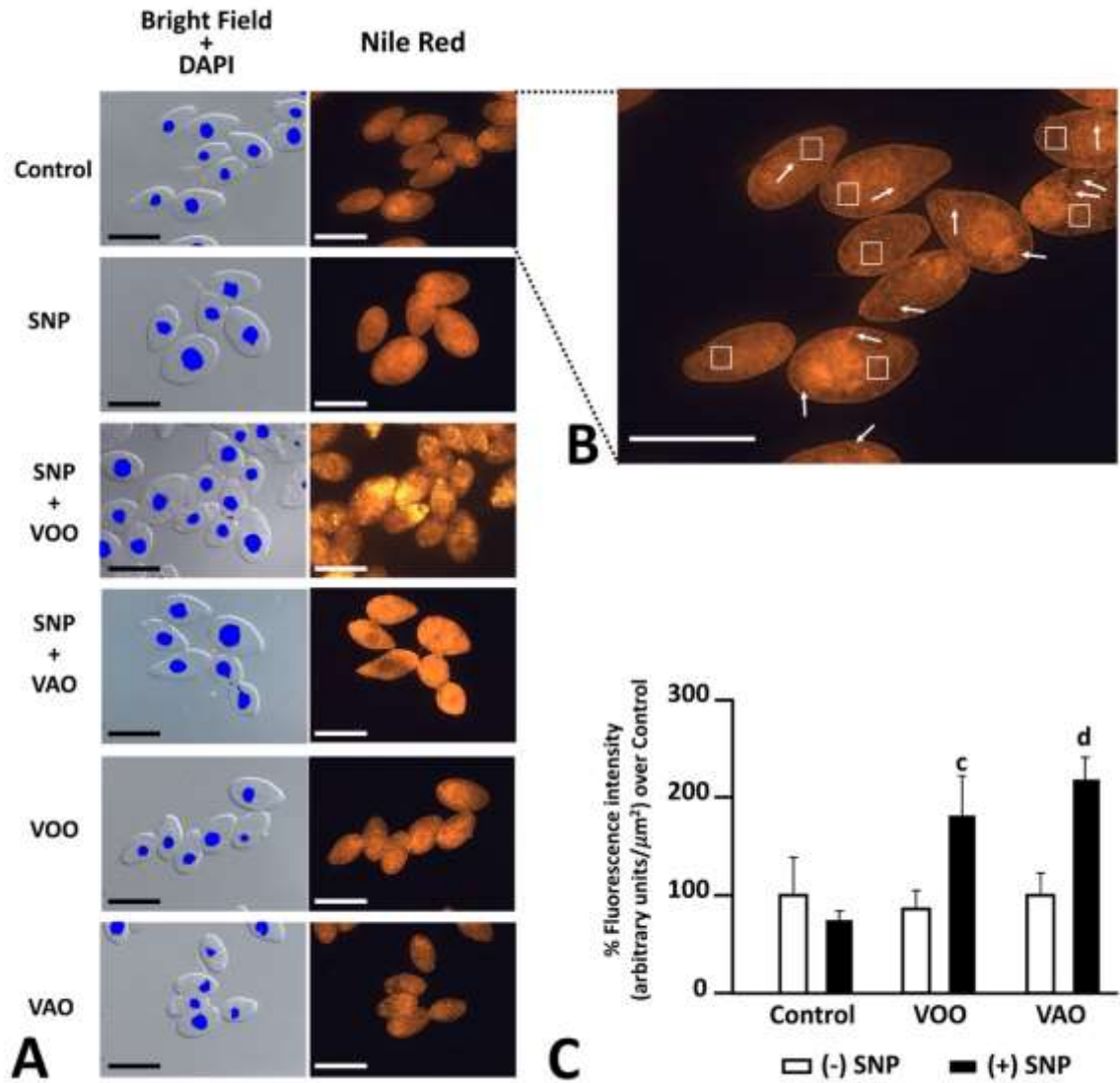


Figure 4. A: FM images of *T. pyriformis* cells exposed to the different nitrosative treatments, and stained with Nile red staining dye. Left panel in A shows transmitted light images combined with DAPI detection of nuclei, whereas right panel in A shows identical images captured after green excitation. The intensity of the orange fluorescent staining differs among the treatments applied (control, SNP, SNP + VOO, SNP + VAO, VOO and VAO). **B:** Large magnification image of the control cells shown in A. Fluorescence is present in the form of diffuse orange cytoplasmic staining (white squares) together with discrete orange spots likely representing lipid droplets (white arrows). **C:** Quantification of orange fluorescence intensity as percentage of intensity compared to the control culture (100%). Original measurement was performed as arbitrary units/ μ^2 using imageJ software. The values were expressed as mean \pm SD (n = 10). A multiple comparative analysis between the groups was carried out using a one-way ANOVA test followed by a Tukey's test. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant. The statistically significant differences between the groups are indicated by

[Tapez ici]

different letters, c: comparison *versus* VOO, d: comparison *versus* VAO. Scale bars represent 50 μm .

Effect of oxidative stress treatment on the activity of key antioxidant enzymes and substrates.

The first line of defense against oxidative stress include different enzymes like superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX), which represent key factors in cell defense strategy against oxidation process, together with antioxidants like glutathione. Also, assessment of oxidation products like malondialdehyde may help to identify the effects of the treatments on the *T. pyriformis* cells.

Figure 5 shows the effects of VOO and VAO on the specific activities of several antioxidant defense enzymes in H_2O_2 -stimulated *T. pyriformis* cells. Treatment with 350 μM of H_2O_2 significantly increased enzyme activities like SOD (1470.35 ± 220.21 vs 3110.82 ± 158.88 IU/mg of proteins $p \leq 0.02$), catalase (1592.29 ± 432.47 vs 669.19 ± 168.35 IU/mg of proteins $p \leq 0.05$), and GPX (56.16 ± 2.59 vs 17.30 ± 0.16 IU/mg of proteins $p \leq 0.002$). GSH content was also significantly increased (56.80 ± 1.95 vs 19.49 ± 0.25 $\mu\text{moles/mg}$ of protein $p \leq 0.001$), as well as the presence of MDA (209.76 ± 8.51 vs 41.88 ± 3.71 $\mu\text{moles/mg}$ of protein $p \leq 0.001$) in control cells treated with H_2O_2 alone compared to untreated control cells. Noteworthy, the treatment of the cells with either VOO or VAO significantly lowered the enhancement of the activity of the enzymes SOD, CAT and GPX and the levels of GSH and MDA caused by H_2O_2 , which became again statistically similar (with the exception of catalase activity), to the basal levels displayed by control cells without the treatment with H_2O_2 . In most cases, the treatment with the oils further diminished the level of antioxidant activity or the presence of GSH or MDA to levels significantly lower than the basal ones present in untreated control cells. Several small differences were detected between VOO and VAO in their capacity of eliciting these effects (Figure 5).

[Tapez ici]

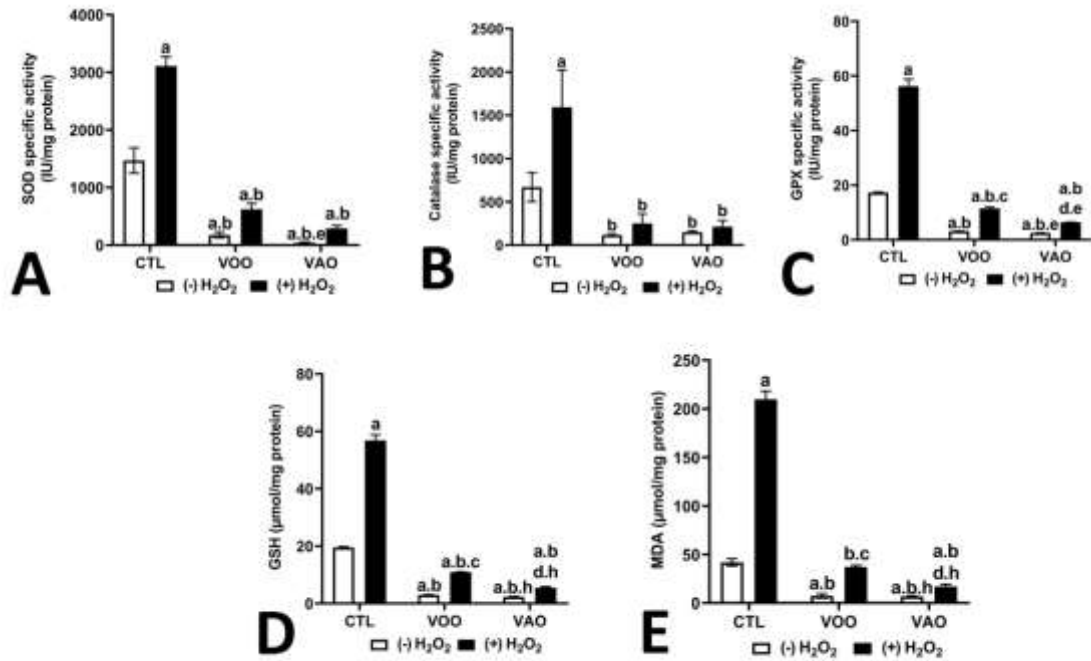


Figure 5. Effect of VOO and VAO on key antioxidant enzymes and metabolites involved in the oxidative stress induced by H₂O₂ treatment of *T. pyriformis* cultures. The activity of SOD (A), CAT (B) and GPX (C) were evaluated, as well as the levels of GSH (D) and MDA (E). *T. pyriformis* cells were maintained in PPYG medium supplemented with VOO and VAO at 5%. H₂O₂ treatment was performed using a concentration of 350 μM for 24 h. All values are means ± SD (n=3). A multiple comparative analysis between the groups was carried out using a one-way ANOVA test followed by a Tukey's test. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant. The statistically significant differences between the groups are indicated by different letters, a: comparison *versus* control, b: comparison *versus* H₂O₂, c: comparison *versus* VOO, d: comparison *versus* VAO, e: comparison *versus* H₂O₂ + VOO, f: comparison *versus* H₂O₂ + VAO, h: comparison *versus* SNP +VOO.

Effect of nitrosative stress treatment on the activity of key antioxidant enzymes and substrates.

Different results were observed when cells were treated with the nitric oxide (NO) donor, sodium nitroprusside (SNP) instead of H₂O₂. The results (Fig. 6) show that SNP induces a decrease in catalase (230,27±33.31 vs 669.191±168.35 IU/mg of protein p≤0.03), SOD (749.94±96.11 vs 1470.35±220.21 IU/mg of protein p≤0.01) and GPX (6.25±0.11 vs 17.30±0.16 IU/mg of protein p≤0.001) activities, as well as in GSH (6.03±0.19 vs 19.49±0.25

[Tapez ici]

$\mu\text{mol/mg}$ of protein $p \leq 0.0006$) and MDA (x versus y) content. The cotreatment SNP-VOO and SNP-VAO increased significantly the level of SOD (332 and 322.51% $p \leq 0.004$) compared to SNP-treated group, whereas oils cotreatments conveyed no significant effect on catalase rate. Finally, the treatment SNP-VOO exhibited a significant increase in GPX level, (205.72% $p \leq 0.03$) compared to SNP-treated group.

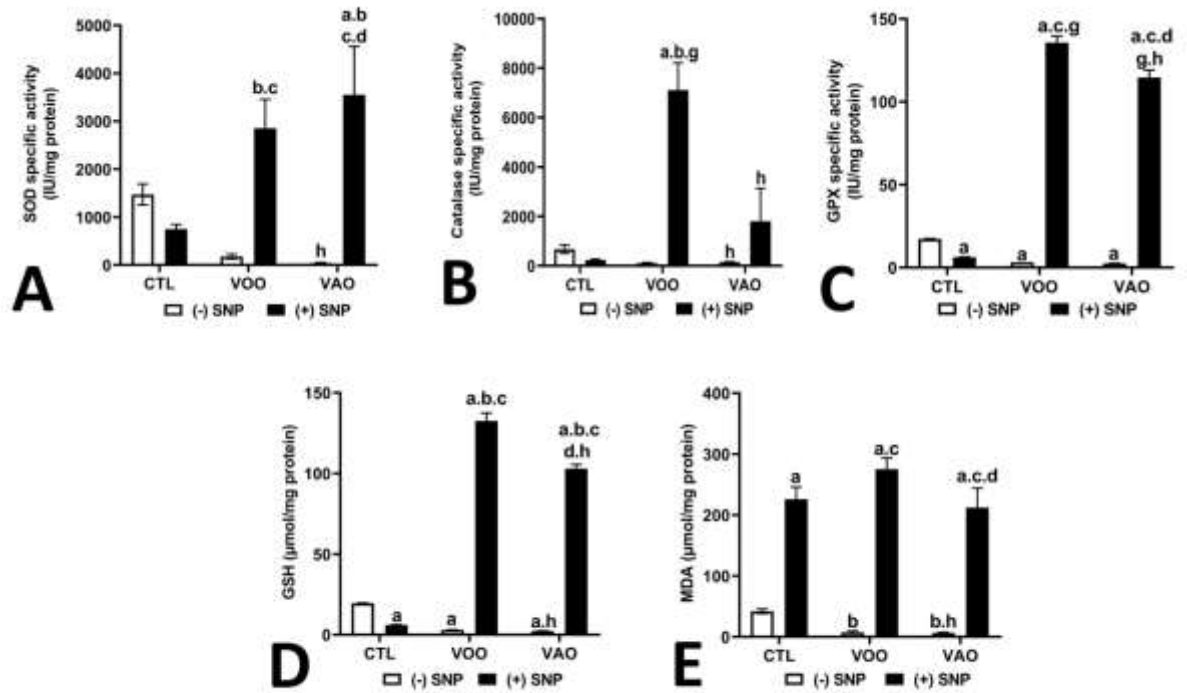


Figure 6. Effect of VOO and VAO on key antioxidant enzymes and metabolites involved in the nitrosative stress induced by SNP treatment of *T. pyriformis* cultures. The activity of SOD (A), CAT (B) and GPX (C) were evaluated, as well as the levels of GSH (D) and MDA (E). *T. pyriformis* cells were maintained in PPYG medium supplemented with VOO and VAO at 5%. SNP treatment was performed using a concentration of 350 μM for 24 h. All values are means \pm SD (n=3). A multiple comparative analysis between the groups was carried out using a one-way ANOVA test followed by a Tukey's test. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant. The statistically significant differences between the groups are indicated by different letters, a: comparison versus control, g: comparison versus SNP, c: comparison versus VOO, d: comparison versus VAO, h: comparison versus SNP + VOO.

Immunocytochemical evidence of the effects of oxidative and nitrosative stress treatments on the presence of key antioxidant enzymes.

In order to determine whether the changes observed in the activity of the three key antioxidant enzymes SOD, CAT and GPX may become a consequence of a divergence in the level or localization of such enzymes, immunolocalization of the three enzymes was performed in the cultures using FM immunofluorescence approaches.

Figure 7 shows the cellular distribution of SOD in *T. pyriformis* cells. The enzyme localizes both as a green fluorescence diffuse signal in the cytoplasm of *T. pyriformis* cells, as well as in the form of discrete spots, which may correspond to mitochondria (Fig. 7A, B).

Conspicuous changes in the level of fluorescence occur concomitantly with the treatments. Thus, cell treatment with H₂O₂ produced a significant increase of the presence of SOD enzyme of 367.27% ($p \leq 0.004$), which becomes restored to a level similar to that of the H₂O₂-untreated cells when H₂O₂ was added to the culture concomitantly with either VOO or VAO (Fig. 7A, C). Treatment with SNP itself did not alter significantly the level of SOD enzyme (Fig. 7A, D); however the joint treatment of SNP with either VOO or VAO significantly enhanced the levels of the immunodetected SOD compared to the control untreated cells, and compared to the cultures treated with the oils (VOO or VAO) individually added to the culture, which did not alter the levels of SOD in comparison with the control untreated cells. (Fig 7A, C-D). Significant difference was detected in the effect of the addition of VAO to the cultures compared with the addition of VOO regarding the levels of immunodetected CAT (Fig. 8D).

Hesse addition to the the results were confirmed by data in (fig.6) which represent signal quantification of antioxidant enzymes Catalase, SOD and GPX immunolocalization in *T.pyriformis*. Results (fig6.A) show a significant increase (215.5% $p \leq 0.03$) in catalase, SOD (fig. 6B) (367.27% $p \leq 0.004$) and GPX (fig6.C) (365.31 $p \leq 0.03$) concentration in cell treated with H₂O₂ compared to the control group. The cotreatment H₂O₂-VAO and H₂O₂-VOO significantly decreased (19.86% and 42.14% $p \leq 0.001$) the level of catalase compared to H₂O₂-treated group. SOD level was decreased by both of the oils but only H₂O₂-VAO cotreatment showed to be significant (19.01% $p \leq 0.02$). In another hand GPX rate was decreased by the cotreatment of both of the oils but remained insignificant. However the treatment with VAO or VOO alones exhibited no significant changes in the enzymes levels only VOO showed to increase significantly (135.28% $P \leq 0.04$).

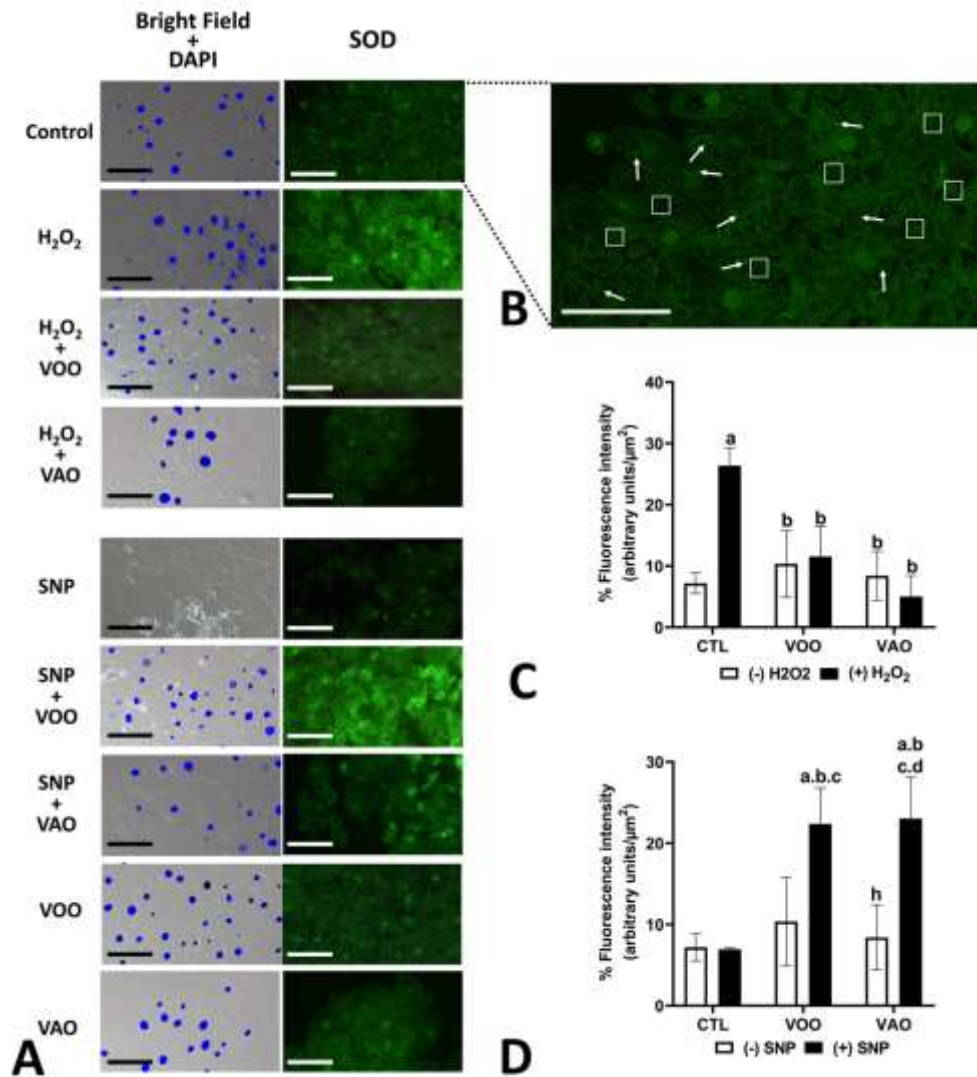


Figure 7. A: Immunofluorescence detection of SOD in *T. pyriformis* cells under different oxidative and nitrosative stress conditions of culture, and in the presence of the VOO and VAO oils. Left panel in A shows transmitted light images combined with DAPI detection of nuclei, whereas right panel in A shows identical images captured after blue excitation. The intensity of the green fluorescent staining differs among the treatments applied (control, H₂O₂, H₂O₂ + VOO, H₂O₂ + VAO, SNP, SNP + VOO, SNP + VAO, VOO and VAO). **B:** Large magnification image of the control cells shown in A. Fluorescence is present in the form of diffuse green cytoplasmic staining (white squares) together with discrete green spots likely representing organelles (white arrows). **C and D:** Quantification of green fluorescence intensity as percentage of intensity compared to the control culture (100%). C refers to oxidative vs control conditions, whereas D refers to nitrosative vs control conditions. Original measurement was performed as arbitrary units/ μm^2 using imageJ software. The values were expressed as mean \pm SD (n = 10). A multiple comparative analysis between the groups was carried out using

[Tapez ici]

a one-way ANOVA test followed by a Tukey's test . A p-value less than 0.05 was considered statistically significant. The statistically significant differences between the groups are indicated by different letters, a: comparison versus control, b: comparison *versus* H₂O₂, c: comparison *versus* VOO, d: comparison *versus* VAO, h: comparison *versus* SNP + VOO. Scale bars represent 50 µm.

The effects of the assayed treatments on the cellular distribution of CAT in *T. pyriformis* cells are shown in Figure 8. The enzyme mainly localizes as discrete spots, which may correspond to peroxisomes as well as in the nuclei (Fig. 8A, B).

The treatments with H₂O₂, SNP and VOO and VAO produced significant changes in the presence of the enzyme in the *T. pyriformis* cells. Similarly to SOD, cell treatment with H₂O₂ produced a significant increase of the presence of CAT enzyme of 215.5% $p \leq 0.03$, which became restored to a level similar to that of the H₂O₂-untreated cells when H₂O₂ was added to the culture concomitantly with either VOO or VAO (Fig. 8A, C). Treatment with SNP itself did not alter significantly the level of SOD enzyme (Fig. 8A, D). In this case, the joint treatment of SNP with either VOO or VAO did not modify the levels of the immunodetected CAT compared to the control untreated cells, as neither did the treatments of the cultures with the oils (VOO or VAO) individually added to the culture. (Fig 8A, C-D). Significant difference was detected in the effect of the addition of VAO to the cultures compared with the addition of VOO regarding the levels of immunodetected CAT (Fig. 8D).

[Tapez ici]

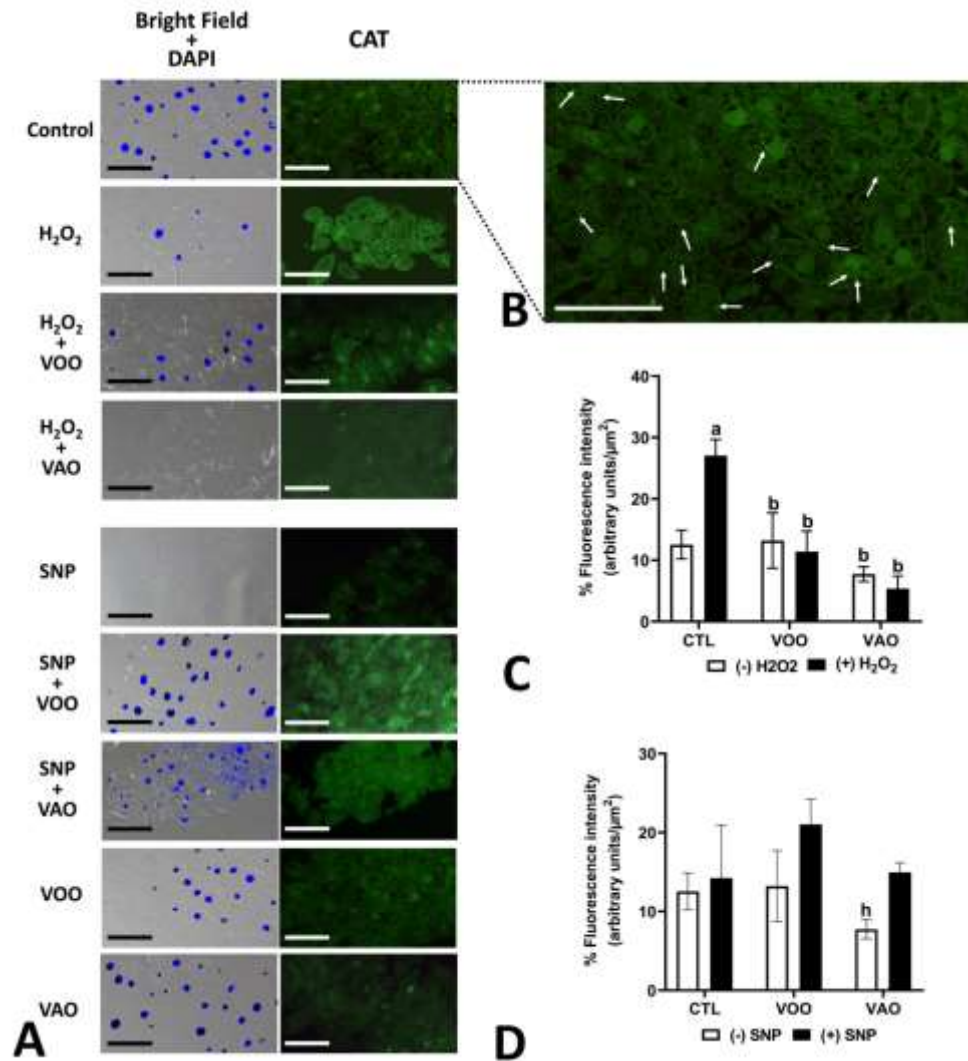


Figure 8. **A:** Immunofluorescence detection of CAT in *T. pyriformis* cells under different oxidative and nitrosative stress conditions of culture, and in the presence of the VOO and VAO oils. Left panel in A shows transmitted light images combined with DAPI detection of nuclei, whereas right panel in A shows identical images captured after blue excitation. The intensity of the green fluorescent staining differs among the treatments applied (control, H₂O₂, H₂O₂ + VOO, H₂O₂ + VAO, SNP, SNP + VOO, SNP + VAO, VOO and VAO). **B:** Large magnification image of the control cells shown in A. Fluorescence is present in the form of discrete green spots likely representing organelles (white arrows). **C and D:** Quantification of green fluorescence intensity as percentage of intensity compared to the control culture (100%). C refers to oxidative vs control conditions, whereas D refers to nitrosative vs control conditions. Original measurement was performed as arbitrary units/ μm^2 using imageJ software. The values were expressed as mean \pm SD (n = 10). A multiple comparative analysis between the groups was carried out using a one-way ANOVA test followed by a Tukey's test. A p-value less than 0.05

[Tapez ici]

was considered statistically significant. The statistically significant differences between the groups are indicated by different letters, a: comparison *versus* control, b: comparison *versus* H₂O₂, h: comparison *versus* SNP + VOO. Scale bars represent 50 µm.

Figure 9 displays the effects of the assayed treatments on the cellular distribution of GPX in *T. pyriformis*. As showed in (Fig. 9A, B), the enzyme mainly localizes as discrete spots, which may correspond to mitochondria as well as in the nuclei.

Several of the treatments assayed produced significant changes in the presence of the GPX enzyme in the *T. pyriformis* cells. Cell treatment with H₂O₂ produced a significant increase of the presence of GPX enzyme of 365.31 p≤0.03, which became restored to a level similar to that of the H₂O₂-untreated cells when H₂O₂ was added to the culture concomitantly with VOO (Fig. 9A, C). Such restoration, although visible was not statistically significant for H₂O₂ when cultured concomitantly with VAO (Fig. 9A, C). Treatment with SNP itself did not alter significantly the level of GPX enzyme (Fig. 9A, D). In this case, the joint treatment of SNP with VOO did modify the levels of the immunodetected GPX compared to the control untreated cells, but this effect was not observed with the joint treatment of SNP with VAO. Our observations also detected that VAO treatment

as neither did the treatments of the cultures with the oils (VOO or VAO) individually added to the culture. (Fig 8A, C-D). Significant difference was detected in the effect of the addition of VAO to the cultures compared with the addition of VOO regarding the levels of immunodetected CAT (Fig. 8D).

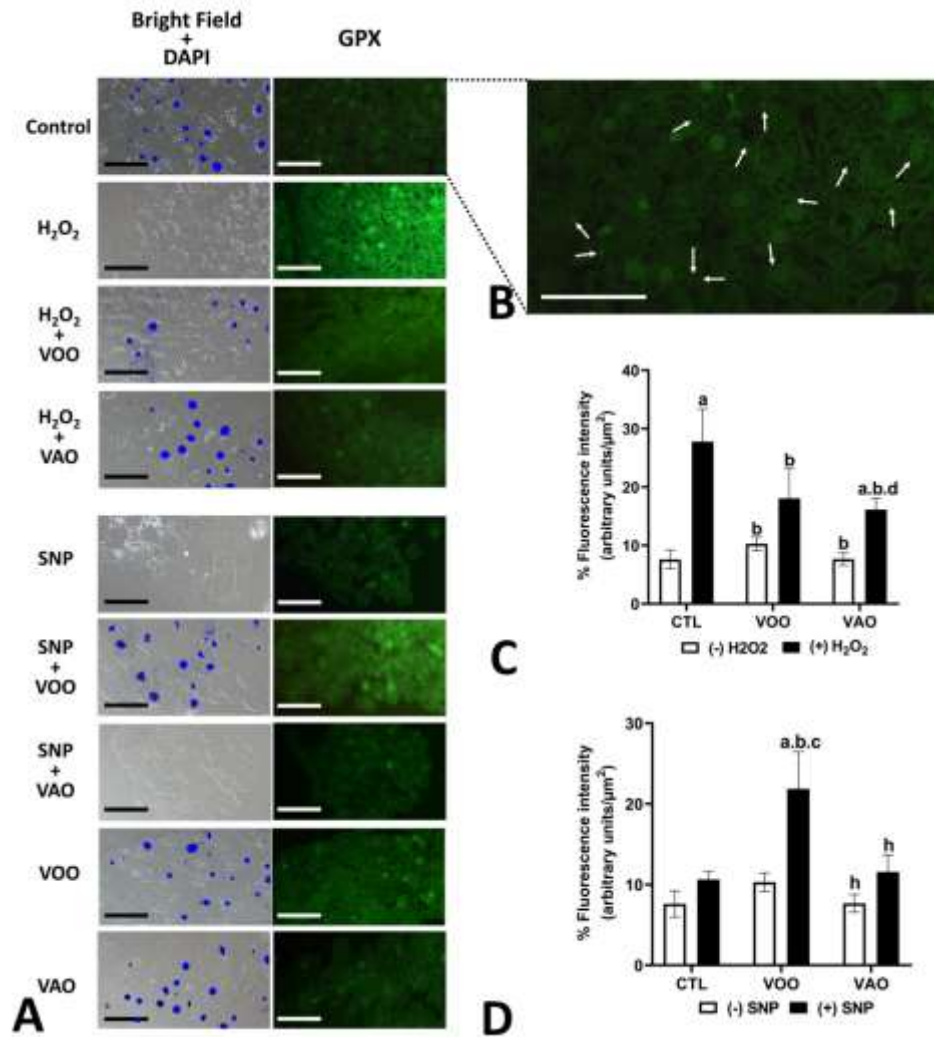


Figure 9. A: Immunofluorescence detection of CAT in *T. pyriformis* cells under different oxidative and nitrosative stress conditions of culture, and in the presence of the VOO and VAO oils. Left panel in A shows transmitted light images combined with DAPI detection of nuclei, whereas right panel in A shows identical images captured after blue excitation. The intensity of the green fluorescent staining differs among the treatments applied (control, H₂O₂, H₂O₂ + VOO, H₂O₂ + VAO, SNP, SNP + VOO, SNP + VAO, VOO and VAO). **B:** Large magnification image of the control cells shown in A. Fluorescence is present in the form of diffuse green cytoplasmic staining (white squares) together with discrete green spots likely representing organelles (white arrows). **C and D:** Quantification of green fluorescence intensity as percentage of intensity compared to the control culture (100%). C refers to oxidative vs control conditions, whereas D refers to nitrosative vs control conditions. Original measurement was performed as arbitrary units/ μ^2 using imageJ software. The values were expressed as mean \pm SD (n = 10). A multiple comparative analysis between the groups was carried out using a one-way ANOVA test followed by a Tukey's test. A p-value less than 0.05 was considered

[Tapez ici]

statistically significant. The statistically significant differences between the groups are indicated by different letters, a: comparison *versus* control, b: comparison *versus* H₂O₂, c: comparison *versus* VOO, d: comparison *versus* VAO, h: comparison *versus* SNP + VOO, i: comparison *versus* SNP + VAO. Scale bars represent 50 μ m.

DISCUSSION

Overall, our data are in good agreement with those present in the literature available. Thus, phenolic total amount of olive oil varies from 100 to 1000 mg/Kg oil (Houshia et al., 2014; Nenadis et al., 2019). They are also consistent with those observations made by (Marfil et al., 2011a), regarding virgin argan oil, which presents lower polyphenol content than virgin olive oil but a higher content than other edible vegetable oils. In the flavonoids amount determination assay (Table 1), differences in the amount of these compounds were detected between the methanolic fractions of VOO, which were significantly higher than those of VAO and TF. This profile was similar in the case of flavonoids present in the TF fractions of the three oils. However, such differences were less relevant in the flavonoids present in the LF fractions, which were higher in VOO than in VAO and TF, but were only statistically significant in the later. Phenolic total amount and flavonoids composition of oils varies depending on cultivars, place of origin, extraction methods and storage conditions (Saffar et al., 2019).

Compared with (Marfil et al., 2011a), our results fall well within the range of 0.19 and 0.87 mmol Trolox/kg described in such study as regards to DPPH anti radical scavenging capacity for argan virgin oils. Concerning CO, (Szydłowska-Czerniak and Łaszewska, 2015) found that DPPH scavenging activity in this oil ranges between 126 and 586 mmol Trolox Equivalent/ 100 g. FRAP is basically a hydrophilic antioxidant assay that does not respond well to lipophilic antioxidants (Çelik et al., 2010), therefore explaining the results obtained with the LF fractions of the oils. Enhanced radical scavenging effect of VAO observed here can be explained by its high total tocopherol content that ranges from 427.0 mg/kg to 654.0 mg/kg (Cayuela et al., 2008a; Khallouki et al., 2003a). Tocopherols are strong radical scavengers. In addition, CO exhibited a significantly lower antioxidant capacity than VOO, with values as low as 10.8% (MF), 13.1% (LF) and 10.90% (TF), respectively. H₂O₂ is detected itself by the fluorochrome, and also promotes generation of other ROS which causes oxidative stress and cytotoxicity and may lead to cell death (Ahamed et al., 2020a; Coyle et al., 2006a; Ghosh et

[Tapez ici]

al., 2010a; Ryter et al., 2007a). When VAO or VOO were added individually to the culture medium in co-treatment with H₂O₂, the resulting patterns of fluorescence became restored to levels not differing from those displayed by control cells (non-treated with H₂O₂). Also, the cells individually treated with the oils featured statistically similar levels of fluorescence than the control cells. The antioxidant capacity of both oils used was significant, although slightly enhanced in the case of VOO compared to VAO (Figure 2C)

The ROS scavenging effect observed here after concomitant treatment with VOO and VAO likely reflects the effects of the presence of antioxidant components in both oils. Thus, olive oil contains..... Referred to VAO, to argan oil unique composition and properties especially its richness in minor compounds such as tocopherols, sterols (schottenol and spinasterol), phenols (ferulic, syringic and vanillic acid) and vitamin E which all have a scavenger properties (A. El Midaoui et al., 2017; Orabi et al., 2020a; Şekeroğlu et al., 2017a). Moreover, there is a large number of studies providing evidence that the radical scavenging activity VOO is strictly correlated with its polyphenol content (Haman et al., 2017a; Paradiso et al., 2020b; Quintero-Flórez et al., 2018a; Rossi et al., 2017a)

Lipid droplets consist of a core of neutral lipid, including triacylglycerol and cholesteryl ester, surrounded by a phospholipid monolayer (Listenberger and Brown, 2007a). We report here the use of Nile red as a rapid and inexpensive method to estimate cellular lipids of *T. pyriformis* by the direct application of the dye to fixed cells without any extraction or purification. Qualitative estimates of Oxidative stress trigger intracellular lipid droplets accumulation (Cruz et al., 2020a; Lee et al., 2015a, 2013a). Lipid droplets may serve as energy reservoirs, sources of lipid for membrane biosynthesis, or storage sites for potentially toxic lipid species (Petan et al., 2018a). However in the combined treatment SNP-VAO [fig.3(C.i)] or SNP-VOO [fig.3(C.n)] cells exhibit numerous small discrete bodies distributed throughout the cytoplasm, knowing that Nile red interacts with neutral lipids cholesterol, cholesteryl esters and triacylglycerols, phospholipids, lipoproteins and hydrophobic regions of proteins (Braasch et al., 2013). We can explain the results obtained here by the fact that Nile red interacted with TAG contained in VAO and VOO. H₂O₂ is an agent known for its capacity to induce oxidative stress in *T.Pyriformis* and many other cell model (Guenauou et al., 2021; Salla et al., 2015a; Zhang et al., 2018; Zwiewka et al., 2019a). The elevation of the activity of antioxidant enzymes may be observed here as a sign of the existence of strong oxidative stress process that cells try to contest by the increase in CAT, SOD and GPX activities. The results found are in accordance with (Grina et al., 2020a). Interestingly this effect was significantly and completely reversed by

[Tapez ici]

co-treatment with VAO and VOO. They played an important role in enhancing cells ability to cope with the oxidative stress induced by H_2O_2 . Their effect was reflected here by the significant decrease of the activity and level of the different enzymes and GSH rate in co-treated groups. The treatment with oils only showed to slightly decrease the activity of these enzymes and the rate of GSH. VAO and VOO capacities in monitoring CAT, SOD and GPX activities under oxidative stress was widely demonstrated by many studies (Ayd, 2017; Er et al., 2020; Ilavarasi et al., 2011; Szymonik-Lesiuk et al., 2003). On the other hand, the co-treatment with colza oil had no effect on the H_2O_2 -induced increase in CAT, SOD and GPX activities nor GSH elevated rate.

NO is a free radical indispensable for cell signaling (Rio et al., 2006) when produced at high concentrations can be reduced or oxidized and thereby leads to nitrosative stress. SNP had been used by many authors to induce nitrosative stress in different cell models (Chen et al., 2013, 2010; Rogstam et al., 2007). Nitrosative stress induce a decrease in antioxidant enzymes (Arsova-sarafinovska et al., 2009; Sultan et al., 2007). However, the combined treatment between VAO and SNP or VOO and SNP exhibited a significant increase in Catalase, SOD and GPX activities and GSH rate compared to SNP-treated group. The protective effect of VAO and VOO was expressed here by inducing a significant increase in antioxidant enzymes activities and GSH rate, many other studies highlighted the effect of VAO and VOO translated into increase of catalase, SOD and GPX in response to oxidative/nitrosative stress (Berná et al., 2014; Nakbi et al., 2010; Rachida et al., 2013a).

Funding: This research was funded by research projects BFU-2016-77243-P and PID2020-113324GB-100 of the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (MICIIN)/ State Research Agency (AGE) and research projects P18-RT-1577, CA8313, AT17_5247 y PYC20 RE 009 CSIC. EEZ of the Junta de Andalucía. These projects are partially co-funded by the European Regional Development Fund (ERDF)/European Union (EU).

Acknowledgments: The authors would like to acknowledge the support of the Confocal and Transmission Electron Microscopy (CTEM) facility of the EEZ-CSIC.

[Tapez ici]

REFERENCES

Abbas, B., Dehpour, A., Ebrahimzadeh, A., 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition 60, 405–412.

Abdelhamid, A., Ph, K., Arafa, M.M., n.d. ORIGINAL Propolis derivatives inhibit the systemic inflammatory response and protect hepatic and neuronal cells in acute septic shock. *Braz. J. Infect. Dis.* 15, 332–338. [https://doi.org/10.1016/S1413-8670\(11\)70201-X](https://doi.org/10.1016/S1413-8670(11)70201-X)

Abdel-Salam, O.M.E., Youness, E.R., Mohammed, N.A., Morsy, S.M.Y., Omara, E.A., Sleem, A.A., 2014. Citric acid effects on brain and liver oxidative stress in lipopolysaccharide-treated mice. *J. Med. Food* 17, 588–598. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0065>

Abe, Y., Honsho, M., Nakanishi, H., Taguchi, R., Fujiki, Y., 2014. Very-long-chain polyunsaturated fatty acids accumulate in phosphatidylcholine of fibroblasts from patients with Zellweger syndrome and acyl-CoA oxidase1 deficiency. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1841, 610–619. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.01.001>

Adlouni, A., Christon, R., Cherki, M., Khalil, A., ElMessal, M., 2008. THE NUTRITIONAL BENEFITS OF ARGAN OIL IN OBESITY RISK PREVENTION. *Atheroscler. Suppl. - ATHEROSCLER SUPPL* 9, 137–138. [https://doi.org/10.1016/S1567-5688\(08\)70554-3](https://doi.org/10.1016/S1567-5688(08)70554-3)

Adlouni, P.A., 2020. Intérêt de l'huile d'Argan dans la prévention des maladies cardiovasculaires 12–16.

Aebi, H., 1984. [13] catalase 105, 121–126.

Agrawal, G., Subramani, S., 2016. De novo peroxisome biogenesis: Evolving concepts and conundrums. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1863, 892–901. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.09.014>

Ahamed, M., Akhtar, M.J., Alaizeri, Z.A.M., Alhadlaq, H.A., 2020a. TiO₂ nanoparticles potentiated the cytotoxicity, oxidative stress and apoptosis response of cadmium in two different human cells. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 10425–10435. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07130-6>

Ahamed, M., Akhtar, M.J., Alaizeri, Z.A.M., Alhadlaq, H.A., 2020b. TiO₂ nanoparticles potentiated the cytotoxicity, oxidative stress and apoptosis response of cadmium in two different human cells. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 10425–10435. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07130-6>

[Tapez ici]

Al-amin, M., Choudhury, F.R., Chowdhury, A.S., 2018. Pretreatment With Risperidone Ameliorates Systemic LPS-Induced Oxidative Stress in the Cortex and Hippocampus 12, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00384>

Al-Rikabi, R., Al-Shmgani, H., Dewir, Y.H., El-Hendawy, S., 2020. In Vivo and In Vitro Evaluation of the Protective Effects of Hesperidin in Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Cytotoxicity of Cell. *Molecules* 25, 478. <https://doi.org/10.3390/molecules25030478>

Amarowicz, R., B. Pegg, R., 2017. The Potential Protective Effects of Phenolic Compounds against Low-density Lipoprotein Oxidation. *Curr. Pharm. Des.* 23, 2754–2766. <https://doi.org/10.2174/1381612823666170329142936>

Ammari, M., Othman, H., Hajri, A., Sakly, M., Abdelmelek, H., 2018. Pistacia lentiscus oil attenuates memory dysfunction and decreases levels of biomarkers of oxidative stress induced by lipopolysaccharide in rats. *Brain Res. Bull.* 140, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.04.014>

Ana, P., Cabo, M., Lanly, C., 2018. Ibn al-Baytār et ses apports à la botanique et à la pharmacologie dans le Kitāb al-Ġāmī 23–39.

Andersen, J., 2004. Oxidative stress in neurodegeneration: Cause or consequence? *Nat. Med.* 10 Suppl, S18-25. <https://doi.org/10.1038/nrn1434>

Annane, P.D., Bellissant, P.E., Cavaillon, J.M., 2005a. Septic shock. *Lancet* 365, 63–78. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17667-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17667-8)

Annane, P.D., Bellissant, P.E., Cavaillon, J.M., 2005b. Septic shock. *Lancet* 365, 63–78. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17667-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17667-8)

Arisawa, M., Kinghorn, A.D., Cordell, G.A., Phoebe, C.H., Farnsworth, N.R., 1985. Plant Anticancer Agents XXXVI. Schottenol Glucoside from *Baccharis coridifolia* and *Ipomopsis aggregata*. *Planta Med.* 51, 544–545. <https://doi.org/10.1055/s-2007-969601>

Arsova-sarafinovska, Z., Eken, A., Matevska, N., Erdem, O., Sayal, A., Sikole, A., Suturkova, L., Dimovski, A.J., Aydin, A., 2009. Increased oxidative / nitrosative stress and decreased antioxidant enzyme activities in prostate cancer 42, 1228–1235. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.05.009>

Aubourg, P., 2007. Adrénoleucodystrophie liée à l'X☆☆ Cet article est publié en partenariat avec Orphanet et disponible sur le site www.orpha.net. © 2007 Orphanet. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés. *Ann. Endocrinol.* 68, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2007.04.002>

Ayd, B., 2017. ScienceDirect Effects of argan oil on the mitochondrial function , antioxidant system and the activity of NADPH- generating enzymes in acrylamide treated rat brain 87, 476–481. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.124>

[Tapez ici]

Baarine, M., Ragot, K., Genin, E.C., El Hajj, H., Trompier, D., Andreoletti, P., Ghandour, M.S., Menetrier, F., Cherkaoui-Malki, M., Savary, S., Lizard, G., 2009. Peroxisomal and mitochondrial status of two murine oligodendrocytic cell lines (158N, 158JP): Potential models for the study of peroxisomal disorders associated with dysmyelination processes. *J. Neurochem.* 111, 119–131. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06311.x>

Babić Leko, M., Nikolac Perković, M., Klepac, N., Štrac, D.Š., Borovečki, F., Pivac, N., Hof, P.R., Šimić, G., 2020. IL-1 β , IL-6, IL-10, and TNF α Single Nucleotide Polymorphisms in Human Influence the Susceptibility to Alzheimer's Disease Pathology. *J. Alzheimers Dis.* 75, 1029–1047. <https://doi.org/10.3233/JAD-200056>

Badreddine, A., Karym, E.M., Zarrouk, A., Nury, T., El Kharrassi, Y., Nasser, B., Cherkaoui Malki, M., Lizard, G., Samadi, M., 2015. An expeditious synthesis of spinasterol and schottenol, two phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, and evaluation of their biological activities on cells of the central nervous system. *Steroids* 99, 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.01.005>

Badreddine, A., Zarrouk, A., Karym, E.M., Debbabi, M., Nury, T., Meddeb, W., Sghaier, R., Bezine, M., Vejux, A., Martine, L., Grégoire, S., Bretillon, L., Prost-Camus, E., Durand, P., Prost, M., Moreau, T., Cherkaoui-Malki, M., Nasser, B., Lizard, G., 2017. Argan oil-mediated attenuation of organelle dysfunction, oxidative stress and cell death induced by 7-ketocholesterol in murine oligodendrocytes 158N. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 1–31. <https://doi.org/10.3390/ijms18102220>

Bakour, M., Soulo, N., Hammas, N., Fatemi, H.E.L., Aboulghazi, A., Taroq, A., Abdellaoui, A., Al-waili, N., 2018. The Antioxidant Content and Protective Effect of Argan Oil and *Syzygium aromaticum* Essential Oil in Hydrogen Peroxide-Induced Biochemical and Histological Changes. <https://doi.org/10.3390/ijms19020610>

Balkan, J., Parıldar, F.H., Dog, S., n.d. The effect of taurine or betaine pretreatment on hepatotoxicity and prooxidant status induced by lipopolysaccharide treatment in the liver of rats , in *Aykac* 917–921.

Baranova, I., Vishnyakova, T., Bocharov, A., Chen, Z., Remaley, A.T., Stonik, J., Eggerman, T.L., Patterson, A.P., 2002. Lipopolysaccharide down regulates both scavenger receptor B1 and ATP binding cassette transporter A1 in RAW cells. *Infect. Immun.* 70, 2995–3003. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.6.2995-3003.2002>

Baskar, A.A., Al Numair, K.S., Gabriel Paulraj, M., Alsaif, M.A., Muamar, M.A., Ignacimuthu, S., 2012. β -Sitosterol Prevents Lipid Peroxidation and Improves Antioxidant Status and Histoarchitecture in Rats with 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Colon Cancer. *J. Med. Food* 15, 335–343. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.1780>

[Tapez ici]

Batista, C.R.A., Gomes, G.F., Candelario-Jalil, E., Fiebich, B.L., de Oliveira, A.C.P., 2019. Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation as a Bridge to Understand Neurodegeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 2293. <https://doi.org/10.3390/ijms20092293>

Baud, O., Greene, A.E., Li, J., Wang, H., Volpe, J.J., Rosenberg, P.A., 2004. Glutathione Peroxidase-Catalase Cooperativity Is Required for Resistance to Hydrogen Peroxide by Mature Rat Oligodendrocytes. *J. Neurosci.* 24, 1531–1540. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3989-03.2004>

Baudin, B., 2020a. Stress oxydant et protections antioxydantes. *Rev. Francoph. Lab.* 2020, 22–30. [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(20\)30159-3](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(20)30159-3)

Baudin, B., 2020b. Stress oxydant et protections antioxydantes. *Rev. Francoph. Lab.* 2020, 22–30. [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(20\)30159-3](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(20)30159-3)

Baumer M. & ZeraïA, 1999. LA PLUS CONTINENTALE DES STATIONS DE L' ARGANIER.

Beaudeau, J.L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., Peynet, J., 2006. Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-Anal. Biol. Spec.* 21, 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2006.02.001>

Beavers, K.M., Beavers, D.P., Newman, J.J., Anderson, A.M., Loeser, R.F., Nicklas, B.J., Lyles, M.F., Miller, G.D., Mihalko, S.L., Messier, S.P., 2015. Effects of total and regional fat loss on plasma CRP and IL-6 in overweight and obese, older adults with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 23, 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.11.005>

Belarbi, K., Jopson, T., Tweedie, D., Arellano, C., Luo, W., Greig, N.H., Rosi, S., 2012. TNF- α protein synthesis inhibitor restores neuronal function and reverses cognitive deficits induced by chronic neuroinflammation. *J. Neuroinflammation* 9, 23. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-23>

Bellahcen, S., Hakkou, Z., Ziyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Aziz, M., Bnouham, M., 2013. Antidiabetic and antihypertensive effect of Virgin Argan Oil in model of neonatal streptozotocin-induced diabetic and l-nitroarginine methylester (l-NAME) hypertensive rats. *J. Complement. Integr. Med.* 10, 1–8. <https://doi.org/10.1515/jcim-2013-0008>

Bellahcen, S., Mekhfi, H., Ziyat, A., Legssyer, A., Hakkou, A., Aziz, M., Bnouham, M., 2012. Prevention of chemically induced diabetes mellitus in experimental animals by virgin argan oil. *Phytother. Res.* 26, 180–185. <https://doi.org/10.1002/ptr.3524>

Bennani, H., 2007. Quel impact de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate? *Technol. Lab.* 6, 8–10.

[Tapez ici]

Bennani, H., Drissi, A., Giton, F., Kheuang, L., Fiet, J., Adlouni, A., 2007. Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. *Cancer Detect. Prev.* 31, 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.cdp.2006.09.006>

Benzaria, A., Meskini, N., Dubois, M., Croset, M., Némoz, G., Lagarde, M., Prigent, A.F., 2006. Effect of dietary argan oil on fatty acid composition, proliferation, and phospholipase D activity of rat thymocytes. *Nutrition* 22, 628–637. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2006.03.001>

Berger, A., Jones, P.J., Abumweis, S.S., 2004. Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids Health Dis.* 3, 5. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-3-5>

Berger, J., Forss-Petter, S., Eichler, F.S., 2014. Pathophysiology of X-linked adrenoleukodystrophy. *Biochimie* 98, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.11.023>

Berná, G., Jurado-ruiz, E., Serrana, H.L. De, Martín, F., 2014. Consumption of extra-virgin olive oil rich in phenolic compounds has beneficial antioxidant effects in healthy human adults. *J. Funct. Foods* 10, 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.013>

Berrougui, H., Cloutier, M., Isabelle, M., Khalil, A., 2006. Phenolic-extract from argan oil (*Argania spinosa* L.) inhibits human low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis* 184, 389–396. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.05.018>

Berrougui, H., Ettaib, A., Herrera Gonzalez, M.D., Alvarez De Sotomayor, M., Bennani-Kabchi, N., Hmamouchi, M., 2003a. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in Meriones shawi rats. *J. Ethnopharmacol.* 89, 15–18. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00176-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00176-4)

Berrougui, H., Ettaib, A., Herrera Gonzalez, M.D., Alvarez De Sotomayor, M., Bennani-Kabchi, N., Hmamouchi, M., 2003b. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in Meriones shawi rats. *J. Ethnopharmacol.* 89, 15–18. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00176-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00176-4)

Beyer, W.F., Fridovich, I., 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem.* 161, 559–566. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90489-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1)

Bharrhan, S., Chopra, K., Rishi, P., 2010. Vitamin E Supplementation Modulates Endotoxin-induced Liver Damage in a Rat Model. *Am. J. Biomed. Sci.* 51–62. <https://doi.org/10.5099/aj100100051>

Blais, V., Rivest, S., 2003. Rôle de la réponse immunitaire innée dans le cerveau. *médecine/sciences* 19, 981–987. <https://doi.org/10.1051/medsci/20031910981>

[Tapez ici]

Bnouham, M., Bellahcen, S., Benalla, W., Legssyer, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., 2008. Antidiabetic activity assessment of *Argania spinosa* oil. *J. Complement. Integr. Med.* 5. <https://doi.org/10.2202/1553-3840.1180>

Bottelbergs, A., Verheijden, S., Hulshagen, L., Gutmann, D.H., Goebbels, S., Nave, K.-A., Kassmann, C., Baes, M., 2010. Axonal integrity in the absence of functional peroxisomes from projection neurons and astrocytes. *Glia* 58, 1532–1543. <https://doi.org/10.1002/glia.21027>

Boucetta, K.Q., Charrouf, Z., Derouiche, A., Rahali, Y., Bensouda, Y., 2014. Original paper Skin hydration in postmenopausal women : argan oil benefit with oral and / or topical use 13, 280–288. <https://doi.org/10.5114/pm.2014.46470>

Bourre, J.M., 2004. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during ageing. *J. Nutr. Health Aging* 8, 163–174.

Braasch, K., De, M., Deppe, J., Spindler, X., Cantu, A.A., Maynard, P., Lennard, C., Roux, C., 2013. Nile red : Alternative to physical developer for the detection of latent fingerprints on wet porous surfaces ? *§. Forensic Sci. Int.* 230, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.03.041>

Bradford, P.G., Awad, A.B., 2007. Phytosterols as anticancer compounds. *Mol. Nutr. Food Res.* 51, 161–170. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600164>

Braverman, N.E., D'Agostino, M.D., Maclean, G.E., 2013. Peroxisome biogenesis disorders: Biological, clinical and pathophysiological perspectives. *Dev. Disabil. Res. Rev.* 17, 187–196. <https://doi.org/10.1002/ddrr.1113>

Braverman, N.E., Raymond, G.V., Rizzo, W.B., Moser, A.B., Wilkinson, M.E., Stone, E.M., Steinberg, S.J., Wangler, M.F., Rush, E.T., Hacia, J.G., Bose, M., 2016. Peroxisome biogenesis disorders in the Zellweger spectrum: An overview of current diagnosis, clinical manifestations, and treatment guidelines. *Mol. Genet. Metab.* 117, 313–321. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2015.12.009>

Brealey, D., Karyampudi, S., Jacques, T.S., Novelli, M., Stidwill, R., Taylor, V., Smolenski, R.T., Singer, M., 2004. Mitochondrial dysfunction in a long-term rodent model of sepsis and organ failure. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 286, 491–497. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00432.2003>

Brocard, C., Es-Souni, M., Ramirez, L.C., Latruffe, N., Bournot, P., 1993. Stimulation of peroxisomal palmitoyl-CoA oxidase activity by ciprofibrate in hepatic cell lines: comparative studies in Fao, MH1C1 and HepG2 cells. *Biol. Cell* 77, 37–41. [https://doi.org/10.1016/s0248-4900\(05\)80172-8](https://doi.org/10.1016/s0248-4900(05)80172-8)

Butovsky, O., Landa, G., Kunis, G., Ziv, Y., Avidan, H., Greenberg, N., Schwartz, A., Smirnov, I., Pollack, A., Jung, S., Schwartz, M., 2006. Induction and blockage of oligodendrogenesis by differently

[Tapez ici]

activated microglia in an animal model of multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.* 116, 905–915.
<https://doi.org/10.1172/JCI26836>

Calder, P.C., Bosco, N., Bourdet-Sicard, R., Capuron, L., Delzenne, N., Doré, J., Franceschi, C., Lehtinen, M.J., Recker, T., Salvioli, S., Visioli, F., 2017. Health relevance of the modification of low grade inflammation in ageing (inflammageing) and the role of nutrition. *Ageing Res. Rev.* 40, 95–119.
<https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.09.001>

Cassidy-hanley, D.M., 2013. *Tetrahymena in the Laboratory: Strain Resources, Methods for Culture, Maintenance, and Storage.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385967-9.00008-6>.Tetrahymena

Cassidy-Hanley, D.M., n.d. *Tetrahymena in the Laboratory: Strain Resources, Methods for Culture, Maintenance, and Storage.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385967-9.00008-6>

Cayuela, J.A., Rada, M., Pérez-camino, M.C., Benaissa, M., Abdelaziz, E., Guinda, Á., 2008a. Characterization of artisanally and semiautomatically extracted argan oils from Morocco 1159–1166.
<https://doi.org/10.1002/ejlt.200800146>

Cayuela, J.A., Rada, M., Pérez-camino, M.C., Benaissa, M., Abdelaziz, E., Guinda, Á., 2008b. Characterization of artisanally and semiautomatically extracted argan oils from Morocco 1159–1166.
<https://doi.org/10.1002/ejlt.200800146>

Çelik, S.E., Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R., 2010. Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods. *Talanta* 81, 1300–1309. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.02.025>

Cenini, G., Lloret, A., Cascella, R., 2019. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From a Mitochondrial Point of View. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, e2105607.
<https://doi.org/10.1155/2019/2105607>

Charrouf, Z., Collin, G., Garneau, F., 1999. Valorisation des produits de l'arganier pour une gestion durable des zones arides du sud-ouest marocain. pp. 195–209.

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2008a. Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 632–636. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700220>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2008b. Argan oil, functional food, and the sustainable development of the argan forest. *Nat. Prod. Commun.* 3, 283–288. <https://doi.org/10.1177/1934578x0800300237>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2008c. Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 632–636. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700220>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2007. HUILE D'ARGAN UNE PRODUCTION DEVENUE ADULTE.

[Tapez ici]

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2002. Secondary metabolites from *Argania spinosa* (L.) skeels. *Phytochem. Rev.* 1, 345–354. <https://doi.org/10.1023/A:1026030100167>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 1999. Ethnoeconomical , ethnomedical , and phytochemical study of *Argania spinosa* (L .) Skeels 67, 7–14.

Chatterjee, S., Noack, H., Possel, H., Wolf, G., 2000. Induction of nitric oxide synthesis lowers intracellular glutathione in microglia of primary glial cultures. *Glia* 29, 98–101.

Chen, R., Tai, Y., Chen, T., Lin, T., 2013. Propofol protects against nitrosative stress-induced apoptotic insults to cerebrovascular endothelial cells via an intrinsic mitochondrial mechanism. *Surgery* 154, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2013.02.003>

Chen, T., Wu, G., Hsu, C., Fong, T., Chen, R., 2010. Chemico-Biological Interactions Nitrosative stress induces osteoblast apoptosis through downregulating MAPK-mediated NF κ B / AP-1 activation and subsequent Bcl-X L expression. *Chem. Biol. Interact.* 184, 359–365. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.040>

Chen, Y.-C., Wu, J.-S., Tsai, H.-D., Huang, C.-Y., Chen, J.-J., Sun, G.Y., Lin, T.-N., 2012. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR- γ) and Neurodegenerative Disorders. *Mol. Neurobiol.* 46, 114–124. <https://doi.org/10.1007/s12035-012-8259-8>

Cherkaoui-malki, M., Meyer, K., Cao, W., Latruffe, N., Yeldandi, A.V., Rao, M.S., Bradfield, C.A., Reddy, J.K., 2018. Identification of Novel Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α) Target Genes in Mouse Liver Using cDNA Microarray Analysis 9, 291–304.

Cherkaoui-Malki, M., Surapureddi, S., I. El Hajj, H., Vamecq, J., Andreoletti, P., 2012. Hepatic Steatosis and Peroxisomal Fatty Acid Beta-oxidation. *Curr. Drug Metab.* 13, 1412–1421. <https://doi.org/10.2174/138920012803762765>

Cherki, M., Berrougui, H., Drissi, A., Adlouni, A., Khalil, A., 2006. Argan oil : Which benefits on cardiovascular diseases ? Argan oil : Which benefits on cardiovascular diseases ? <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2006.02.004>

Cherki, M., Derouiche, A., Drissi, A., El, M., Bamou, Y., Idrissi-ouadghiri, A., Khalil, A., Adlouni, A., Msik, B., 2005. Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status : Intervention study in healthy men. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2004.08.005>

Christen, Y., 2018. Christen2000 71.

Chung, H., Wangler, M.F., Marcogliese, P.C., Jo, J., Ravenscroft, T.A., Zuo, Z., Duraine, L., Sadeghzadeh, S., Li-Kroeger, D., Schmidt, R.E., Pestronk, A., Rosenfeld, J.A., Burrage, L., Herndon, M.J., Chen,

[Tapez ici]

S., Shillington, A., Vawter-Lee, M., Hopkin, R., Rodriguez-Smith, J., Henrickson, M., Lee, B., Moser, A.B., Jones, R.O., Watkins, P., Yoo, T., Mar, S., Choi, M., Bucelli, R.C., Yamamoto, S., Lee, H.K., Prada, C.E., Chae, J.-H., Vogel, T.P., Bellen, H.J., 2020. Loss- or Gain-of-Function Mutations in ACOX1 Cause Axonal Loss via Different Mechanisms. *Neuron* 106, 589-606.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.02.021>

Clarke, C.E., Alger, S., Preece, M.A., Burdon, M.A., Chavda, S., Denis, S., Ferdinandusse, S., Wanders, R.J.A., 2004. Tremor and deep white matter changes in alpha-methylacyl-CoA racemase deficiency. *Neurology* 63, 188-189. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000132841.81250.b7>

Clayton, P.T., 2001. Clinical consequences of defects in peroxisomal beta-oxidation. *Biochem. Soc. Trans.* 29, 298-305. <https://doi.org/10.1042/0300-5127:0290298>

Comhair, S.A.A., Erzurum, S.C., 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am. J. Physiol. - Lung Cell. Mol. Physiol.* 283, 246-255. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00491.2001>

Contreras, A.V., Torres, N., Tovar, A.R., 2013. PPAR- α as a Key Nutritional and Environmental Sensor for Metabolic Adaptation. *Adv. Nutr.* 4, 439-452. <https://doi.org/10.3945/an.113.003798>

Coyle, C.H., Martinez, L.J., Coleman, M.C., B, D.R.S., Weintraub, N.L., Kader, K.N., 2006a. Mechanisms of H₂O₂-induced oxidative stress in endothelial cells.

Coyle, C.H., Martinez, L.J., Coleman, M.C., B, D.R.S., Weintraub, N.L., Kader, K.N., 2006b. Mechanisms of H₂O₂-induced oxidative stress in endothelial cells.

Crane, D.I., 2014. Revisiting the neuropathogenesis of Zellweger syndrome. *Neurochem. Int.* 69, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.02.007>

Cruz, A.L.S., Barreto, E.D.A., Bozza, P.T., 2020a. Lipid droplets : platforms with multiple functions in cancer hallmarks. *Cell Death Dis.* <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2297-3>

Cruz, A.L.S., Barreto, E.D.A., Bozza, P.T., 2020b. Lipid droplets : platforms with multiple functions in cancer hallmarks. *Cell Death Dis.* <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2297-3>

Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L., 2003. Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Med. Veterinaire* 147, 315-324.

Dalia, Q., Abdelsalam, R.M., Attia, A.S., Abdel-aziz, M.T., 2015. Pharmacological Reports Pretreatment with magnesium ameliorates lipopolysaccharide- induced liver injury in mice. *Pharmacol. Rep.* 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.02.004>

D'amico, A., Bertini, E., 2013. Metabolic neuropathies and myopathies, in: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, pp. 1437-1455. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59565-2.00013-7>

[Tapez ici]

De Duve, C., Baudhuin, P., 1966. Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiol. Rev.* 46, 323–357. <https://doi.org/10.1152/physrev.1966.46.2.323>

Dean, R.T., Giese, S., Davies, M., 1993. Reactive species and their accumulation on radical-damaged proteins 437–441.

Dehpour, A., 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition 60, 405–412.

Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J.P.E., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A., 2013. Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid. Redox Signal.* 18, 1818–1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>

Demnati, D., Sánchez, S., Pacheco, R., Zahar, M., Martínez, L., 2011. Comparative study of argan and olive fruits and oils 7.

Derouiche, A., Cherki, M., Drissi, A., Bamou, Y., El Messal, M., Idrissi-Oudghiri, A., Lecerf, J.M., Adlouni, A., 2005. Nutritional intervention study with argan oil in man: Effects on lipids and apolipoproteins. *Ann. Nutr. Metab.* 49, 196–201. <https://doi.org/10.1159/000087072>

Devaraj, E., Roy, A., Veeraragavan, G.R., Magesh, A., 2020. β -Sitosterol attenuates carbon tetrachloride – induced oxidative stress and chronic liver injury in rats 1067–1075.

Diggle, C.P., 2002. In vitro studies on the relationship between polyunsaturated fatty acids and cancer: Tumour or tissue specific effects? *Prog. Lipid Res.* 41, 240–253. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(01\)00025-X](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(01)00025-X)

Doğanyığıt, Z., Küp, F.Ö., Silici, S., Deniz, K., Yakan, B., Atayoglu, T., 2013. Protective effects of propolis on female rats' histopathological, biochemical and genotoxic changes during LPS induced endotoxemia. *Phytomedicine* 20, 632–639. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.01.010>

Dopp, J.M., Sarafian, T.A., Spinella, F.M., Kahn, M.A., Shau, H., de Vellis, J., 2002. Expression of the p75 TNF receptor is linked to TNF-induced NF κ B translocation and oxyradical neutralization in glial cells. *Neurochem. Res.* 27, 1535–1542. <https://doi.org/10.1023/a:1021608724117>

Doria, M., Maugest, L., Moreau, T., Lizard, G., Vejux, A., 2016. Contribution of cholesterol and oxysterols to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Free Radic. Biol. Med.* 101, 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.008>

Douillard, C., 2011. Adrénoleucodystrophie liée à l'X et atteintes endocriniennes. *Corresp. En Métabolismes Horm. Diabètes Nutr.* 3.

[Tapez ici]

Drissi, A., Bennani, H., Giton, F., Charrouf, Z., Fiet, J., Adlouni, A., 2006. Tocopherols and saponins derived from *Argania spinosa* exert, an antiproliferative effect on human prostate cancer. *Cancer Invest.* 24, 588–592. <https://doi.org/10.1080/07357900600894815>

Drissi, A., Girona, J., Cherki, M., Godàs, G., Derouiche, A., El Messal, M., Saile, R., Kettani, A., Solà, R., Masana, L., Adlouni, A., 2004a. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin. Nutr.* 23, 1159–1166. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.03.003>

Drissi, A., Girona, J., Cherki, M., Godàs, G., Derouiche, A., El Messal, M., Saile, R., Kettani, A., Solà, R., Masana, L., Adlouni, A., 2004b. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin. Nutr.* 23, 1159–1166. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.03.003>

Dürichen, H., Siegmund, L., Burmester, A., Fischer, M.S., Wöstemeyer, J., 2016a. Ingestion and digestion studies in *Tetrahymena pyriformis* based on chemically modified microparticles. *Eur. J. Protistol.* 52, 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2015.11.004>

Dürichen, H., Siegmund, L., Burmester, A., Fischer, M.S., Wöstemeyer, J., 2016b. Ingestion and digestion studies in *Tetrahymena pyriformis* based on chemically modified microparticles. *Eur. J. Protistol.* 52, 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2015.11.004>

Eckert, G.P., Franke, C., Nöldner, M., Rau, O., Wurglics, M., Schubert-Zsilavecz, M., Müller, W.E., 2010. Plant derived omega-3-fatty acids protect mitochondrial function in the brain. *Pharmacol. Res.* 61, 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.01.005>

El Abbassi, A., Khalid, N., Zbakh, H., Ahmad, A., 2014. Physicochemical Characteristics, Nutritional Properties, and Health Benefits of Argan Oil: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 1401–1414. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.638424>

El Hajj, H.I., Vluggens, A., Andreoletti, P., Ragot, K., Mandard, S., Kersten, S., Waterham, H.R., Lizard, G., Wanders, R.J.A., Reddy, J.K., Cherkaoui-Malki, M., 2012. The inflammatory response in acyl-CoA oxidase 1 deficiency (pseudoneonatal adrenoleukodystrophy). *Endocrinology* 153, 2568–2575. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1137>

El Kamouni, S., El Kebbjaj, R., Andreoletti, P., El Ktaibi, A., Rharrassi, I., Essamadi, A., El Kebbjaj, M.S., Mandard, S., Latruffe, N., Vamecq, J., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2017a. Protective effect of argan and olive oils against Ips-induced oxidative stress and inflammation in mice livers. *Int. J. Mol. Sci.* 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18102181>

El Kamouni, S., El Kebbjaj, R., Andreoletti, P., El Ktaibi, A., Rharrassi, I., Essamadi, A., El Kebbjaj, M.S., Mandard, S., Latruffe, N., Vamecq, J., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2017b. Protective effect of argan and

[Tapez ici]

olive oils against lps-induced oxidative stress and inflammation in mice livers. *Int. J. Mol. Sci.* 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18102181>

El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Hajj, H.I., El Kharrassi, Y., Vamecq, J., Mandard, S., Saih, F.E., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2015. Argan oil prevents down-regulation induced by endotoxin on liver fatty acid oxidation and gluconeogenesis and on peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α , (PGC-1 α), peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) and estrogen r. *Biochim. Open* 1, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.biopen.2015.10.002>

El Kharrassi, Y., Samadi, M., Lopez, T., Nury, T., El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Hajj, H.I., Vamecq, J., Moustaid, K., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., Masson, D., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2014a. Biological activities of Schottenol and Spinasterol, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, on murine microglial BV2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446, 798–804. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.074>

El Kharrassi, Y., Samadi, M., Lopez, T., Nury, T., El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Hajj, H.I., Vamecq, J., Moustaid, K., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., Masson, D., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2014b. Biological activities of Schottenol and Spinasterol, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, on murine microglial BV2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446, 798–804. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.074>

El Kharrassi, Y., Samadi, M., Lopez, T., Nury, T., El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Hajj, H.I., Vamecq, J., Moustaid, K., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., Masson, D., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2014c. Biological activities of Schottenol and Spinasterol, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, on murine microglial BV2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun., Oxysterols* 446, 798–804. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.074>

EL MOUSADIK, A., PETIT, and R.J., 1996. Chloroplast DNA phylogeography of the argan tree of Morocco 547–555.

Eljaoudi, R., Elkabbaj, D., Bahadi, A., Ibrahimi, A., Benyahia, M., Errasfa, M., 2015. Consumption of argan oil improves anti-oxidant and lipid status in hemodialysis patients. *Phytother. Res.* 29, 1595–1599. <https://doi.org/10.1002/ptr.5405>

Ellman, G.L., 1959a. Tissue Sulfhydryl Groups 70–77.

Ellman, G.L., 1959b. Tissue Sulfhydryl Groups 70–77.

Elmostafi, H., Bahbiti, Y., Elhessni, A., Bousalham, R., Doumar, H., Ouichou, A., Benmhammed, H., Touil, T., Mesfioui, A., 2020. Neuroprotective potential of Argan oil in neuropsychiatric disorders in rats : A review. *J. Funct. Foods* 75, 104233. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104233>

[Tapez ici]

Elsayed Azab, A., A Adwas, Almokhtar, Ibrahim Elsayed, A.S., A Adwas, A., Ibrahim Elsayed, Ata Sedik, Quwaydir, F.A., 2019. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J. Appl. Biotechnol. Bioeng.* 6, 43–47. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>

Emberger, L., 1960. *Traité de Botanique vasculaires, Cryptogamie ; Tome II, fasc. I et II*, par L. Emberger 125–127.

Emonard, H., Marcq, V., Mirand, C., Hornebeck, W., 1999. Inhibition of gelatinase A by oleic acid. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 878, 647–649. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb07751.x>

Er, R., Aydın, B., Şekeroğlu, V., Atlı Şekeroğlu, Z., 2020. Protective effect of Argan oil on mitochondrial function and oxidative stress against acrylamide-induced liver and kidney injury in rats. *Biomarkers* 25, 458–467. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2020.1797877>

Espín, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.J., 2000a. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agric. Food Chem.* 48, 648–656. <https://doi.org/10.1021/jf9908188>

Espín, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.J., 2000b. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agric. Food Chem.* 48, 648–656. <https://doi.org/10.1021/jf9908188>

Essadek, S., Bouchab, H., El Kebbjaj, R., Gondcaille, C., El Kamouni, S., Savary, S., Vamecq, J., Essamadi, A., Cherkaoui-Malki, M., Nasser, B., Andreoletti, P., 2022. Effects of a Short-Term Lipopolysaccharides Challenge on Mouse Brain and Liver Peroxisomal Antioxidant and β -oxidative Functions: Protective Action of Argan Oil. *Pharm. Basel Switz.* 15, 465. <https://doi.org/10.3390/ph15040465>

Fabelo, N., Martín, V., Santpere, G., Marín, R., Torrent, L., Ferrer, I., Díaz, M., 2011. Severe alterations in lipid composition of frontal cortex lipid rafts from Parkinson's disease and incidental Parkinson's disease. *Mol. Med. Camb. Mass* 17, 1107–1118. <https://doi.org/10.2119/molmed.2011.00119>

Fabre, 1999. L'intérêt de l'huile d'argan vierge enrichie en insaponifiable ainsi que les peptides extraits de tourteaux en cosmétologie.

Fabre, G., Bayach, I., Berka, K., Paloncýová, M., Starok, M., Rossi, C., Duroux, J.L., Otyepka, M., Trouillas, P., 2015. Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes. *Chem. Commun.* 51, 7713–7716. <https://doi.org/10.1039/c5cc00636h>

Fain, O., 2004. Vitamin C deficiency. *Rev. Médecine Interne Fondée Par Société Natl. Française Médecine Interne* 25, 872–880. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2004.03.009>

[Tapez ici]

Favier, A., 2003. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actual. Chim.* 108–115.

Favier, A., 1997. Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 55, 9–16.

Ferdinandusse, S., Denis, S., Hogenhout, E.M., Koster, J., van Roermund, C.W.T., IJlst, L., Moser, A.B., Wanders, R.J.A., Waterham, H.R., 2007. Clinical, biochemical, and mutational spectrum of peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase deficiency. *Hum. Mutat.* 28, 904–912. <https://doi.org/10.1002/humu.20535>

Ferry, M., 2009. Fonctions des oligoéléments et besoins spécifiques de la personne âgée, in: *Traité de Nutrition de La Personne Âgée*. Springer Paris, Paris, pp. 35–41. https://doi.org/10.1007/978-2-287-98117-3_5

Fitó, M., Covas, M.I., Lamuela-Raventós, R.M., Vila, J., Torrents, J., de la Torre, C., Marrugat, J., 2000. Protective effect of olive oil and its phenolic compounds against low density lipoprotein oxidation. *Lipids* 35, 633–638. <https://doi.org/10.1007/s11745-000-0567-1>

Flohe, L., Gunzler, W., 1984a. LEOPOLD FLOHE and WOLFGANG A. GONZLER The term glutathione peroxidase (glutathione: H₂O₂ oxidoreductase, EC 1.11.1.9) is reserved for the selenoprotein catalyzing the reaction: 105, 114–120.

Flohe, L., Gunzler, W., 1984b. LEOPOLD FLOHE and WOLFGANG A. GONZLER The term glutathione peroxidase (glutathione: H₂O₂ oxidoreductase, EC 1.11.1.9) is reserved for the selenoprotein catalyzing the reaction: 105, 114–120.

Folz, R.J., Guan, J., Seldin, M.F., Oury, T.D., Enghild, J.J., Crapo, J.D., 1997. Mouse Extracellular Superoxide Dismutase: Primary Structure, Tissue-specific Gene Expression, Chromosomal Localization, and Lung in Situ Hybridization. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 17, 393–403. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.17.4.2826>

Fourcade, S., Ruiz, M., Camps, C., Schlüter, A., Houten, S.M., Mooyer, P.A.W., Pàmols, T., Dacremont, G., Wanders, R.J.A., Giròs, M., Pujol, A., 2009. A key role for the peroxisomal ABCD2 transporter in fatty acid homeostasis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 296, E211–221. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90736.2008>

Franco, M.N., Galeano-Díaz, T., López, Ó., Fernández-Bolaños, J.G., Sánchez, J., De Miguel, C., Gil, M.V., Martín-Vertedor, D., 2014. Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil. *Food Chem.* 163, 289–298. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.091>

Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., Apanasets, O., Van Veldhoven, P.P., 2013. Aging, age-related diseases and peroxisomes. *Subcell. Biochem.* 69, 45–65. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6889-5_3

[Tapez ici]

Galvano, F., La Fauci, L., Graziani, G., Ferracane, R., Masella, R., Di Giacomo, C., Scacco, A., D'Archivio, M., Vanella, L., Galvano, G., 2007. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Italian Extra Virgin Olive Oil Monti Iblei. *J. Med. Food* 10, 650–656. <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.409>

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D., 2003. Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? *Actual. Chim.* 91–96.

Geillon, F., Trompier, D., Gondcaille, C., Lizard, G., Savary, S., 2012. Transporteurs ABC peroxysomaux et adrénoleucodystrophie liée au chromosome X. *médecine/sciences* 28, 1087–1094. <https://doi.org/10.1051/medsci/20122812019>

Ghosh, A.S., Dutta, S., Raha, S., 2010a. Hydrogen peroxide-induced apoptosis-like cell death in *Entamoeba histolytica*. *Parasitol. Int.* 59, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.01.001>

Ghosh, A.S., Dutta, S., Raha, S., 2010b. Hydrogen peroxide-induced apoptosis-like cell death in *Entamoeba histolytica*. *Parasitol. Int.* 59, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.01.001>

Gibson, C.J., Hossain, M.M., Richardson, J.R., Aleksunes, L.M., 2012. Inflammatory Regulation of ATP Binding Cassette Efflux Transporter Expression and Function in Microglia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 343, 650–660. <https://doi.org/10.1124/jpet.112.196543>

Giglio, R.V., Patti, A.M., Cicero, A.F.G., Lippi, G., Rizzo, M., Toth, P.P., Banach, M., 2018. Polyphenols: Potential Use in the Prevention and Treatment of Cardiovascular Diseases. *Curr. Pharm. Des.* 24, 239–258. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180130112652>

Ginsberg, L., Rafique, S., Xuereb, J.H., Rapoport, S.I., Gershfeld, N.L., 1995. Disease and anatomic specificity of ethanolamine plasmalogen deficiency in Alzheimer's disease brain. *Brain Res.* 698, 223–226. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00931-f](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00931-f)

Girnun, G.D., Domann, F.E., Moore, S.A., Robbins, M.E.C., 2002. Identification of a functional peroxisome proliferator-activated receptor response element in the rat catalase promoter. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 16, 2793–2801. <https://doi.org/10.1210/me.2002-0020>

Gorzynik-Debicka, M., Przychodzen, P., Cappello, F., Kuban-Jankowska, A., Gammazza, A.M., Knap, N., Wozniak, M., Gorska-Ponikowska, M., 2018. Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. *Int. J. Mol. Sci.* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19030686>

Graeber, M.B., 2003. Microglia, in: Aminoff, M.J., Daroff, R.B. (Eds.), *Encyclopedia of the Neurological Sciences*. Academic Press, New York, pp. 137–140. <https://doi.org/10.1016/B0-12-226870-9/00476-7>

Griffin, E.N., Ackerman, S.L., 2020. Lipid Metabolism and Axon Degeneration: An ACOX1 Balancing Act. *Neuron* 106, 551–553. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.04.030>

[Tapez ici]

Grina, F., Abdellatif, R., Talal, S., Nasser, B., 2020a. Could the Fucus Spiralis Algal Extract Prevent the Oxidative Stress in Could the Fucus Spiralis Algal Extract Prevent the Oxidative Stress in Tetrahymena Pyriformis Model ? <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.89788995>

Grina, F., Abdellatif, R., Talal, S., Nasser, B., 2020b. Could the Fucus Spiralis Algal Extract Prevent the Oxidative Stress in Could the Fucus Spiralis Algal Extract Prevent the Oxidative Stress in Tetrahymena Pyriformis Model ? <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.89788995>

Guenauou, I., Hmimid, F., Azzahra, F., Errami, A., Santé, L., Environnement, E., Des, F., Ain, S., Hassan, U., Casablanca, I.I. De, 2021. Comparative Biochemistry and Physiology , Part C Cytoprotective effect of ethyl acetate fraction from Ephedra fragilis on H₂O₂ - induced oxidative damage in Tetrahymena pyriformis. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 239, 108899. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108899>

Guillaume, D., Charrouf, Z., 2011. Argan oil and other argan products: Use in dermocosmetology. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 403–408. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000417>

Guo, X., Song, W., Chen, K., Chen, X., Zheng, Z., Cao, B., Huang, R., Zhao, B., Wu, Y., Shang, H.-F., 2015. The serum lipid profile of Parkinson's disease patients: a study from China. *Int. J. Neurosci.* 125, 838–844. <https://doi.org/10.3109/00207454.2014.979288>

Gustaw-Rothenberg, K., Kowalczyk, K., Stryjecka-Zimmer, M., 2010. Lipids' peroxidation markers in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Geriatr. Gerontol. Int.* 10, 161–166. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0594.2009.00571.x>

Haimeur, A., Messaouri, H., Ulmann, L., Mimouni, V., Masrar, A., Chraïbi, A., Tremblin, G., Meskini, N., 2013. Argan oil prevents prothrombotic complications by lowering lipid levels and platelet aggregation, enhancing oxidative status in dyslipidemic patients from the area of Rabat (Morocco). *Lipids Health Dis.* 12, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-12-107>

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P., 2007. Le stress oxydant. *Rev. Med. Liege* 62, 628–638.

Halliwell, B., 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J. Neurochem.* 97, 1634–1658. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x>

Halliwell, B., 1999. Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.* 31, 261–272. <https://doi.org/10.1080/10715769900300841>

Haman, N., Longo, E., Schiraldi, A., Scampicchio, M., 2017a. Radical scavenging activity of lipophilic antioxidants and extra-virgin olive oil by isothermal calorimetry. *Thermochim. Acta* 658, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.TCA.2017.10.012>

[Tapez ici]

Haman, N., Longo, E., Schiraldi, A., Scampicchio, M., 2017b. Radical scavenging activity of lipophilic antioxidants and extra-virgin olive oil by isothermal calorimetry. *Thermochim. Acta* 658, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.TCA.2017.10.012>

Hamilton, R.T., Walsh, M.E., Remmen, H. Van, 2014. Mouse Models of Oxidative Stress Indicate a Role for Modulating Healthy Aging Ryan. <https://doi.org/10.4172/2161-0681.54-005.Mouse>

Hammou, A., Biotechnologies, D., Sciences, F., Zohr, U.I., Paysage, D., li, I.A.V.H., 2018. Clonal selection of Argan trees (*Argania spinosa* L . Skeels) in the Admin forest , Agadir , Southwestern Morocco 6, 7–18. <https://doi.org/10.33495/jacr>

Han, W., Fessel, J.P., Sherrill, T., Emily, G., Yull, F.E., Blackwell, T.S., 2020. Enhanced Expression of Catalase in Mitochondria Modulates NF- κ B – Dependent Lung Inflammation through Alteration of Metabolic Activity in Macrophages. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900820>

Harris, S., 1997. Fatty acids and serum lipoproteins : human. *Am. J. Clin. Nutr.* 65, 1645S-1654S.

Hayes, K.C., Pronczuk, A., Perlman, D., 2004. Nonesterified phytosterols dissolved and recrystallized in oil reduce plasma cholesterol in gerbils and humans. *J. Nutr.* 134, 1395–1399. <https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1395>

He, D., Wang, S., Fang, G., Zhu, Q., Wu, J., Li, J., Shi, D., Lian, X., 2022. LXRs/ABCA1 activation contribute to the anti-inflammatory role of phytosterols on LPS-induced acute lung injury. *J. Funct. Foods* 89, 104966. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.104966>

Hein, S., Schönfeld, P., Kahlert, S., Reiser, G., 2008. Toxic effects of X-linked adrenoleukodystrophy-associated, very long chain fatty acids on glial cells and neurons from rat hippocampus in culture. *Hum. Mol. Genet.* 17, 1750–1761. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn066>

Hermes-Lima, M., Zenteno-Savín, T., 2002. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 133, 537–556. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00080-7](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00080-7)

Hernández, A., Farràs, M., Fitó, M., 2016. Olive oil phenolic compounds and high-density lipoprotein function. *Curr. Opin. Lipidol.* 27, 47–53. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000261>

Higgins, C.F., 1992. ABC transporters: from microorganisms to man. *Annu. Rev. Cell Biol.* 8, 67–113. <https://doi.org/10.1146/annurev.cb.08.110192.000435>

Hilali, M., CHARROUF, Z., SOULHI, E.A., Achimi, L.A.H., Uillaume, D.O.G., 2005. Influence of Origin and Extraction Method on Argan Oil Physico-Chemical Characteristics and Composition.

[Tapez ici]

HILALI, M., MONFALOUTI, H. EI, KARTAH, B.E., 2020. STUDY OF THE FLAVONOIDS AND SECONDARY METABOLITES OF THE ARGAN TREE (*Argania spinosa* L.). *Online J. Anim. Feed Res.* 10, 167–171. <https://doi.org/10.51227/ojafr.2020.23>

Holzerová, E., Prokisch, H., 2015. Mitochondria: Much ado about nothing? How dangerous is reactive oxygen species production? *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 63, 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2015.01.021>

Horton, J.W., Walker, P.B., 1993. Oxygen radicals, lipid peroxidation, and permeability changes after intestinal ischemia and reperfusion. *J. Appl. Physiol.* 74, 1515–1520. <https://doi.org/10.1152/jappl.1993.74.4.1515>

Houshia, O.J., Qutit, A., Zaid, O., Shqair, H., Zaid, M., 2014. Determination of Total Polyphenolic Antioxidants Contents in West-Bank Olive Oil. *J. Nat. Sci. Res.* 4, 71–76.

Houston, E., Physiol, L., Gsh, P.M., 2019. Enhanced sinusoidal glutathione efflux during 60–68.

Hsu, D., Chiang, P., Chien, S., 2004. Parenteral sesame oil attenuates oxidative stress after endotoxin intoxication in rats 196, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2003.12.001>

Huang, B., Ke, H., He, J., Ban, X., Zeng, H., Wang, Y., 2011a. Extracts of *Halenia elliptica* exhibit antioxidant properties in vitro and in vivo. *Food Chem. Toxicol.* 49, 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.015>

Huang, B., Ke, H., He, J., Ban, X., Zeng, H., Wang, Y., 2011b. Extracts of *Halenia elliptica* exhibit antioxidant properties in vitro and in vivo. *Food Chem. Toxicol.* 49, 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.015>

Huang, Y.-C., Wen, Z.-H., Wang, S.-K., Hsu, C.-H., Duh, C.-Y., 2008. New anti-inflammatory 4-methylated steroids from the Formosan soft coral *Nephthea chabroli*. *Steroids* 73, 1181–1186. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2008.05.007>

Hühner, L., Rilka, J., Gilsbach, R., Zhou, X., Machado, V., Spittau, B., 2017. Interleukin-4 Protects Dopaminergic Neurons In vitro but Is Dispensable for MPTP-Induced Neurodegeneration In vivo. *Front. Mol. Neurosci.* 10.

Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex. J. Med.* 54, 287–293. <https://doi.org/10.4314/bafm.v54i4>

Ilavarasi, K., Kiruthiga, P.V., Pandian, S.K., Devi, K.P., 2011. Chemosphere Hydroxytyrosol, the phenolic compound of olive oil protects human PBMC against oxidative stress and DNA damage mediated by 2, 3, 7, 8-TCDD. *Chemosphere* 84, 888–893. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.017>

[Tapez ici]

Infante, J.P., Tschanz, C.L., Shaw, N., Michaud, A.L., Lawrence, P., Brenna, J.T., 2002. Straight-Chain Acyl-CoA Oxidase Knockout Mouse Accumulates Extremely Long Chain Fatty Acids from α -Linolenic Acid: Evidence for Runaway Carousel-Type Enzyme Kinetics in Peroxisomal β -Oxidation Diseases. *Mol. Genet. Metab.* 75, 108–119. <https://doi.org/10.1006/mgme.2001.3279>

Islinger, M., Grille, S., Fahimi, H.D., Schrader, M., 2018. The peroxisome: An update on mysteries. *Histochem. Cell Biol.* 137, 547–574. <https://doi.org/10.1007/s00418-012-0941-4>

Islinger, M., Grille, S., Fahimi, H.D., Schrader, M., 2012. The peroxisome: An update on mysteries. *Histochem. Cell Biol.* 137, 547–574. <https://doi.org/10.1007/s00418-012-0941-4>

Ivashchenko, O., Van Veldhoven, P.P., Brees, C., Ho, Y.-S., Terlecky, S.R., Fransen, M., 2011. Intraperoxisomal redox balance in mammalian cells: oxidative stress and interorganellar cross-talk. *Mol. Biol. Cell* 22, 1440–1451. <https://doi.org/10.1091/mbc.E10-11-0919>

Jean, B., Fatima, D., 2019. Anomalies de la β -oxydation mitochondriale des acides gras. *Médecine/Sciences* 35, 779–786.

Jelinek, M., Jurajda, M., Duris, K., 2021. Oxidative Stress in the Brain: Basic Concepts and Treatment Strategies in Stroke. *Antioxidants* 10, 1886. <https://doi.org/10.3390/antiox10121886>

Jeong, J.Y., Chung, Y.C., Jin, B.K., 2019. Interleukin-4 and Interleukin-13 Exacerbate Neurotoxicity of Prothrombin Kringle-2 in Cortex In Vivo via Oxidative Stress. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 1927. <https://doi.org/10.3390/ijms20081927>

Jie, F., Yang, X., Wu, L., Wang, M., Lu, B., 2022. Linking phytosterols and oxyphytosterols from food to brain health: origins, effects, and underlying mechanisms. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 62, 3613–3630. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1867819>

Jo, D.S., Cho, D.-H., 2019. Peroxisomal dysfunction in neurodegenerative diseases. *Arch. Pharm. Res.* 42, 393–406. <https://doi.org/10.1007/s12272-019-01131-2>

Jones, P., MacDougall, D.E., Ntanios, F., Vanstone, C.A., 1997. Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 75, 217–227. <https://doi.org/10.1139/y97-011>

Jung, Y.J., Tweedie, D., Scerba, M.T., Greig, N.H., 2019. Neuroinflammation as a Factor of Neurodegenerative Disease: Thalidomide Analogs as Treatments. *Front. Cell Dev. Biol.* 7.

Kamal, R., Kharbach, M., Doukkali, Z., 2017. Antioxidant activities, total polyphenolic compounds and HPLC/DAD/MS phenolic profile of argan oil derived from two different methods of extractions vol8.

Kamal, R., Kharbach, M., Vander, Y., Zohra, H., Ghchime, R., Bouklouze, A., Cherrah, Y., Alaoui, K., 2019a. In vivo anti-inflammatory response and bioactive compounds' profile of polyphenolic extracts from

[Tapez ici]

edible Argan oil (*Argania spinosa* L .), obtained by two extraction methods 1–11.
<https://doi.org/10.1111/jfbc.13066>

Kamal, R., Kharbach, M., Vander, Y., Zohra, H., Ghchime, R., Bouklouze, A., Cherrah, Y., Alaoui, K., 2019b. In vivo anti - inflammatory response and bioactive compounds ' profile of polyphenolic extracts from edible Argan oil (*Argania spinosa* L .), obtained by two extraction methods 1–11.
<https://doi.org/10.1111/jfbc.13066>

Kamijo, K., Taketani, S., Yokota, S., Osumi, T., Hashimoto, T., 1990. The 70-kDa peroxisomal membrane protein is a member of the Mdr (P-glycoprotein)-related ATP-binding protein superfamily. *J. Biol. Chem.* 265, 4534–4540.

Kanarek, N., Petrova, B., Sabatini, D.M., 2020. Dietary modifications for enhanced cancer therapy. *Nature* 579, 507–517. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2124-0>

Karsan, A., Leong, K.G., 2000. Signaling pathways mediated by tumor necrosis factor α . *Histol. Histopathol.* 15, 1303–1325.

Kashiwayama, Y., Asahina, K., Morita, M., Imanaka, T., 2007. Hydrophobic regions adjacent to transmembrane domains 1 and 5 are important for the targeting of the 70-kDa peroxisomal membrane protein. *J. Biol. Chem.* 282, 33831–33844. <https://doi.org/10.1074/jbc.M703369200>

Kassab, A., Laradi, S., Ferchichi, S., Omezzine, A., Charfeddine, B., Ammar, H., Chaieb, L., Miled, A., 2003. Oxidative stress parameters in type 2 diabetes mellitus | Paramètres du stress oxydant dans le diabète de type 2. *Immuno-Anal. Biol. Spec.* 18, 79–85. [https://doi.org/10.1016/S0923-2532\(03\)00007-3](https://doi.org/10.1016/S0923-2532(03)00007-3)

Kaur, N., Sharma, I., Kirat, K., Pati, P., 2016. Detection of Reactive Oxygen Species in *Oryza sativa* L. (Rice). *BIO-Protoc.* 6. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2061>

Kebbaj, R. El, Kamouni, S. El, Hajj, H.I. El, Andreoletti, P., Gresti, J., Latruffe, N., Saïd, M.H., Kebbaj, E., Vamecq, J., 2013. Modulation of peroxisomes abundance by argan oil and lipopolysaccharides in acyl-CoA oxidase 1-deficient fibroblasts 5, 62–69.

Kempuraj, D., Thangavel, R., Natteru, P., Selvakumar, G., Saeed, D., Zahoor, H., Zaheer, S., Iyer, S., Zaheer, A., 2016. Neuroinflammation Induces Neurodegeneration. *J. Neurol. Neurosurg. Spine* 1, 1003.

Khallouki, F., Eddouks, M., Mourad, A., Breuer, A., Owen, R.W., 2017. Ethnobotanic, Ethnopharmacologic Aspects and New Phytochemical Insights into Moroccan Argan Fruits. *Int. J. Mol. Sci.* 18, E2277. <https://doi.org/10.3390/ijms18112277>

Khallouki, F., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., Owen, R.W., 2005. Secondary metabolites of the argan tree (Morocco) may have disease prevention properties. *Afr. J. Biotechnol.* 4, 381–388. <https://doi.org/10.5897/AJB2005.000-3071>

[Tapez ici]

Khallouki, F., Younos, C., Soulimani, R., Oster, T., Charrouf, Z., Spiegelhalter, B., Bartsch, H., Owen, R.W., 2003a. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur. J. Cancer Prev.* 12, 67–75. <https://doi.org/10.1097/00008469-200302000-00011>

Khallouki, F., Younos, C., Soulimani, R., Oster, T., Charrouf, Z., Spiegelhalter, B., Bartsch, H., Owen, R.W., 2003b. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur. J. Cancer Prev.* 12, 67–75. <https://doi.org/10.1097/00008469-200302000-00011>

Kherraz, K., Chouikh, A., Chefrou, A., Amara, D.G., 2019. ESTIMATION OF TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOIDS CONTENT AND ANTI-FREE RADICAL SCAVENGER, ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF EXTRACT OF *Matricaria pubescens* (DESF.) SCH. BIP. COLLECTED FROM SOUTH EAST OF ALGERIA 6.

Khovidhunkit, W., Moser, A.H., Shigenaga, J.K., Grunfeld, C., Feingold, K.R., 2003. Endotoxin down-regulates ABCG5 and ABCG8 in mouse liver and ABCA1 and ABCG1 in J774 murine macrophages: differential role of LXR. *J. Lipid Res.* 44, 1728–1736. <https://doi.org/10.1194/jlr.M300100-JLR200>

Kim, I.D., Ha, B.J., 2010. The effects of paeoniflorin on LPS-induced liver inflammatory reactions. *Arch. Pharm. Res.* 33, 959–966. <https://doi.org/10.1007/s12272-010-0620-8>

Kim, P.K., Mullen, R.T., Schumann, U., Lippincott-Schwartz, J., 2006. The origin and maintenance of mammalian peroxisomes involves a de novo PEX16-dependent pathway from the ER. *J. Cell Biol.* 173, 521–532. <https://doi.org/10.1083/jcb.200601036>

Kim, S.H., Johnson, V.J., Shin, T.-Y., Sharma, R.P., 2004. Selenium Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Oxidative Stress Responses Through Modulation of p38 MAPK and NF- κ B Signaling Pathways. *Exp. Biol. Med.* 229, 203–213. <https://doi.org/10.1177/153537020422900209>

Kiyoshi, N., 2000. role of reactive oxygen species in the regulation of physiological functions. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 34, 430–433.

Ko, K., Yang, H., Nouredin, M., Iglesia-Ara, A., Xia, M., Wagner, C., Luka, Z., Mato, J.M., Lu, S.C., 2008. Changes in S-adenosylmethionine and GSH homeostasis during endotoxemia in mice. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 88, 1121–1129. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2008.69>

Kobayashi, N., DeLano, F.A., Schmid-Schönbein, G.W., 2005. Oxidative stress promotes endothelial cell apoptosis and loss of microvessels in the spontaneously hypertensive rats. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 2114–2121. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000178993.13222.f2>

[Tapez ici]

Koch, A., Schneider, G., Lüers, G.H., Schrader, M., 2004. Peroxisome elongation and constriction but not fission can occur independently of dynamin-like protein 1. *J. Cell Sci.* 117, 3995–4006. <https://doi.org/10.1242/jcs.01268>

Koprach, J.B., Reske-Nielsen, C., Mithal, P., Isacson, O., 2008. Neuroinflammation mediated by IL-1 β increases susceptibility of dopamine neurons to degeneration in an animal model of Parkinson's disease. *J. Neuroinflammation* 5, 8. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-8>

Kou, J., Kovacs, G.G., Höftberger, R., Kulik, W., Brodde, A., Forss-Petter, S., Hönigschnabl, S., Gleiss, A., Brügger, B., Wanders, R., Just, W., Budka, H., Jungwirth, S., Fischer, P., Berger, J., 2011. Peroxisomal alterations in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 122, 271–283. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0836-9>

Krautbauer, S., Eisinger, K., Neumeier, M., Hader, Y., Buettner, R., Schmid, P.M., Aslanidis, C., Buechler, C., 2014. Free Fatty Acids, Lipopolysaccharide and IL-1 α Induce Adipocyte Manganese Superoxide Dismutase Which Is Increased in Visceral Adipose Tissues of Obese Rodents 9, 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086866>

Kurano, M., Hasegawa, K., Kunimi, M., Hara, M., Yatomi, Y., Teramoto, T., Tsukamoto, K., 2018. Sitosterol prevents obesity-related chronic inflammation. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1863, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2017.12.004>

Lagarda, M.J., García-Llatas, G., Farré, R., 2006. Analysis of phytosterols in foods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 1486–1496. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.02.052>

Laitinen, M.H., Ngandu, T., Rovio, S., Helkala, E.L., Uusitalo, U., Viitanen, M., Nissinen, A., Tuomilehto, J., Soininen, H., Kivipelto, M., 2006. Fat intake at midlife and risk of dementia and Alzheimer's disease: A population-based study. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 22, 99–107. <https://doi.org/10.1159/000093478>

Laliberté, J., Labbé, S., 2008. The molecular bases for copper uptake and distribution: Lessons from yeast. *Medecine/Sciences* 24, 277–283. <https://doi.org/10.1051/medsci/2008243277>

LANDRIER, J.-F., 2011. Vitamine E et physiologie du tissu adipeux 18, 83–87.

Laroux, F.S., Pavlick, K.P., Hines, I.N., Kawachi, S., Harada, H., Bharwani, S., Hoffman, J.M., Grisham, M.B., 2001. Role of nitric oxide in inflammation. *Acta Physiol. Scand.* 173, 113–118. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2001.00891.x>

Latorre, C.H., 2014. A brief study of the role of Selenium as antioxidant.

Lee, J., Homma, T., Kurahashi, T., Kang, E.S., Fujii, J., 2015a. Biochemical and Biophysical Research Communications Oxidative stress triggers lipid droplet accumulation in primary cultured hepatocytes by

[Tapez ici]

activating fatty acid synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.121>

Lee, J., Homma, T., Kurahashi, T., Kang, E.S., Fujii, J., 2015b. Biochemical and Biophysical Research Communications Oxidative stress triggers lipid droplet accumulation in primary cultured hepatocytes by activating fatty acid synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.121>

Lee, S., Seok, B.G., Lee, S.-J., Chung, S.W., 2022. Inhibition of mitoNEET attenuates LPS-induced inflammation and oxidative stress. *Cell Death Dis.* 13, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04586-2>

Lee, S., Zhang, J., Choi, A.M.K., Kim, H.P., 2013a. Mitochondrial Dysfunction Induces Formation of Lipid Droplets as a Generalized Response to Stress 2013.

Lee, S., Zhang, J., Choi, A.M.K., Kim, H.P., 2013b. Mitochondrial Dysfunction Induces Formation of Lipid Droplets as a Generalized Response to Stress 2013.

Lefebvre, P., Chinetti, G., Fruchart, J.-C., Staels, B., 2006. Sorting out the roles of PPAR α in energy metabolism and vascular homeostasis. *J. Clin. Invest.* 116, 571–580. <https://doi.org/10.1172/JCI27989>

LEGER, C.-L., 2000. Vitamin E: current state of knowledge, role in the prevention of cardiovascular disease, bioavailability. *Encycl. Volcanoes* 7, 662.

Lenz, M., Vlachos, A., 2019. The neuroimmunological synapse: from synaptic homeostasis to brain disease. *Neuroforum* 25, 163–171. <https://doi.org/10.1515/nf-2019-0009>

Lesma, G., Luraghi, A., Bavaro, T., Bortolozzi, R., Rainoldi, G., Roda, G., Viola, G., Ubiali, D., Silvani, A., 2018. Phytosterol and γ -Oryzanol Conjugates: Synthesis and Evaluation of their Antioxidant, Antiproliferative, and Anticholesterol Activities. *J. Nat. Prod.* 81, 2212–2221.
<https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00465>

Levine, R.L., 2002. Serial Review : Oxidatively Modified Proteins in Aging and Disease 32, 790–796.

Liguori, L., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-morte, D., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P., 2018. Oxidative Stress and Diseases. *Oxidative Stress Dis.* 757–772.
<https://doi.org/10.5772/2535>

Lin, Y., Knol, D., Trautwein, E.A., 2016. Phytosterol oxidation products (POP) in foods with added phytosterols and estimation of their daily intake: A literature review. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 118, 1423–1438. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500368>

Listenberger, L.L., Brown, D.A., 2007a. Fluorescent Detection of Lipid Droplets and Associated Proteins. *Curr. Protoc. Cell Biol.* 35, 1–11. <https://doi.org/10.1002/0471143030.cb2402s35>

[Tapez ici]

Listenberger, L.L., Brown, D.A., 2007b. Fluorescent Detection of Lipid Droplets and Associated Proteins. *Curr. Protoc. Cell Biol.* 35, 1–11. <https://doi.org/10.1002/0471143030.cb2402s35>

Lizard, G., Rouaud, O., Demarquoy, J., Cherkaoui-Malki, M., Iuliano, L., 2012a. Potential roles of peroxisomes in Alzheimer's disease and in dementia of the Alzheimer's type. *J. Alzheimers Dis. JAD* 29, 241–254. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111163>

Lizard, G., Rouaud, O., Demarquoy, J., Cherkaoui-Malki, M., Iuliano, L., 2012b. Potential Roles of Peroxisomes in Alzheimer's Disease and in Dementia of the Alzheimer's Type. *J. Alzheimers Dis.* 29, 241–254. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111163>

Lizard, Gueldry, Deckert, Gambert, Lagrost, 1997. Evaluation of the cytotoxic effects of some oxysterols and of cholesterol on endothelial cell growth: methodological aspects. *Pathol. Biol. (Paris)* 45, 281–290.

Lombard-Platet, G., Savary, S., Sarde, C.O., Mandel, J.L., Chimini, G., 1996. A close relative of the adrenoleukodystrophy (ALD) gene codes for a peroxisomal protein with a specific expression pattern. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 1265–1269. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.3.1265>

López, L.C., Cabrera-Vique, C., Venegas, C., García-Corzo, L., Luna-Sánchez, M., Acuña-Castroviejo, D., Escames, G., 2013. Argan oil-contained antioxidants for human mitochondria. *Nat. Prod. Commun.* 8, 47–50. <https://doi.org/10.1177/1934578x1300800111>

López-Erauskin, J., Galino, J., Bianchi, P., Fourcade, S., Andreu, A.L., Ferrer, I., Muñoz-Pinedo, C., Pujol, A., 2012. Oxidative stress modulates mitochondrial failure and cyclophilin D function in X-linked adrenoleukodystrophy. *Brain J. Neurol.* 135, 3584–3598. <https://doi.org/10.1093/brain/aws292>

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951a. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951b. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)

Luciano, C.P.A., 2012. Mitochondrial Dysfunction during Sepsis. *Endocr. Metab. Immune Disord. - Drug Targets* 10, 214–223. <https://doi.org/10.2174/187153010791936946>

Luo, T., Wu, W.-H., Chen, B.-S., 2011. NMDA receptor signaling: death or survival? *Front. Biol.* 6, 468–476. <https://doi.org/10.1007/s11515-011-1187-6>

Lybbert, T.J., 2007. Patent disclosure requirements and benefit sharing : A counterfactual case of Morocco ' s argan oil 64. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.06.017>

[Tapez ici]

Lybbert, T.J., Aboudrare, A., Chaloud, D., Magnan, N., Nash, M., 2011. Booming markets for Moroccan argan oil appear to benefit some rural households while threatening the endemic argan forest. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106382108>

Lynch, M.A., 2015. Neuroinflammatory changes negatively impact on LTP: A focus on IL-1 β . *Brain Res.* 1621, 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.08.040>

Mandelkow, E.-M., Stamer, K., Vogel, R., Thies, E., Mandelkow, E., 2003. Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. *Neurobiol. Aging* 24, 1079–1085. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2003.04.007>

Mansour, R.B., Ben, H., Hanen, S., Moufida, F., Seif, M., Kechebar, A., Ksouri, R., 2018. Phytochemical characteristics, antioxidant, and health properties of roasted and unroasted Algerian argan (*Argania spinosa*) oil 1–7. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12562>

Marfil, R., Giménez, R., Martínez, O., Bouzas, P.R., Rufián-Henares, J.A., Mesías, M., Cabrera-Vique, C., 2011a. Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*, Skeels). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 886–893. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000503>

Marfil, R., Giménez, R., Martínez, O., Bouzas, P.R., Rufián-Henares, J.A., Mesías, M., Cabrera-Vique, C., 2011b. Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*, Skeels). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 886–893. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000503>

Marijke, J., T, R., J, V., A, C., 2012. Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *Int. J. Mol. Sci.* 13. <https://doi.org/10.3390/ijms13033145>

Marrocco, I., Altieri, F., Peluso, I., 2017. Review Article Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans 2017.

Mattace Raso, G., Simeoli, R., Russo, R., Santoro, A., Pirozzi, C., d'Emmanuele di Villa Bianca, R., Mitidieri, E., Paciello, O., Pagano, T.B., Orefice, N.S., Meli, R., Calignano, A., 2013. N-Palmitoylethanolamide protects the kidney from hypertensive injury in spontaneously hypertensive rats via inhibition of oxidative stress. *Pharmacol. Res.* 76, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.07.007>

Mazat, J., Ransac, S., 2010. index.php?option=com_article&access=standard&Itemid=129&url=%2Farticles%2Fmedsci%2Fpdf%2F2010%2F11%2Fmedsci20102612p1079.pdf.

McCord, J., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)63504-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)63504-5)

McFarland, A.J., Davey, A.K., McDermott, C.M., Grant, G.D., Lewohl, J., Anoopkumar-Dukie, S., 2018. Differences in statin associated neuroprotection corresponds with either decreased production of IL-

[Tapez ici]

1 β or TNF- α in an in vitro model of neuroinflammation-induced neurodegeneration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 344, 56–73. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.03.005>

Meister, A., 1994. Glutathione , Ascorbate , and Cellular Protection1 1969–1976.

Mendoza-Núñez, V.M., Sánchez-Rodríguez, M.A., Retana-Ugalde, R., Vargas-Guadarrama, L.A., Altamirano-Lozano, M.A., 2001. Total antioxidant levels, gender, and age as risk factors for DNA damage in lymphocytes of the elderly. *Mech. Ageing Dev.* 122, 835–847. [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(01\)00240-8](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(01)00240-8)

Menni, H. Ben, Belarbi, M., Menni, D. Ben, Bendiab, H., Kherraf, Y., Ksouri, R., Djebli, N., Visioli, F., 2019. Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 0, 1–8. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1650005>

Menni, H.B., Belarbi, M., Menni, D.B., Bendiab, H., Kherraf, Y., Ksouri, R., Djebli, N., Visioli, F., 2019. Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 0, 1–8. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1650005>

M'hirit, O., Benzyane, M., Benchekroune, F., 1998. L'arganier: Une espèce fruitière-forestière à usages multiples. Mardaga, Sprimont, Belgique, France.

Midaoui, A.E., Haddad, Y., Filali-Zegzouti, Y., Couture, R., 2017. Argan Oil as an Effective Nutri-Therapeutic Agent in Metabolic Syndrome: A Preclinical Study. *Int. J. Mol. Sci. Artic.* <https://doi.org/10.3390/ijms18112492>

Midaoui, A. El, Haddad, Y., Filali-Zegzouti, Y., Couture, R., 2017. Argan Oil as an Effective Nutri-Therapeutic Agent in Metabolic Syndrome: A Preclinical Study. *Int. J. Mol. Sci. Artic.* <https://doi.org/10.3390/ijms18112492>

Migdal, C., Serres, M., 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/Sciences* 27, 405–412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274405>

MILLS, G.C., 1957. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.* 229, 189–197. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)70608-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)70608-X)

Mira, J.-P., Cariou, A., Grall, F., Delclaux, C., Lossier, M.-R., Heshmati, F., Cheval, C., Monchi, M., Teboul, J.-L., Riché, F., Leleu, G., Arbibe, L., Mignon, A., Delpech, M., Dhainaut, J.-F., 1999. Association of TNF2, a TNF- α Promoter Polymorphism, With Septic Shock Susceptibility and MortalityA Multicenter Study. *JAMA* 282, 561–568. <https://doi.org/10.1001/jama.282.6.561>

Miłośnik-Chodakowska, I., Witkowska, A.M., Zujko, M.E., 2018. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv. Med. Sci.* 63, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>

[Tapez ici]

Miura, K., Ishii, T., Sugita, Y., Bannai, S., 1992. Cystine uptake and glutathione level in endothelial cells exposed to oxidative stress. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* 262, C50–C58. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1992.262.1.C50>

Mizuno, Yumi, Ninomiya, Y., Nakachi, Y., Iseki, M., Iwasa, H., Akita, M., Tsukui, T., Shimozawa, N., Ito, C., Toshimori, K., Nishimukai, M., Hara, H., Maeba, R., Okazaki, T., Alodaib, A.N.A., Amoudi, M. Al, Jacob, M., Alkuraya, F.S., Horai, Y., Watanabe, M., Motegi, H., Wakana, S., Noda, T., Kurochkin, I. V., Mizuno, Yosuke, Schönbach, C., Okazaki, Y., 2013. Tysnd1 Deficiency in Mice Interferes with the Peroxisomal Localization of PTS2 Enzymes, Causing Lipid Metabolic Abnormalities and Male Infertility. *PLoS Genet.* 9, 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003286>

Moghadasian, M.H., 2000. Pharmacological properties of plant sterols. *Life Sci.* 67, 605–615. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(00\)00665-2](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)00665-2)

Mohd. Esa, N., Abdul Kadir, K.-K., Amom, Z., Azlan, A., 2013. Antioxidant activity of white rice, brown rice and germinated brown rice (in vivo and in vitro) and the effects on lipid peroxidation and liver enzymes in hyperlipidaemic rabbits. *Food Chem.* 141, 1306–1312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.086>

Möller, G., van Grunsven, E.G., Wanders, R.J.A., Adamski, J., 2001. Molecular basis of d-bifunctional protein deficiency. *Mol. Cell. Endocrinol.* 171, 61–70. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(00\)00388-9](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(00)00388-9)

Monfalouti, H.E., Guillaume, D., Denhez, C., Charrouf, Z., 2010. Therapeutic potential of argan oil: A review. *J. Pharm. Pharmacol.* 62, 1669–1675. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01190.x>

More, G.K., Makola, R.T., 2020. In-vitro analysis of free radical scavenging activities and suppression of LPS-induced ROS production in macrophage cells by *Solanum sisymbriifolium* extracts. *Sci. Rep.* 10, 6493. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63491-w>

Moreno, J.J., 2003. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radic. Biol. Med.* 35, 1073–1081. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00465-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00465-9)

Moreno-Fernandez, M.E., Giles, D.A., Stankiewicz, T.E., Sheridan, R., Karns, R., Cappelletti, M., Lampe, K., Mukherjee, R., Sina, C., Sallese, A., Bridges, J.P., Hogan, S.P., Aronow, B.J., Hoebe, K., Divanovic, S., 2018. Peroxisomal β -oxidation regulates whole body metabolism, inflammatory vigor, and pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *JCI Insight* 3, 93626. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93626>

Morita, M., Imanaka, T., 2012. Peroxisomal ABC transporters: Structure, function and role in disease. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis., Metabolic Functions and Biogenesis of Peroxisomes in Health and Disease* 1822, 1387–1396. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.02.009>

[Tapez ici]

Morton, J.F., Voss, G.L., 1987. The Argan Tree (*Argania sideroxydon* , Sapotaceae), A Desert Source of Edible Oil 1 41, 221–233.

Mosser, J., Douar, A.M., Sarde, C.O., Kioschis, P., Feil, R., Moser, H., Poustka, A.M., Mandel, J.L., Aubourg, P., 1993. Putative X-linked adrenoleukodystrophy gene shares unexpected homology with ABC transporters. *Nature* 361, 726–730. <https://doi.org/10.1038/361726a0>

Motley, A.M., Hettema, E.H., 2007. Yeast peroxisomes multiply by growth and division. *J. Cell Biol.* 178, 399–410. <https://doi.org/10.1083/jcb.200702167>

Muhammad, M., 2019. Tumor Necrosis Factor Alpha: A Major Cytokine of Brain Neuroinflammation, Cytokines. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85476>

Mukherjee, P.K., 2019. Phyto-Pharmaceuticals, Nutraceuticals and Their Evaluation, in: Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs. Elsevier, pp. 707–722. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813374-3.00020-X>

n, Eunsung Mouradian, M.M., 2008. 基因的改变 NIH Public Access. *Bone* 23, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.12.025>.Lipopolysaccharide-induced

Nakajima, K., Kohsaka, S., 2001. Microglia: Activation and Their Significance in the Central Nervous System. *J. Biochem. (Tokyo)* 130, 169–175. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a002969>

Nakbi, A., Tayeb, W., Grissa, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Chargui, I., Ellouz, M., Miled, A., Hammami, M., 2010. Effects of olive oil and its fractions on oxidative stress and the liver ' s fatty acid composition in 2 , 4-Dichlorophenoxyacetic acid-treated rats. *Nutr. Metab.* 7, 80. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-80>

Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C.K., Das, N., 2019. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, 9613090. <https://doi.org/10.1155/2019/9613090>

Nascimento, M., Rodrigues, N., Espada, F., Fonseca, M., 2012. Adrenoleukodystrophy: a forgotten diagnosis in children with primary Addison's disease. *Case Rep.* 2012, bcr2012006308–bcr2012006308. <https://doi.org/10.1136/bcr-2012-006308>

Navarro, A., Gomez, C., Lo, M., Boveris, A., Gomez, C., Lo, M., 2021. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging : survival , behavior , oxidative stress , and mitochondrial electron transfer 505–511.

Nenadis, N., Mastralexi, A., Tsimidou, M.Z., 2019. Physicochemical Characteristics and Antioxidant Potential of the Greek PDO and PGI Virgin Olive Oils (VOOs). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 121, 1800172. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800172>

[Tapez ici]

Ni, J., Sasaki, Y., Tokuyama, S., Sogabe, A., Tahara, Y., 2002. Conversion of a typical catalase from *Bacillus* sp. TE124 to a catalase-peroxidase by directed evolution. *J. Biosci. Bioeng.* 93, 31–36. [https://doi.org/10.1016/s1389-1723\(02\)80050-0](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(02)80050-0)

Niki, E., 2014. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: in vitro and in vivo evidence. *Free Radic. Biol. Med., Antioxidants* 66, 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.022>

Nomaguchi, K., Tanaka, M., Misawa, E., Yamada, M., Toida, T., Iwatsuki, K., Goto, T., Kawada, T., 2011. Aloe vera phytosterols act as ligands for PPAR and improve the expression levels of PPAR target genes in the livers of mice with diet-induced obesity. *Obes. Res. Clin. Pract.* 5, e190–e201. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2011.01.002>

Noworyta-Sokołowska, K., Górska, A., Gołombiowska, K., 2013. LPS-induced oxidative stress and inflammatory reaction in the rat striatum. *Pharmacol. Rep. PR* 65, 863–869. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(13\)71067-3](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(13)71067-3)

Nury, T., Samadi, M., Zarrouk, A., Riedinger, J.M., Lizard, G., 2013. Improved synthesis and in vitro evaluation of the cytotoxic profile of oxysterols oxidized at C4 (4 α - and 4 β -hydroxycholesterol) and C7 (7-ketocholesterol, 7 α - and 7 β -hydroxycholesterol) on cells of the central nervous system. *Eur. J. Med. Chem.* 70, 558–567. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.09.028>

Nury, T., Yammine, A., Ghzaïel, I., Sassi, K., Zarrouk, A., Brahmi, F., Samadi, M., Rup-Jacques, S., Vervandier-Fasseur, D., Pais de Barros, J.P., Bergas, V., Ghosh, S., Majeed, M., Pande, A., Atanasov, A., Hammami, S., Hammami, M., Mackrill, J., Nasser, B., Andreoletti, P., Cherkaoui-Malki, M., Vejux, A., Lizard, G., 2021. Attenuation of 7-ketocholesterol- and 7 β -hydroxycholesterol-induced oxiaoptophagy by nutrients, synthetic molecules and oils: Potential for the prevention of age-related diseases. *Ageing Res. Rev.* 68, 101324. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101324>

Nury, T., Zarrouk, A., Yammine, A., Mackrill, J.J., Vejux, A., Lizard, G., 2020. Oxiaoptophagy: A type of cell death induced by some oxysterols. *Br. J. Pharmacol.* <https://doi.org/10.1111/bph.15173>

Oaxaca-castillo, D., Andreoletti, P., Vluggens, A., Yu, S., Veldhoven, P.P. Van, Reddy, J.K., Cherkaoui-malki, M., 2009. *NIH Public Access* 360, 314–319. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.06.059>. *Biochemical*

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979a. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues Thiobarbituric Acid Reaction 358, 351–358.

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979b. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues Thiobarbituric Acid Reaction 358, 351–358.

[Tapez ici]

Ohnishi, M., Matuo, T., Tsuno, T., Hosoda, A., Nomura, E., Taniguchi, H., Sasaki, H., Morishita, H., 2004. Antioxidant activity and hypoglycemic effect of ferulic acid in STZ-induced diabetic mice and KK-Ay mice. *BioFactors* 21, 315–319. <https://doi.org/10.1002/biof.552210161>

Orabi, S.H., Allam, T.S., Shawky, S.M., El-Aziz Tahoun, A., Khalifa, H.K., Almeer, R., Abdel-Daim, M.M., Borai El-Borai, N., Mousa, A.A., Eg, A.A.M., 2020a. The Antioxidant, Anti-Apoptotic, and Proliferative Potency of Argan Oil against Betamethasone-Induced Oxidative Renal Damage in Rats. *Biology* 2020, 352. <https://doi.org/10.3390/biology9110352>

Orabi, S.H., Allam, T.S., Shawky, S.M., El-Aziz Tahoun, A., Khalifa, H.K., Almeer, R., Abdel-Daim, M.M., Borai El-Borai, N., Mousa, A.A., Eg, A.A.M., 2020b. The Antioxidant, Anti-Apoptotic, and Proliferative Potency of Argan Oil against Betamethasone-Induced Oxidative Renal Damage in Rats. *Biology* 2020, 352. <https://doi.org/10.3390/biology9110352>

Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V.B., Dorantes-Álvarez, L., Giusti, M.M., 2011a. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Res. Int.* 44, 2160–2168. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.011>

Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V.B., Dorantes-Álvarez, L., Giusti, M.M., 2011b. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Res. Int.* 44, 2160–2168. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.011>

Otaegui-Arrazola, A., Menéndez-Carreño, M., A., D., Astiasarán, I., 2010. Oxysterols : A World To Explore 1–50.

Oyaizu, 1986a. studies on products of browning reaction.

Oyaizu, 1986b. studies on products of browning reaction.

Pamplona, R., Costantini, D., 2011. Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 301. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00034.2011>

Paoletti, F., Mocali, C.A., Is, E.C.I., 1986. Spectrophotometric Superoxide Dismutase Method for the Determination Activity in Tissue Extracts 541, 536–541.

Paradiso, V.M., Flamminii, F., Pittia, P., Caponio, F., Mattia, C.D., 2020a. Radical Scavenging Activity of Olive Oil Phenolic Antioxidants in Oil or Water Phase during the Oxidation of O/W Emulsions: An Oxidomics Approach. <https://doi.org/10.3390/antiox9100996>

Paradiso, V.M., Flamminii, F., Pittia, P., Caponio, F., Mattia, C. Di, 2020b. Radical Scavenging Activity of Olive Oil Phenolic Antioxidants in Oil or Water Phase during the Oxidation of O/W Emulsions: An Oxidomics Approach. <https://doi.org/10.3390/antiox9100996>

[Tapez ici]

Park, K.W., Lee, D.Y., Joe, E.H., Kim, S.U., Jin, B.K., 2005. Neuroprotective role of microglia expressing interleukin-4. *J. Neurosci. Res.* 81, 397–402. <https://doi.org/10.1002/jnr.20483>

Parrillo, J.E., 1993. Pathogenetic Mechanisms of Septic Shock. *N. Engl. J. Med.* 328, 1471–1477. <https://doi.org/10.1056/NEJM199305203282008>

Paton, B.C., Sharp, P.C., Crane, D.I., Poulos, A., 1996. Oxidation of pristanic acid in fibroblasts and its application to the diagnosis of peroxisomal beta-oxidation defects. *J. Clin. Invest.* 97, 681–688. <https://doi.org/10.1172/JCI118465>

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Rio, D. Del, Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F., 2003. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods , Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays 1 2812–2819.

Persson, M., Sandberg, M., Hansson, E., Rönnbäck, L., 2006. Microglial glutamate uptake is coupled to glutathione synthesis and glutamate release. *Eur. J. Neurosci.* 24, 1063–1070. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04974.x>

Petan, T., Jarc, E., Jusovic, M., 2018a. Lipid Droplets in Cancer : Guardians of Fat in a Stressful World 11–15. <https://doi.org/10.3390/molecules23081941>

Petan, T., Jarc, E., Jusovic, M., 2018b. Lipid Droplets in Cancer : Guardians of Fat in a Stressful World 11–15. <https://doi.org/10.3390/molecules23081941>

Pils, M.C., Pisano, F., Fasnacht, N., Heinrich, J., Groebe, L., Schippers, A., Jack, R.S., Mu, W., 2010. Monocytes / macrophages and / or neutrophils are the target of IL-10 in the LPS endotoxemia model 443–448. <https://doi.org/10.1002/eji.200939592>

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.-O., 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutr. Clin. Métabolisme* 16, 233–239. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(02\)00166-8](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(02)00166-8)

Pincemail, J., Heusele, C., Limet, R., 2001. Mise au point Stress oxydant , antioxydants V, 158–164.

Poirier, Y., Antonenkov, V.D., Glumoff, T., Hiltunen, J.K., 2006. Peroxisomal β -oxidation-A metabolic pathway with multiple functions. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1763, 1413–1426. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.08.034>

Poli, A., Visioli, F., 2015. Recent evidence on omega 6 fatty acids 11and cardiovascular risk. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 117, 1847–1852. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500049>

Poll-The, B.T., Roels, F., Ogier, H., Scotto, J., Vamecq, J., Schutgens, R.B., Wanders, R.J., van Roermund, C.W., van Wijland, M.J., Schram, A.W., 1988. A new peroxisomal disorder with enlarged

[Tapez ici]

peroxisomes and a specific deficiency of acyl-CoA oxidase (pseudo-neonatal adrenoleukodystrophy). *Am. J. Hum. Genet.* 42, 422–434.

Pujol, A., Ferrer, I., Camps, C., Metzger, E., Hindelang, C., Callizot, N., Ruiz, M., Pàmols, T., Giròs, M., Mandel, J.L., 2004. Functional overlap between ABCD1 (ALD) and ABCD2 (ALDR) transporters: a therapeutic target for X-adrenoleukodystrophy. *Hum. Mol. Genet.* 13, 2997–3006. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh323>

Purdue, P.E., Lazarow, P.B., 2001. Peroxisome Biogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 701–752. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.17.1.701>

Qian, L., Flood, P.M., Hong, J.-S., 2010. Neuroinflammation is a key player in Parkinson's disease and a prime target for therapy. *J. Neural Transm.* 117, 971–979. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0428-1>

Qin, L., Li, G., Qian, X., Liu, Y., Wu, X., Liu, B., Hong, J.-S., Block, M.L., 2005. Interactive role of the toll-like receptor 4 and reactive oxygen species in LPS-induced microglia activation. *Glia* 52, 78–84. <https://doi.org/10.1002/glia.20225>

Qu, J., Chen, W., Hu, R., Feng, H., 2016. The Injury and Therapy of Reactive Oxygen Species in Intracerebral Hemorrhage Looking at Mitochondria. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016, 2592935. <https://doi.org/10.1155/2016/2592935>

Quintero-Flórez, A., Pereira-Caro, G., Sánchez-Quezada, C., José, , Moreno-Rojas, M., Gaforio, J.J., Antonio Jimenez, , Beltrán, · Gabriel, 2018a. Effect of olive cultivar on bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic fraction of virgin olive oil. *Eur. J. Nutr.* 57, 1925–1946. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1475-2>

Quintero-Flórez, A., Pereira-Caro, G., Sánchez-Quezada, C., José, , Moreno-Rojas, M., Gaforio, J.J., Antonio Jimenez, , Beltrán, · Gabriel, 2018b. Effect of olive cultivar on bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic fraction of virgin olive oil. *Eur. J. Nutr.* 57, 1925–1946. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1475-2>

Raas, Q., Saih, F., Gondcaille, C., Trompier, D., Hamon, Y., Leoni, V., Caccia, C., Nasser, B., Jadot, M., Ménétrier, F., Lizard, G., Andreoletti, P., Savary, S., 2018. A microglial cell model for acyl-CoA oxidase 1 deficiency. *BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* #pagerange#. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2018.10.005>

Rabie, K., Mourad, K., Jemli Meryem, E., Zouhra, D., Abdelaziz, B., Yahia, C., Katim, A., 2016. Antioxidant Activities, Total Polyphenolic Compounds And Hplc/Dad/Ms Phenolic Profile of Argan Oil Derived from Two Different Methods of Extractions. Available Online www.jocpr.com *J. Chem. Pharm. Res.* 8, 173–179.

[Tapez ici]

Rachida, C., Khadija, M., Fadila, A., Abdelaziz, S., 2013a. Protective and antioxidant potential of the argan oil on induced oxidative stress in *Tetrahymena pyriformis*. *J. Med. Plants Res.* 7, 1961–1968. <https://doi.org/10.5897/jmpr12.139>

Rachida, C., Khadija, M., Fadila, A., Abdelaziz, S., 2013b. Protective and antioxidant potential of the argan oil on induced oxidative stress in *Tetrahymena pyriformis*. *J. Med. Plants Res.* 7, 1961–1968. <https://doi.org/10.5897/jmpr12.139>

Raetz, C.R., 1990. Biochemistry of endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.* 59, 129–170. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.59.070190.001021>

Ragot, K., Delmas, D., Athias, A., Nury, T., Baarine, M., Lizard, G., 2011. α -Tocopherol impairs 7-ketocholesterol-induced caspase-3-dependent apoptosis involving GSK-3 activation and Mcl-1 degradation on 158N murine oligodendrocytes. *Chem. Phys. Lipids* 164, 469–478. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2011.04.014>

Ragot, K., Mackrill, J.J., Zarrouk, A., Nury, T., Aires, V., Jacquin, A., Athias, A., De Barros, J.P.P., Vejux, A., Riedinger, J.M., Delmas, D., Lizard, G., 2013. Absence of correlation between oxysterol accumulation in lipid raft microdomains, calcium increase, and apoptosis induction on 158N murine oligodendrocytes. *Biochem. Pharmacol.* 86, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.02.028>

Rahman, M.A., Abdullah, N., Aminudin, N., 2015. Antioxidative Effects and Inhibition of Human Low Density Lipoprotein Oxidation In Vitro of Polyphenolic Compounds in *Flammulina velutipes* (Golden Needle Mushroom). *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015, e403023. <https://doi.org/10.1155/2015/403023>

Rahmani, M., 2005. Composition chimique de l'huile d'argane « vierge » 14, 461–465.

Ravi, K., Ramachandran, B., Subramanian, S., 2004. Protective effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on tissue antioxidants in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol. Pharm. Bull.* 27, 1212–1217. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1212>

Ravnskov, U., 1998. The questionable role of saturated and polyunsaturated fatty acids in cardiovascular disease. *J. Clin. Epidemiol.* 51, 443–460. [https://doi.org/10.1016/S0895-4356\(98\)00018-3](https://doi.org/10.1016/S0895-4356(98)00018-3)

RE, R., 1999a. ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL 26, 1231–1237.

RE, R., 1999b. ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL 26, 1231–1237.

Reddy, C.C., Scholz, R.W., Thomas, C.E., Massaro, E.J., 1982. Vitamin E dependent reduced glutathione inhibition of rat liver microsomal lipid peroxidation. *Life Sci.* 31, 571–576. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(82\)90486-6](https://doi.org/10.1016/0024-3205(82)90486-6)

[Tapez ici]

Reed, T.T., 2011. Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Radic. Biol. Med.* 51, 1302–1319. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.027>

Reinert, K.R.S., Umphlet, C.D., Quattlebaum, A., Boger, H.A., 2014. Short-term effects of an endotoxin on substantia nigra dopamine neurons. *Brain Res.* 1557, 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.02.005>

Richter, C., Park, J.W., Ames, B.N., 1988. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 85, 6465–6467. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.17.6465>

Rio, L.A. del, Sandalio, L.M., Corpas, F.J., Palma, M., Barroso, J.B., Ri, L.A., 2006. Reactive Oxygen Species and Reactive Nitrogen Species in Peroxisomes . Production , Scavenging , and Role 141, 330–335. <https://doi.org/10.1104/pp.106.078204>.

Rogstam, A., Larsson, J.T., Kjelgaard, P., Wachenfeldt, C. Von, 2007. Mechanisms of Adaptation to Nitrosative Stress in *Bacillus subtilis* ¶ 189, 3063–3071. <https://doi.org/10.1128/JB.01782-06>

Roscher, A., Molzer, B., Bernheimer, H., Stöckler, S., Mutz, I., Paltauf, F., 1985. The Cerebrohepatorenal (Zellweger) Syndrome: An Improved Method for the Biochemical Diagnosis and its Potential Value for Prenatal Detection. *Pediatr. Res.* 19, 930–933. <https://doi.org/10.1203/00006450-198509000-00013>

Rossi, M., Caruso, F., Kwok, L., Lee, G., Caruso, A., Gionfra, F., Candelotti, E., Belli, S.L., Molasky, N., Raley-Susman, K.M., Leone, S., Filipický, T., Tofani, D., Pedersen, J., Incerpi, S., 2017a. Protection by extra virgin olive oil against oxidative stress in vitro and in vivo. Chemical and biological studies on the health benefits due to a major component of the Mediterranean diet. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189341>

Rossi, M., Caruso, F., Kwok, L., Lee, G., Caruso, A., Gionfra, F., Candelotti, E., Belli, S.L., Molasky, N., Raley-Susman, K.M., Leone, S., Filipický, T., Tofani, D., Pedersen, J., Incerpi, S., 2017b. Protection by extra virgin olive oil against oxidative stress in vitro and in vivo. Chemical and biological studies on the health benefits due to a major component of the Mediterranean diet. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189341>

Rouiller, C., Bernhard, W., 1956. “Microbodies” and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. *J. Cell Biol.* 2, 355–360. <https://doi.org/10.1083/jcb.2.4.355>

Ryter, S.W., KIM, H.P., HOETZEL, A., PARK, J.W., NAKAHIRA, K., WANG, X., CHOI, A.M.K., 2007a. Mechanisms of Cell Death in Oxidative Stress. *Ars* 9, 691.

Ryter, S.W., KIM, H.P., HOETZEL, A., PARK, J.W., NAKAHIRA, K., WANG, X., CHOI, A.M.K., 2007b. Mechanisms of Cell Death in Oxidative Stress. *Ars* 9, 691.

[Tapez ici]

Sabeva, N.S., McPhaul, C.M., Li, X., Cory, T.J., Feola, D.J., Graf, G.A., 2011. Phytosterols differentially influence ABC transporter expression, cholesterol efflux and inflammatory cytokine secretion in macrophage foam cells. *J. Nutr. Biochem.* 22, 777–783. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.07.002>

Saeed, S., Singer, M., 2013. Mitochondria - Key roles in sepsis. *Reanimation* 22. <https://doi.org/10.1007/s13546-012-0638-7>

Saffar, S., Jafari, S.M., Bahrami, A., 2019. Evaluation of changes in the quality of extracted oil from olive fruits stored under different temperatures and time intervals 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54088-z>

Saha, R.N., Pahan, K., 2006. Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase Gene in Glial Cells. *Antioxid. Redox Signal.* 8, 929–947. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.929>

Salehi, B., Quispe, C., Sharifi-Rad, J., Cruz-Martins, N., Nigam, M., Mishra, A.P., Konovalov, D.A., Orobinskaya, V., Abu-Reidah, I.M., Zam, W., Sharopov, F., Venneri, T., Capasso, R., Kukula-Koch, W., Wawruszak, A., Koch, W., 2021. Phytosterols: From Preclinical Evidence to Potential Clinical Applications. *Front. Pharmacol.* 11.

Saliba, S.W., Jauch, H., Gargouri, B., Keil, A., Hurrle, T., Volz, N., Mohr, F., van der Stelt, M., Bräse, S., Fiebich, B.L., 2018. Anti-neuroinflammatory effects of GPR55 antagonists in LPS-activated primary microglial cells. *J. Neuroinflammation* 15, 322. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1362-7>

Salla, S., Sunkara, R., Ogotu, S., Walker, L.T., Verghese, M., 2015a. Antioxidant activity of papaya seed extracts against H₂O₂ induced oxidative stress in HepG2 cells. *LWT - Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.008>

Salla, S., Sunkara, R., Ogotu, S., Walker, L.T., Verghese, M., 2015b. Antioxidant activity of papaya seed extracts against H₂O₂ induced oxidative stress in HepG2 cells. *LWT - Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.008>

Samarghandian, S., Farkhondeh, T., Samini, F., Borji, A., 2016. Protective Effects of Carvacrol against Oxidative Stress Induced by Chronic Stress in Rat ' s Brain , Liver , and Kidney 2016.

Saravi, S.S.S., 2017. Nitric Oxide Synthase: Simple Enzyme-Complex Roles. BoD – Books on Demand.

Saurin, W., Hofnung, M., Dassa, E., 1999. Getting in or out: early segregation between importers and exporters in the evolution of ATP-binding cassette (ABC) transporters. *J. Mol. Evol.* 48, 22–41. <https://doi.org/10.1007/pl00006442>

Savran, M., Ozmen, O., Erzurumlu, Y., Savas, H.B., Asci, S., Kaynak, M., 2019. The Impact of Prophylactic Lacosamide on LPS-Induced Neuroinflammation in Aged Rats. *Inflammation* 42, 1913–1924. <https://doi.org/10.1007/s10753-019-01053-7>

[Tapez ici]

Scheitler, A., Seksik, P., Delsuc, N., Policar, C., Trans, D., 2020. Dalton Transactions. <https://doi.org/10.1039/C9DT04619D>

Schmidt, F., Dietrich, D., Eysten, R., Groemping, Y., Stehle, T., Dodt, G., 2012. The Role of Conserved PEX3 Regions in PEX19-Binding and Peroxisome Biogenesis. *Traffic* 13, 1244–1260. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2012.01380.x>

Schmitt, B., Vicenzi, M., Garrel, C., Denis, F.M., 2015. Effects of N-acetylcysteine, oral glutathione (GSH) and a novel sublingual form of GSH on oxidative stress markers: A comparative crossover study. *Redox Biol.* 6, 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.012>

Schrader, M., Fahimi, H.D., 2008. The peroxisome: Still a mysterious organelle. *Histochem. Cell Biol.* 129, 421–440. <https://doi.org/10.1007/s00418-008-0396-9>

Schrader, M., Krieglstein, K., Fahimi, H.D., 1998. Tubular peroxisomes in HepG2 cells: selective induction by growth factors and arachidonic acid. *Eur. J. Cell Biol.* 75, 87–96. [https://doi.org/10.1016/s0171-9335\(98\)80051-4](https://doi.org/10.1016/s0171-9335(98)80051-4)

Seedorf, U., Raabe, M., Ellinghaus, P., Kannenberg, F., Fobker, M., Engel, T., Denis, S., Wouters, F., Wirtz, K.W.A., Wanders, R.J.A., Maeda, N., Assmann, G., 1998. Defective peroxisomal catabolism of branched fatty acyl coenzyme A in mice lacking the sterol carrier protein-2/sterol carrier protein-x gene function. *Genes Dev.* 12, 1189–1201. <https://doi.org/10.1101/gad.12.8.1189>

Şekeroğlu, Z.A., Aydın, B., Şekeroğlu, V., 2017a. Argan oil reduces oxidative stress, genetic damage and emperipoleosis in rats treated with acrylamide. *Biomed. Pharmacother.* 94, 873–879. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.034>

Şekeroğlu, Z.A., Aydın, B., Şekeroğlu, V., 2017b. Argan oil reduces oxidative stress, genetic damage and emperipoleosis in rats treated with acrylamide. *Biomed. Pharmacother.* 94, 873–879. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.034>

Selvaraju, T.R., Khaza'ai, H., Vidyadaran, S., Mutalib, M.S.A., Vasudevan, R., 2014. The neuroprotective effects of tocotrienol rich fraction and alpha tocopherol against glutamate injury in astrocytes. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 14, 195–204. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2014.4.91>

Sewerynek, E., Abe, M., Reiter Dr., R.J., Barlow-Walden, L.R., Chen, L., McCabe, T.J., Roman, L.J., Diaz-Lopez, B., 1995. Melatonin administration prevents lipopolysaccharide-induced oxidative damage in phenobarbital-treated animals. *J. Cell. Biochem.* 58, 436–444. <https://doi.org/10.1002/jcb.240580406>

Shaftel, S.S., Griffin, W.S.T., O'Banion, M.K., 2008. The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: an evolving perspective. *J. Neuroinflammation* 5, 7. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-7>

[Tapez ici]

Shani, N., Jimenez-Sanchez, G., Steel, G., Dean, M., Valle, D., 1997. Identification of a fourth half ABC transporter in the human peroxisomal membrane. *Hum. Mol. Genet.* 6, 1925–1931. <https://doi.org/10.1093/hmg/6.11.1925>

Sharma, N., Tan, M.A., An, S.S.A., 2021. Phytosterols: Potential Metabolic Modulators in Neurodegenerative Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 12255. <https://doi.org/10.3390/ijms222212255>

Sheridan, R., Lampe, K., Shanmukhappa, S.K., Putnam, P., Keddache, M., Divanovic, S., Bezerra, J., Hoebe, K., 2011. Lampe1: an ENU-germline mutation causing spontaneous hepatosteatosis identified through targeted exon-enrichment and next-generation sequencing. *PloS One* 6, e21979. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021979>

Shi, L., Kishore, R.A.J., Mullen, M.R.M.C., Nagy, L.E., Kishore, R., McMullen, M.R., Nagy, L.E., 2021. Lipopolysaccharide stimulation of ERK1 / 2 increases TNF- α production via Egr-1 4906, 1205–1211.

Shi, X., Chen, Y., Nadeem, L., Xu, G., 2013. Beneficial effect of TNF- α inhibition on diabetic peripheral neuropathy. *J. Neuroinflammation* 10, 836. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-69>

Shichiri, M., 2014. The role of lipid peroxidation in neurological disorders. *J. Clin. Biochem. Nutr. adpub*, 14–10. <https://doi.org/10.3164/jcbn.14-10>

Shinnoh, N., Yamada, T., Yoshimura, T., Furuya, H., Yoshida, Y., Suzuki, Y., Shimozawa, N., Orii, T., Kobayashi, T., 1995. Adrenoleukodystrophy: the restoration of peroxisomal beta-oxidation by transfection of normal cDNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 210, 830–836. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1733>

Shirley, R., Ord, E.N.J., Work, L.M., 2014. Oxidative Stress and the Use of Antioxidants in Stroke. *Antioxidants* 3, 472–501. <https://doi.org/10.3390/antiox3030472>

Shuang, R., Rui, X., Wenfang, L., 2016. Phytosterols and Dementia. *Plant Foods Hum. Nutr.* 71, 347–354. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0574-1>

Sies, H., 1997. Physiological Society Symposium : Impaired Endothelial and Smooth Muscle Cell Function in Oxidative Stress Reaction of Nitric Oxide With Superoxide : *Exp. Physiol.* 13, 305–316.

Singh, J., Khan, M., Singh, I., 2009. Silencing of Abcd1 and Abcd2 genes sensitizes astrocytes for inflammation: implication for X-adrenoleukodystrophy *. *J. Lipid Res.* 50, 135–147. <https://doi.org/10.1194/jlr.M800321-JLR200>

Skjeldal, O.H., Stokke, O., Refsum, S., Norseth, J., Petit, H., 1987. Clinical and biochemical heterogeneity in conditions with phytanic acid accumulation. *J. Neurol. Sci.* 77, 87–96. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(87\)90209-7](https://doi.org/10.1016/0022-510x(87)90209-7)

[Tapez ici]

Smeriglio, A., Galati, E.M., Monforte, M.T., Lanuzza, F., D'Angelo, V., Circosta, C., 2016. Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of Cold-Pressed Seed Oil from Finola Cultivar of *Cannabis sativa* L. *Phytother. Res.* 30, 1298–1307. <https://doi.org/10.1002/ptr.5623>

Smidowicz, A., Regula, J., 2015. Effect of Nutritional Status and Dietary Patterns on Human Serum C-Reactive Protein and Interleukin-6 Concentrations. <https://doi.org/10.3945/an.115.009415.738>

Smith, E.H., Gavrillov, D.K., Oglesbee, D., Freeman, W.D., Vavra, M.W., Matern, D., Tortorelli, S., 2010. An adult onset case of alpha-methyl-acyl-CoA racemase deficiency. *J. Inherit. Metab. Dis.* 33, 349–353. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9183-6>

Söderberg, M., Edlund, C., Kristensson, K., Dallner, G., 1991. Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and in Alzheimer's disease. *Lipids* 26, 421–425. <https://doi.org/10.1007/BF02536067>

Song, L., Qu, D., Zhang, Q., Jiang, J., Zhou, H., Jiang, R., Li, Y., Zhang, Y., Yan, H., 2017. Phytosterol esters attenuate hepatic steatosis in rats with non-alcoholic fatty liver disease rats fed a high-fat diet. *Sci. Rep.* 7, 41604. <https://doi.org/10.1038/srep41604>

Sousa, N.A., Oliveira, G.A.L., de Oliveira, A.P., Lopes, A.L.F., Iles, B., Nogueira, K.M., Araújo, T.S.L., Souza, L.K.M., Araújo, A.R., Ramos-Jesus, J., Plácido, A., Amaral, C., Campelo, Y.D.M., Barbosa, E.A., Portugal, C.C., Socodato, R., Lobo, A., Relvas, J., Bemquerer, M., Eaton, P., Leite, J.R.S.A., Medeiros, J.V.R., 2020. Novel Ocellatin Peptides Mitigate LPS-induced ROS Formation and NF-κB Activation in Microglia and Hippocampal Neurons. *Sci. Rep.* 10, 2696. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59665-1>

Spittau, B., 2017. Interleukin 4-induced neuroprotection and regulation of microglia activation as a therapeutic approach in the MPTP model of Parkinson's disease. *Neural Regen. Res.* 12, 1433–1434. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.215250>

Spolarics, Z., 1998. Endotoxemia, pentose cycle, and the oxidant/antioxidant balance in the hepatic sinusoid. *J. Leukoc. Biol.* 63, 534–541. <https://doi.org/10.1002/jlb.63.5.534>

Stamer, K., Vogel, R., Thies, E., Mandelkow, E., Mandelkow, E.-M., 2002. Tau blocks traffic of organelles, neurofilaments, and APP vesicles in neurons and enhances oxidative stress. *J. Cell Biol.* 156, 1051–1063. <https://doi.org/10.1083/jcb.200108057>

Stauber, A.J., Brown-Borg, H., Liu, J., Waalkes, M.P., Laughter, A., Staben, R.A., Coley, J.C., Swanson, C., Voss, K.A., Kopchick, J.J., Corton, J.C., 2005. Constitutive expression of peroxisome proliferator-activated receptor alpha-regulated genes in dwarf mice. *Mol. Pharmacol.* 67, 681–694. <https://doi.org/10.1124/mol.104.007278>

[Tapez ici]

Steinberg, S.J., Dodt, G., Raymond, G.V., Braverman, N.E., Moser, A.B., Moser, H.W., 2006. Peroxisome biogenesis disorders. *Biochim. Biophys. Acta* 1763, 1733–1748. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.09.010>

Steinert, J.R., Chernova, T., Forsythe, I.D., 2010. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. *Neurosci. Rev. J. Bringing Neurobiol. Neurol. Psychiatry* 16, 435–452. <https://doi.org/10.1177/1073858410366481>

Subramanyam, C.S., Wang, C., Hu, Q., Dheen, S.T., 2019. Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Semin. Cell Dev. Biol., SI: Calcium signalling* 94, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.004>

Subramani, S., Koller, A., Snyder, W.B., 2000. Import of Peroxisomal Matrix and Membrane Proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 399–418. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.399>

Subramanyam, D., Gurunathan, D., Gaayathri, R., Priya, V.V., 2019. Comparative evaluation of salivary malondialdehyde levels as a marker of lipid peroxidation in early childhood caries 67–70. <https://doi.org/10.4103/ejd.ejd>

Sultan, S., Hassanal, M., Geetha, A., 2007. Evidence of oxidative and nitrosative stress in patients with cervical squamous cell carcinoma 375, 119–123. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.06.028>

Swarnkar, S., Tyagi, E., Agrawal, R., Singh, M.P., Nath, C., 2009. A comparative study on oxidative stress induced by LPS and rotenone in homogenates of rat brain regions. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 27, 219–224. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.10.003>

Szydłowska-Czerniak, A., Łaszewska, A., 2015. Effect of refining process on antioxidant capacity, total phenolics and prooxidants contents in rapeseed oils. *LWT - Food Sci. Technol.* 64, 853–859. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.069>

Szymonik-Lesiuk, S., Czechowska, G., Stryjecka-Zimmer, M., Słomka, M., Mądro, A., Celiński, K., Wielosz, M., 2003. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *J. Hepatobiliary. Pancreat. Surg.* 10, 309–315. <https://doi.org/10.1007/s00534-002-0824-5>

Tang, S.Y., Whiteman, M., Peng, Z.F., Jenner, A., Yong, E.L., Halliwell, B., 2004. Characterization of antioxidant and antiglycation properties and isolation of active ingredients from traditional chinese medicines. *Free Radic. Biol. Med.* 36, 1575–1587. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.03.017>

Tawbeh, A., Gondcaille, C., Trompier, D., 2021. Peroxisomal ABC Transporters : An Update.

Taylor, D.E., Piantadosi, C.A., 1995. Oxidative metabolism in sepsis and sepsis syndrome. *J. Crit. Care* 10, 122–135. [https://doi.org/10.1016/0883-9441\(95\)90003-9](https://doi.org/10.1016/0883-9441(95)90003-9)

[Tapez ici]

Teres, S., -Coblign, G.B., M.Benet, R.Alvarez, R.Bressani, J.Halver, 2008. Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil 105.

Terlecky, S.R., Terlecky, L.J., Giordano, C.R., 2012. Peroxisomes, oxidative stress, and inflammation. *World J. Biol. Chem.* 3, 93–97. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v3.i5.93>

Thameem Dheen, S., Kaur, C., Ling, E.-A., 2007. Microglial Activation and its Implications in the Brain Diseases. *Curr. Med. Chem.* 14, 1189–1197. <https://doi.org/10.2174/092986707780597961>

Thompson, M.D., Cooney, R.V., 2020. The Potential Physiological Role of γ -Tocopherol in Human Health: A Qualitative Review. *Nutr. Cancer* 72, 808–825. <https://doi.org/10.1080/01635581.2019.1653472>

Tichota, D.M., Silva, A.C., Sousa Lobo, J.M., Amaral, M.H., 2014. Design, characterization, and clinical evaluation of argan oil nanostructured lipid carriers to improve skin hydration. *Int. J. Nanomedicine* 9, 3855–3864. <https://doi.org/10.2147/IJN.S64008>

Trzeciak, S., Cinel, I., Dellinger, R.P., Shapiro, N.I., Arnold, R.C., Parrillo, J.E., Hollenberg, S.M., 2008. Resuscitating the microcirculation in sepsis: The central role of nitric oxide, emerging concepts for novel therapies, and challenges for clinical trials. *Acad. Emerg. Med.* 15, 399–413. <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2008.00109.x>

Tsan, M., Clark, R.N., Goyert, S.M., White, J.E., Clark, R.N., Goyert, S.M., White, J.E., 2021. Induction of TNF- α and MnSOD by endotoxin : role of membrane CD14 and Toll-like receptor-4 20422, 1422–1430.

Urata, Y., Honma, S., Goto, S., Todoroki, S., Iida, T., Cho, S., Honma, K., Kondo, T., 1999. Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 838–847. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(99\)00131-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(99)00131-8)

Ursoniu, S., Serban, M.C., 2017. The impact of argan oil on plasma lipids in humans : Systematic review and meta - analysis of randomized controlled trials 1–7. <https://doi.org/10.1002/ptr.5959>

Usharani, P., Merugu, P.L., Nutalapati, C., 2019. Evaluation of the effects of a standardized aqueous extract of *Phyllanthus emblica* fruits on endothelial dysfunction , oxidative stress , systemic inflammation and lipid profile in subjects with metabolic syndrome : a randomised , double blind , placebo c 5, 1–8.

Vallabhapurapu, S., Karin, M., 2009. Regulation and Function of NF- κ B Transcription Factors in the Immune System. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132641>

Vamecq, J., Andreoletti, P., El Kebbaj, R., Saih, F.E., Latruffe, N., El Kebbaj, M.H.S., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2018a. Peroxisomal acyl-CoA oxidase type 1: Anti-inflammatory and anti-aging properties with a special emphasis on studies with lps and argan oil as a model transposable to aging. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/6986984>

[Tapez ici]

Vamecq, J., Andreoletti, P., El Kebbjaj, R., Saih, F.E., Latruffe, N., El Kebbjaj, M.H.S., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2018b. Peroxisomal acyl-CoA oxidase type 1: Anti-inflammatory and anti-aging properties with a special emphasis on studies with lps and argan oil as a model transposable to aging. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/6986984>

Vanhorebeek, I., Vos, R. De, Mesotten, D., Wouters, P.J., Wolf-peeters, C. De, Berghe, G. Van Den, 2005. Mechanisms of Disease Protection of hepatocyte mitochondrial ultrastructure and function by strict blood glucose control with insulin in. *The Lancet* 53–59.

Varady, K.A., Houweling, A.H., Jones, P.J.H., 2007. Effect of plant sterols and exercise training on cholesterol absorption and synthesis in previously sedentary hypercholesterolemic subjects. *Transl. Res. J. Lab. Clin. Med.* 149, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2006.06.002>

Vejuh, A., Lizard, G., 2009. Cytotoxic effects of oxysterols associated with human diseases: Induction of cell death (apoptosis and/or oncosis), oxidative and inflammatory activities, and phospholipidosis. *Mol. Aspects Med.* 30, 153–170. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2009.02.006>

Venkateswaran, V., Fleshner, N.E., Klotz, L.H., 2002. Modulation of cell proliferation and cell cycle regulators by vitamin E in human prostate carcinoma cell lines. *J. Urol.* 168, 1578–15782. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000030156.80151.bb>

Vijay-Kumar, M., Vanegas, S.M., Patel, N., Aitken, J.D., Ziegler, T.R., Ganji, V., 2011. Fish oil rich diet in comparison to saturated fat rich diet offered protection against lipopolysaccharide-induced inflammation and insulin resistance in mice. *Nutr. Metab.* 8, 12–14. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-16>

Vilhardt, F., Haslund-Vinding, J., Jaquet, V., McBean, G., 2017. Microglia antioxidant systems and redox signalling. *Br. J. Pharmacol.* 174, 1719–1732. <https://doi.org/10.1111/bph.13426>

Violante, S., Achetib, N., van Roermund, C.W.T., Hagen, J., Dodatko, T., Vaz, F.M., Waterham, H.R., Chen, H., Baes, M., Yu, C., Argmann, C.A., Houten, S.M., 2019. Peroxisomes can oxidize medium- and long-chain fatty acids through a pathway involving ABCD3 and HSD17B4. *FASEB J.* 33, 4355–4364. <https://doi.org/10.1096/fj.201801498R>

Visioli, F., Lastra, C.A.D.L., Andres-Lacueva, C., Aviram, M., Calhau, C., Cassano, A., D'Archivio, M., Faria, A., Favé, G., Fogliano, V., Llorach, R., Vitaglione, P., Zoratti, M., Edeas, M., 2011. Polyphenols and Human Health: A Prospectus. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51, 524–546. <https://doi.org/10.1080/10408391003698677>

Vivancos, M., Moreno, J.J., 2005. β -Sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. *Free Radic. Biol. Med.* 39, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.025>

[Tapez ici]

Walton, P.A., Pizzitelli, M., 2012. Effects of peroxisomal catalase inhibition on mitochondrial function. *Front. Physiol.* 3, 108. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00108>

Wanders, R.J.A., Ferdinandusse, S., Brites, P., Kemp, S., 2010. Peroxisomes, lipid metabolism and lipotoxicity. *Biochim. Biophys. Acta* 1801, 272–280. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2010.01.001>

Wanders, R.J.A., Waterham, H.R., 2006. Peroxisomal disorders: The single peroxisomal enzyme deficiencies. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1763, 1707–1720. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.08.010>

Wang, D., Gao, Q., Zhao, G., Kan, Z., Wang, X., Wang, H., Huang, J., Wang, T., Qian, F., Ho, C.T., Wang, Y., 2018. Protective Effect and Mechanism of Theanine on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Acute Liver Injury in Mice. *J. Agric. Food Chem.* 66, 7674–7683. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02293>

Wang, X., Michaelis, E.K., 2010. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Front. Aging Neurosci.* 2, 12. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2010.00012>

Wilms, H., Sievers, J., Rickert, U., Rostami-Yazdi, M., Mrowietz, U., Lucius, R., 2010. Dimethylfumarate inhibits microglial and astrocytic inflammation by suppressing the synthesis of nitric oxide, IL-1 β , TNF- α and IL-6 in an in-vitro model of brain inflammation. *J. Neuroinflammation* 7, 30. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-7-30>

Wilson, G.N., Holmes, R.G., Custer, J., Lipkowitz, J.L., Stover, J., Datta, N., Hajra, A., Reynolds, J.F., 1986. Zellweger syndrome: Diagnostic assays, syndrome delineation, and potential therapy. *Am. J. Med. Genet.* 24, 69–82. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320240109>

Xu, H., Li, C., Mozziconacci, O., Zhu, R., Xu, Y., Tang, Y., Chen, R., Huang, Y., Holzbeierlein, J.M., Christian Schöneich, J.H. and B.L., 2019. Xanthine oxidase-mediated oxidative stress promotes cancer cell-specific apoptosis Haixia.

Yamauchi, Y., Matsuno, T., Omata, K., Satoh, T., 2017. Relationship between hyposalivation and oxidative stress in aging mice 61, 40–46. <https://doi.org/10.3164/jc.16>

Yang, C., Jiang, L., Zhang, H., Shimoda, L.A., DeBerardinis, R.J., Semenza, G.L., 2014. Chapter Twenty-Two - Analysis of Hypoxia-Induced Metabolic Reprogramming, in: Galluzzi, L., Kroemer, G. (Eds.), *Methods in Enzymology, Conceptual Background and Bioenergetic/Mitochondrial Aspects of Oncometabolism*. Academic Press, pp. 425–455. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416618-9.00022-4>

Yenilmez, A., Isikli, B., Aral, E., Degirmenci, I., Sutken, E., Baycu, C., 2010. Antioxidant effects of melatonin and coenzyme Q10 on oxidative damage caused by single-dose Ochratoxin A in rat kidney. *Chin. J. Physiol.* 53, 310–7.

[Tapez ici]

Yoshida, Y., Niki, E., 2003. Antioxidant effects of phytosterol and its components. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 49, 277–280. <https://doi.org/10.3177/jnsv.49.277>

Younus, H., 2018. Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International journal of health sciences*, 12(3), 88.. *Int. J. Health Sci.* 12, 88–93.

Yuan, L., Zhang, F., Shen, M., Jia, S., Xie, J., 2019a. Phytosterols Suppress Phagocytosis and Inhibit Inflammatory Mediators via ERK Pathway on LPS-Triggered Inflammatory Responses in RAW264.7 Macrophages and the Correlation with Their Structure. *Foods* 8, 582. <https://doi.org/10.3390/foods8110582>

Yuan, L., Zhang, F., Shen, M., Jia, S., Xie, J., 2019b. Phytosterols Suppress Phagocytosis and Inhibit Inflammatory Mediators via ERK Pathway on LPS-Triggered Inflammatory Responses in RAW264.7 Macrophages and the Correlation with Their Structure. *Foods* 8, 582. <https://doi.org/10.3390/foods8110582>

Zarrouk, A., Martine, L., Grégoire, S., Nury, T., Meddeb, W., Prost-Camus, E., Badreddine, A., Durand, P., Namsi, A., Yammine, A., Nasser, B., Mejri, M., Bretillon, L., Mackrill, J., Cherkaoui-Malki, M., Hammami, M., Lizard, G., 2019. Profile of Fatty Acids, Tocopherols, Phytosterols and Polyphenols in Mediterranean Oils (Argan Oils, Olive Oils, Milk Thistle Seed Oils and Nigella Seed Oil) and Evaluation of their Antioxidant and Cytoprotective Activities. *Curr. Pharm. Des.* 25. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190705192902>

Zarrouk, A., Vejux, A., Mackrill, J., O'Callaghan, Y., Hammami, M., O'Brien, N., Lizard, G., 2014. Involvement of oxysterols in age-related diseases and ageing processes. *Ageing Res. Rev.* 18, 148–162. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.09.006>

Zeb, A., 2021. A comprehensive review on different classes of polyphenolic compounds present in edible oils. *Food Res. Int.* 143, 110312. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110312>

Zhang, J., Fan, W., Neng, L., Chen, B., Wang, Y., Zuo, B., Lu, W., 2022. Adenosine improves LPS-induced ROS expression and increasing in monolayer permeability of endothelial cell via acting on A2AR. *Microvasc. Res.* 143, 104403. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2022.104403>

Zhang, J., Zheng, S., Wang, S., Liu, Q., Xu, S., 2020. Cadmium-induced oxidative stress promotes apoptosis and necrosis through the regulation of the miR-216a-PI3K/AKT axis in common carp lymphocytes and antagonized by selenium. *Chemosphere* 258, 127341. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127341>

Zhang, L., Liu, Y., Li, J.Y., Li, L.Z., Zhang, Y.L., Gong, H.Y., Cui, Y., 2018. Protective Effect of Rosamultin against H₂O₂-Induced Oxidative Stress and Apoptosis in H9c2 Cardiomyocytes 2018.

[Tapez ici]

Zhang, M., Altuwajri, S., Yeh, S., 2004. RRR- α -tocopheryl succinate inhibits human prostate cancer cell invasiveness. *Oncogene* 23, 3080–3088. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207435>

Zhang, N., Chu, E.S.H., Zhang, J., Li, X., Liang, Q., Chen, J., Chen, M., Teoh, N., Farrell, G., Sung, J.J.Y., Yu, J., 2014. Peroxisome proliferator activated receptor alpha inhibits hepatocarcinogenesis through mediating NF- κ B signaling pathway. *Oncotarget* 5, 8330–8340.

Zhou, Y., Zheng, J., Li, Y., Xu, D.-P., Li, S., Chen, Y.-M., Li, H.-B., 2016. Natural Polyphenols for Prevention and Treatment of Cancer. *Nutrients* 8, 515. <https://doi.org/10.3390/nu8080515>

Zwiewka, M., Bielach, A., Tamizhselvan, P., Madhavan, S., Dobrev, P., Vankova, R., Ryad, E.E., Tan, S., 2019a. Root Adaptation to H₂O₂-Induced Oxidative Stress by ARF-GEF BEN1- and Cytoskeleton-Mediated PIN2 Trafficking 60, 255–273. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz001>

Zwiewka, M., Bielach, A., Tamizhselvan, P., Madhavan, S., Dobrev, P., Vankova, R., Ryad, E.E., Tan, S., 2019b. Root Adaptation to H₂O₂-Induced Oxidative Stress by ARF-GEF BEN1- and Cytoskeleton-Mediated PIN2 Trafficking 60, 255–273. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz001>

Zyriax, B.C., Windler, E., 2000. Dietary fat in the prevention of cardiovascular disease - A review. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, 355–365. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1438-9312\(200005\)102:5<355::aid-ejlt355>3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/(sici)1438-9312(200005)102:5<355::aid-ejlt355>3.0.co;2-3)

Discussion

Les principaux résultats du screening phytochimique montrent que l'huile d'olive est plus riche en polyphénols et en flavonoïdes que l'huile d'argan. Les polyphénols possèdent une activité antioxydante qui atténuent les dommages causés par les radicaux libres aux niveaux macromoléculaire (Visioli et al., 2011). La teneur en polyphénols totale de l'huile d'olive varie entre 100 et 1000 mg/kg d'huile (Nenadis et al., 2019). Les résultats trouvés sont en accord avec les résultats trouvés par (Marfil et al., 2011b). L'activité antioxydante et le pouvoir de piégeage des radicaux libres de l'HO et l'HA a été évalué par les tests (DPPH, FRAP et ABTS), nos données montrent que l'huile d'olive possède un pouvoir de piégeage du radical DPPH• et de réduction de fer supérieur à celui de l'HA, en revanche l'HA montrait un pourcentage d'inhibition du cation ABTS•+ supérieur à celui de l'HO, L'effet de piégeage radicalaire de l'HA observé ici peut être expliqué par sa richesse en tocophérol total, qui varie de 427,0 mg/kg à 654,0 mg/kg (Cayuela et al., 2008b).

En outre l'activité antioxydante de l'HA et l'HO s'est traduite par une baisse de production des ERO intracellulaire induite par le H₂O₂ dans les cellules de *T. Pyriformis*. Le H₂O₂ favorise la génération des ERO qui provoque un stress oxydatif, une cytotoxicité et conduit à la mort cellulaire (Ahamed et al., 2020b; Coyle et al., 2006b). Le pouvoir de piégeage des radicaux libres observé ici fait référence à la composition unique de l'huile d'argan notamment sa richesse en composés mineurs tels que les tocophérols, les stérols (schottenol et spinastérol) et les phénols qui ont tous des propriétés antioxydantes (A. E. Midaoui et al., 2017; Orabi et al., 2020b). De plus, il existe un grand nombre d'études qui lient l'activité de piégeage des radicaux libres de l'HO à sa teneur en polyphénols (Haman et al., 2017b; Rossi et al., 2017b). La sonde Nile red a été utilisée pour la détection de gouttelettes lipidiques intracellulaires par microscopie à fluorescence. Nos résultats montrent une forte augmentation de l'accumulation des gouttelettes lipidiques chez les cellules traitées avec le H₂O₂ contrairement au SNP. Le stress oxydatif promeut l'accumulation des gouttelettes lipidiques (Lee et al., 2013b). D'autre part l'évaluation de la peroxydation lipidique par dosage de son marqueur MDA indique une forte augmentation induite par le H₂O₂, et totalement inversée par le cotraitement avec l'HA et l'HO, grâce à sa richesse en AGPI l'huile d'argan joue un rôle de stabilisateur des membranes cellulaires (Eljaoudi et al., 2015). Enfin l'immunolocalisation et l'évaluation de l'activité des enzymes antioxydantes (Cat, SOD et GPX) révèlent une forte augmentation après le traitement avec le H₂O₂ cette augmentation a été significativement atténuée chez les cellules co-traitées avec l'HA ou l'HO, hors le traitement avec le SNP induit une diminution de l'expression et

[Tapez ici]

l'activité de ces derniers, une diminution qui a été compensée par le traitement avec les deux huiles. Le H₂O₂ est connu pour sa capacité à induire un stress oxydatif chez *T. Pyriformis* et de nombreux autres modèles cellulaires (Salla et al., 2015b; Zwiewka et al., 2019b). L'élévation de l'activité des enzymes antioxydantes peut être observée ici comme un signe de l'existence d'une forte perturbation de l'équilibre redox de la cellule, que les cellules tentent de contester par l'augmentation des activités (CAT, SOD et GPX). Les résultats trouvés sont en accord avec les résultats trouvés par (Grina et al., 2020b).

Article 2 : Effet de l'huile d'argan sur l'inflammation et la dérégulation de la fonction peroxysomale cérébrale et hépatique induite par le LPS chez la souris

Introduction

Dans le premier chapitre, il a été montré que l'huile d'argan possède un effet protecteur contre la perturbation du statut antioxydant induite par le peroxyde d'hydrogène et le nitroprusside de sodium chez *T. pyriformis*. Ces effets ont été traduits par la protection des cellules par l'huile d'argan contre l'élévation de la production des ERO et de l'accumulation des AG sous forme de gouttelette lipidique, aussi par l'atténuation de l'activité des enzymes antioxydantes (CAT, SOD, et la GPX) induite par le H₂O₂.

Le second chapitre s'inscrit dans la continuité de ces travaux et a pour objectif l'exploration de l'activités potentielle neuro- et hépato-protectrice de l'huile d'argan (comparé avec l'huile d'olive et l'huile de colza), contre la dérégulation de la fonction peroxysomale et la réponse inflammatoire dans une septicémie induite par le LPS à court terme *in-vivo*. Le mécanisme physiopathologique de la septicémie a été imité chez un modèle animal qui est la souris injectée avec du LPS bactérien. Nos études antérieures ont apporté des preuves convaincantes des mécanismes de protection de l'huile d'argan contre les lésions hépatiques induites par le LPS (El Kamouni et al., 2017b; El Kebbaj et al., 2015). Hors l'effet de l'huile d'argan sur la l'inflammation et la fonction peroxysomale cérébrales dérégulé par le LPS n'a pas encore été étudié.

Pour étudier l'impact des prétraitements avec les huiles et/ou l'induction avec le LPS sur le statut redox et la réponse inflammatoire dans le cerveau et le foie des souris. Nous avons évalué en premier lieu le taux du GSH et le taux de la peroxydation lipidique par dosage du MDA, ensuite le niveau du transcrit du marqueur principal de l'inflammation TNF α a été évalué dans les deux organes, ainsi que l'IL10 dans le foie. Dans le peroxysome nous avons évalué l'expression de l'ARNm de la CAT et l'*Acox1* impliqué dans la β -oxydation ainsi que la SOD dans le cerveau, la fonction peroxysomale a été évaluée aussi dans le cerveau et le foie par la quantification de l'expression des deux transporteurs des AGTLC peroxysomales (ABCD1 et ABCD2) et des enzymes peroxysomales CAT et *Acox1* par western blotting. Enfin l'activité antioxydante de la CAT, la SOD et la GPX a été mesurée dans le cerveau et le foie, ces enzymes

[Tapez ici]

jouent un rôle important dans le maintien d l'équilibre redox dans les cellules leur induction ou inhibition est un signe alarmant de la perturbation de l'équilibre pro-antioxydant d'une cellule.






pharmaceuticals



Article

Effects of a Short-Term Lipopolysaccharides Challenge on Mouse Brain and Liver Peroxisomal Antioxidant and β -oxidative Functions: Protective Action of Argan Oil

Soukaina Essadek ^{1,2}, Habiba Bouchab ¹ , Riad El Kebbaj ^{1,3} , Catherine Gondcaille ², Soufiane El Kamouni ¹, Stéphane Savary ² , Joseph Vamecq ^{4,5} , Abdelkhalid Essamadi ¹, Mustapha Cherkaoui-Malki ^{2,*} , Boubker Nasser ^{1,†} and Pierre Andreoletti ^{2,*†}



https://www.mdpi.com/article/10.3390/ph15040465?type=check_update&version=2

https://www.mdpi.com/article/10.3390/ph15040465?type=check_update&version=2

Kamouni, S.; Savary, S.; Vamecq, J.; Essamadi, A.; Cherkaoui-Malki, M.; Nasser, B.; et al. Effects of a Short-Term Lipopolysaccharides Challenge on Mouse Brain and Liver Peroxisomal Antioxidant and β -oxidative Functions: Protective Action of Argan Oil. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*, 465. <https://doi.org/10.3390/ph15040465>

Academic Editor: Daniela De Vita

Received: 28 February 2022 Accepted: 5 April 2022

Published: 12 April 2022

Citation: Essadek, S.; Bouchab, H.; El Kebbaj, R.; Gondcaille, C.; El

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

¹. Introduction

Sepsis is a life-threatening inflammatory disorder representing the immune response to infection, it is a leading cause of hospitalization, disability, and death worldwide [1,2].



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

- ¹ Laboratoire Biochimie, Neurosciences, Ressources Naturelles et Environnement, Faculté des Sciences et Techniques, Université Hassan I, BP577, Settat 26000, Morocco; ess.soukaina@hotmail.fr (S.E.); habibabouchab78@gmail.com (H.B.); elkebbajriad@gmail.com (R.E.K.); eks.soufiane@gmail.com (S.E.K.); essamadi@uhp.ac.ma (A.E.); boubker_nasser@hotmail.com (B.N.)
- ² Laboratoire Bio-PeroxiL EA7270, University Bourgogne Franche-Comté, 6 Bd Gabriel, 21000 Dijon, France; [catherine.gondcaille@u-](mailto:catherine.gondcaille@u-bourgogne.fr)

[bourgogne.fr](mailto:stsavary@u-bourgogne.fr) (C.G.); stsavary@u-bourgogne.fr (S.S.)

³ Laboratory of Health Sciences and Technologies, Higher Institute of Health Sciences, Hassan First University, Settat 26000, Morocco

⁴ INSERM and HMNO, CBP, CHRU Lille, 59037 Lille, France; joseph.vamecq@inserm.fr

⁵ RADEME EA 7364, Faculté de Médecine, Université de Lille 2, 59045 Lille, France

* Correspondence: malki@u-bourgogne.fr (M.C.-M.); pierre.andreoletti@u-bourgogne.fr (P.A.); Tel.: +33-380-39-6237 (M.C.-M.); +33-380-39-6255 (P.A.) † Co-senior authors.

Abstract: During sepsis, the imbalance between oxidative insult and body antioxidant response causes the dysfunction of organs, including the brain and liver. Exposing mice to bacterial lipopolysaccharides (LPS) results in a similar pathophysiological outcome. The protection offered by argan oil was studied against LPS-induced oxidative stress, dysregulation of peroxisomal antioxidants, and β -oxidation activities in the brain and liver. In a short-term LPS treatment, lipid peroxidation (malonaldehyde assay) increased in the brain and liver with upregulations of proinflammatory *tumor necrosis factor (Tnf)- α* and anti-inflammatory *interleukin (Il)-10* genes, especially in the liver. Although exposure to olive oil (OO), colza oil (CO), and argan oil (AO) prevented LPS-induced lipid peroxidation in the brain and liver, only AO exposure protected against liver inflammation. Remarkably, only exposure to AO prevented LPS-dependent glutathione (GSH) dysregulation in the brain and liver. Furthermore, exposure to AO increased more efficiently than OO and CO in both organs, peroxisomal antioxidant capacity via induction of catalase (*Cat*) gene, protein and activity expression levels, and superoxide dismutase (*Sod1*) mRNA and activity levels. Interestingly, LPS decreased protein levels of the peroxisomal fatty acid-ATP binding cassette (ABC) transporters, ABCD1 and ABCD2, and increased acyl-CoA oxidase 1 (ACOX1) protein expression. Moreover, these LPS effects were attenuated for ABCD1 and ACOX1 in the brain of mice pretreated with AO. Our data collectively highlight the protective effects of AO against early oxidative stress caused by LPS in the brain and liver and their reliance on the preservation of peroxisomal functions, including antioxidant and β -oxidation activities, making AO a promising candidate for the prevention and management of sepsis.

Keywords: argan oil; antioxidant; Acyl-CoA oxidase 1; brain; beta-oxidation; catalase; peroxisome; LPS; superoxide dismutase; glutathione peroxidase

Septic shock is linked to a broad spectrum of cerebral damage and dysfunction [1]. Following host exposure to endotoxins (lipopolysaccharides, LPS), an acute syndrome [3] may develop, which encompasses a cytokine response and a burst of reactive oxygen species (ROS) causing tissue injury [4]. In the host developing an acute sepsis syndrome, preservation of homeostasis depends on the body's capacity to fine-tune and cope with the altered balance between inflammatory cytokine response, severe dysregulation of lipid metabolism, and yield of reactive oxygen species (ROS). Interestingly, peroxisome is a cell compartment containing at the same time oxidase enzymes involved in the generation of ROS and another set of enzymes able to metabolize H₂O₂ and other cell-damaging oxidant species [5]. One of the major peroxisomal functions is the β -oxidation of very-long-chain fatty acids (VLCFA). These VLCFA are transported through peroxisomal membrane by fatty acid ABC transporters ABCD1 or

[Tapez ici]

ABCD2. Then, these fatty acyl-CoAs are β -oxidized by the first enzyme ACOX1, which generates both enoyl-CoA and hydrogen peroxide (H_2O_2). Degradation of H_2O_2 is accomplished by the peroxisomal catalase [6]. In addition, ROS-scavenging peroxisomal enzymes include glutathione peroxidase (GPx), Cu-Zn superoxide dismutase (SOD), epoxide hydrolase, peroxiredoxin I, and peroxisomal membrane protein 20 [7]. This reveals that the balance between peroxisomal β -oxidative and antioxidative activities play a key role in cellular ROS homeostasis. Defects in peroxisome biogenesis or activity of peroxisomal enzymes may be associated with peroxisomal neurodegenerative diseases characterized by progressive demyelination [6,8]. The defect in peroxisomal β -oxidation system was reported in several leukodystrophies, leading to a deficiency in VLCFA degradation. Such deficiency was linked to a defect in ABCD1 peroxisomal VLCFA transport (X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD)) or metabolism (ACOX1 deficiency) [6,8]. In rat liver, LPS affects peroxisome functions through alterations of the peroxisomal membrane composition (both in fatty acid and phospholipid content) and the decreased peroxisomal proteins expression [9]. Previously, Khan et al. [9] have shown that LPS strongly repressed ACOX1 and the oxidation of VLCFAs in rat C6 glial cells. More recently, we have reported the reduced expression of genes involved in hepatic peroxisomal fatty acid oxidation in mice exposed to LPS [10].

Virgin edible argan oil (AO) is a vegetable oil extracted by cold-pressing roasted kernel of argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels; Sapotaceae), an endemic tree to Morocco. However, culture of argan was principally disseminated in Israel, South Africa, and Tunisia. AO plays an important socio-economic role for the Amazigh population in the southwestern region of Morocco [11]. This oil comprises triacylglycerols (99%), containing balanced proportions of polyunsaturated fatty acids, principally oleic (44.8%) and linoleic acids (33.7%) [12]. Interestingly, the non-saponifiable fraction of AO, which constitutes 1% of total components, exhibits a high antioxidant activity [13,14]. In addition to phytosterols (Schottenol and Spinasterol) and phenols (ferulic, syringic, and vanillic acids), this fraction contains mainly tocopherols (α , β , γ and δ) present in a higher proportion than in olive oil [12,15].

Clinically, AO prevents cardiovascular disease [16], due to its unique composition of unsaturated fatty acids endowed with protective properties against LDL oxidation, stimulating properties towards reverse cholesterol transport, and increasing high-density lipoprotein (HDL) cholesterol level [13]. Epidemiological studies showed that regular consumption of edible olive oil could have significant protective effects against several types of cancer [17]. Since composition of argan and olive oils revealed common constituents with antioxidant and anti-inflammatory properties, an antiproliferative effect was attributed to argan oil [12]. Numerous studies have now highlighted the antioxidant effect of AO [13,16,18]. On the other hand, we previously reported in LPS-associated sepsis the beneficial effect of AO in preserving hepatic mitochondrial and peroxisomal activities, improving gluconeogenic gene expression, and recovering gene expressions of nuclear receptors PPAR α and ERR α , and their coactivator PGC-1 α [10]. Furthermore, we have shown that mice fed with standard chow supplemented with 6% (w/w) AO for 25 days protects against the dysregulation of antioxidant capacities and inflammatory status 16 h post-LPS injection [10].

AO's liver antioxidant and anti-inflammatory effects were already explored [10,18–20]. To date, sepsis-associated brain peroxisome dysfunction has been reported [21,22], but a study of the potential protective effect of AO on the brain is still lacking. Here, we studied the short-term effect of LPS on the peroxisomal functions of the brain and liver in mice. The potential protective effect of AO against LPS was compared to other common edible oils, OO and CO. Thus, both OO and CO have different fatty acid compositions, regarding AO. In addition, OO is well-known as a Mediterranean diet component, while CO has become the most consumed oil in Europe [23]. The antioxidant capacity in the brain and liver was assessed by measuring antioxidant enzymes activities and reduced glutathione. The expression of genes and proteins related to the peroxisomal functions and those involved in oxidative stress and inflammation were also evaluated.

2. Results

The hepato-protective effect of AO after a 16 h LPS-induced sepsis (16 h) was described in previous reports [10,18]. Here, we attempted to evaluate the protective effect of AO on the brain and liver in a short-term 4 h post-LPS injection. The effects of argan oil and two additional standard edible oils, olive and colza, on several metabolic and peroxisomal antioxidant markers in both brain and liver were compared. Table 1 reported the chemical analysis of these oils, showing a unique fatty acid profile of AO with 32.2% of C18:2n-6 and 46.4% of C18:1n-9, while OO and CO reveal only 9.95% and 19% of C18:2n-6, and 76.35% and 63% of C18:1n-9, respectively. Two groups of mice received each for 28 days a standard chow supplemented or not with 6% (w/w) of one of the three compared oils (AO, OO, or CO). Four hours before euthanasia, mice from the first group received an injection of 100 µg LPS via tail vein, while the control group received only an injection of PBS.

Table 1. Composition of oils.

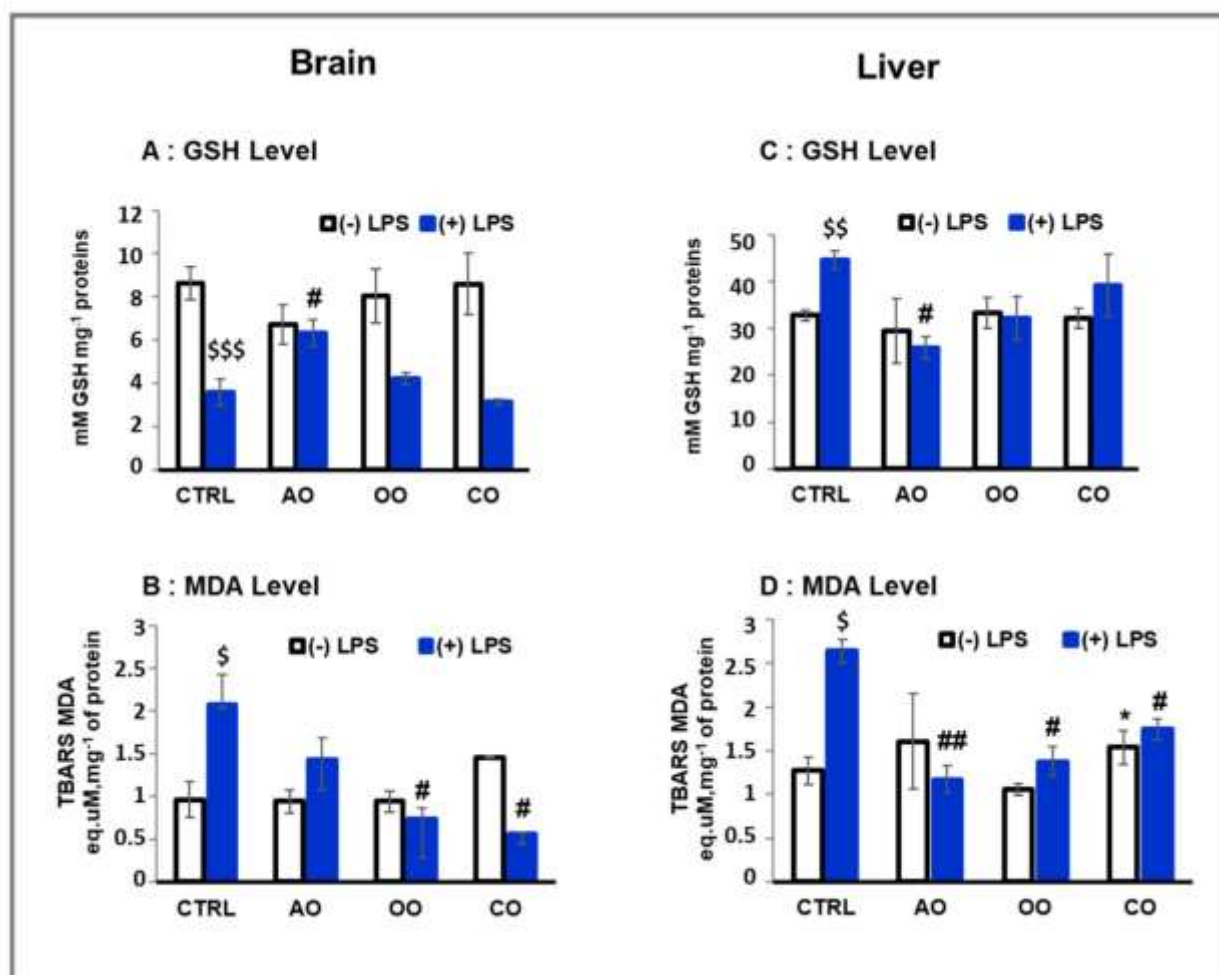
Fatty Acids (g/100 g Oil)	Argan Oil	Olive Oil	Colza Oil
Myristic acid C14:0	0.1	-	-
Palmitic acid C16:0	13.4	9.09	4.5
Palmitoleic acid C16:1 n-7	0.1	0.73	0.3
Stearic acid C18:0	6.5	2.26	1.6
Oleic acid C18:1n-9	46.4	76.35	63
Linoleic acid C18:2n-6	32.2	9.95	19
Linolenic acid C18:3 n-3	0.1	0.86	9
Arachidic acid C20:0	0.4	0.31	0.5
Eicosenoic acid C20:1	0.4	0.35	1.3
Phytosterol (mg/100 g oil) Cholesterol	-	0.06	0.3
Brassicasterol	-	-	10.1
Campesterol	0.2	3.21	34.4
Campestanol	-	0.04	-
Stigmasterol	-	1.59	0.2
b-Sitosterol	-	84.77	44.5

[Tapez ici]

Δ -5-Avenasterol	-	5.23	3.1
Δ -7-Stigmasterol	-	0.24	0.1
Δ -7-Avenasterol	4.2	0.336	0.1
Spinasterol	35.3	-	-
Schottenol	43.8	-	-
Tocopherol (mg/Kg oil) α -Tocopherol	8.3	87.92	24.03
γ -Tocopherol	88.8	4.62	69.01
δ -Tocopherol	1.2	7.46	6.96

2.1. Oxidative Stress and Inflammatory Biomarkers

LPS-treated groups showed a significant decrease (41%; $p < 0.001$) in the brain GSH levels (Figure 1A). By contrast, the liver of LPS-treated mice revealed a significant increase (136%; $p < 0.01$) of GSH level compared to the control group (Figure 1C). In both brain and liver, treatment of mice with AO, OO, or CO did not affect the level of GSH. However, in both the brain and liver of LPS-treated mice, the pretreatment with argan oil maintained the GSH content at the level observed in the control mice (p



< 0.05) (Figure 1A,C). In addition, although pretreatments with OO or CO helped to maintain liver GSH content near the control level, these oils failed to maintain control levels of GSH in the brains of LPS-treated mice (Figure 1A,C).

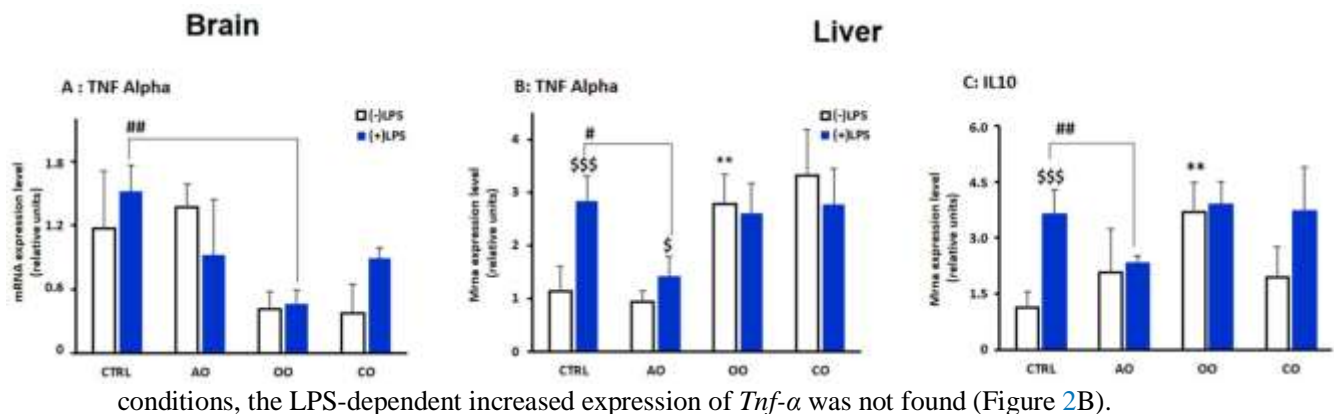
[Tapez ici]

Figure 1. Effect of argan oil, olive oil, and colza oil treatments on GSH level (**A,C**) and lipid peroxidation (**B,D**) in brain and liver. Male C57BL/6 mice received for 28 days a standard diet (control: CTRL), a diet enriched with 6% (*w/w*) AO, OO, or CO, and an intravenous injection of LPS (100µg) four hours antemortem. All values are means \pm SD ($n = 3$), Statistical significance of higher mean signal strength (* $p \leq 0.05$) compared to control, (## $p \leq 0.01$, # $p \leq 0.05$) compared to LPS and (\$\$\$ $p \leq 0.001$, \$\$ $p \leq 0.01$, \$ $p \leq 0.05$) compared to the different treatments with or without LPS administration.

Lipid peroxidation was estimated by measuring the malonaldehyde (MDA) levels in the brains and livers from AO, OO, and CO and comparing them to the control group of mice. LPS administration led to a significant increase in MDA levels (215% and 207%. $p < 0.05$) in the mouse brain and liver, respectively (Figure 1B,D), compared to the control group. However, after 28 days of treatment, neither AO nor OO administration significantly affected MDA levels in both brain and liver tissues (Figure 1B,D). Only CO administration

revealed a significant increase (120%, $p < 0.05$) in MDA levels in the liver compared to the mice control group (Figure 1B,D). Interestingly, LPS-dependent increase in MDA level was attenuated in the brain of animals pretreated with vegetal oil: AO-LPS group by 64% ($p < 0.01$), OO-LPS by 65% ($p < 0.05$), and by 73% ($p < 0.05$) in CO-LPS group. In conclusion, each of the three oils (AO, OO or CO) prevented the LPS-induced MDA level with a counteracting effect more important for CO and OO in the brain than in the liver of LPS-treated mice (Figure 1B,D). Both OO and CO have in common in their composition of β -sitosterol, by contrast to AO that does not contain this compound. Interestingly, recent data showed that the presence of β -sitosterol reduces malondialdehyde overproduction during liver injury [24].

Transcriptional levels of the proinflammatory marker tumor necrosis factor- α (*Tnf- α*) were determined in the brain and liver (Figure 2A,B). Intriguingly, LPS treatment did not significantly affect brain *Tnf- α* mRNA levels (Figure 2A). Of note, the basal expression level of *Tnf- α* was reduced in OO- and CO-treated mice (Figure 2A). By contrast, in the liver, LPS significantly increased ($p < 0.01$) TNF α levels in control mice. This LPS transcriptional effect was prevented by AO pretreatment ($p < 0.05$) (Figure 2B). Pretreatments with either OO or CO increased liver *Tnf- α* mRNA content. In these



conditions, the LPS-dependent increased expression of *Tnf- α* was not found (Figure 2B).

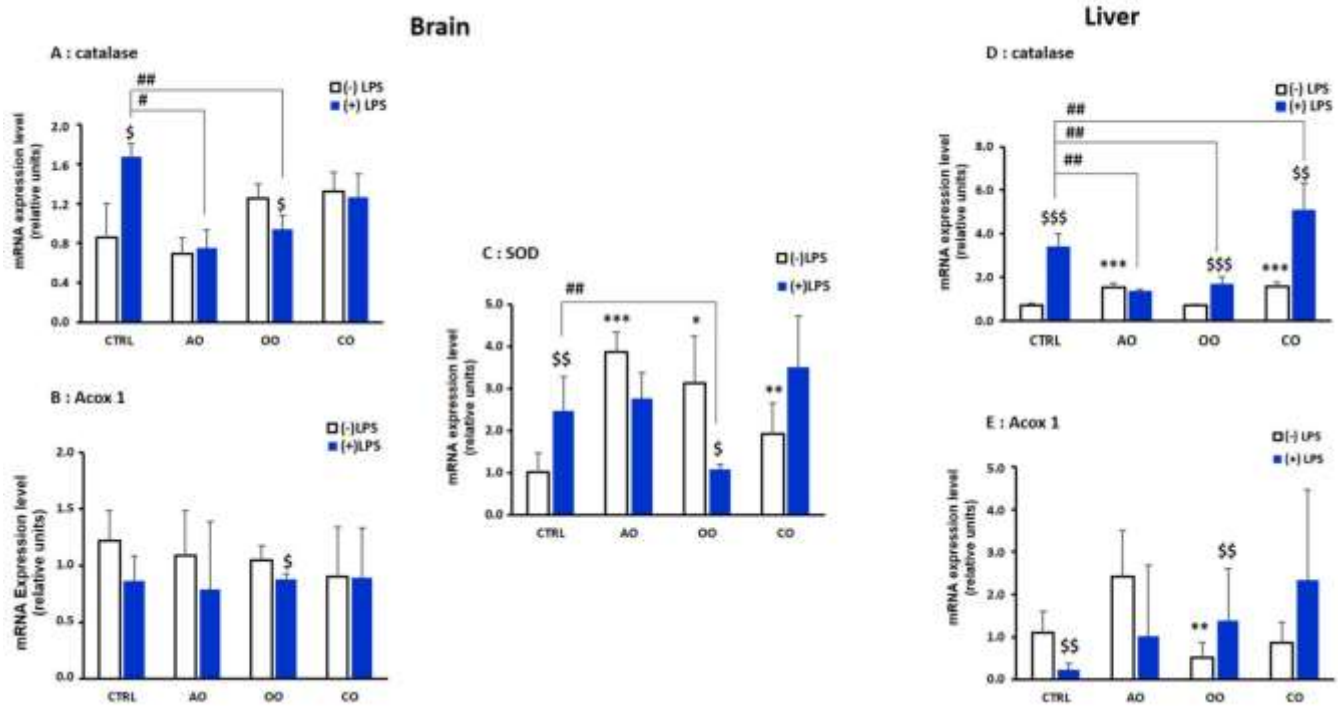
Figure 2. Effect of argan oil, olive oil, or colza oil treatment on gene expression of the proinflammatory marker *Tnf- α* (A,B) in the brain and liver, respectively, and on the anti-inflammatory marker *Il-10* in the liver (C). Male C57BL/6 mice received for 28 days a standard diet (control (CTRL)), a diet enriched with 6% (w/w) AO, OO, or CO, and intravenous injection of LPS (100 μ g) four hours antemortem. First, total RNA was isolated from mice brains or livers, and then the expression level of genes of interest was quantified by real-time RT-qPCR. All values are means \pm SD ($n = 3$). Statistical significance of higher mean signal strength (** $p \leq 0.01$) compared to control, (## $p \leq 0.01$, # $p \leq 0.05$) Compared to LPS and (\$\$\$ $p \leq 0.001$, \$ $p \leq 0.05$) compared to the different treatments with or without LPS administration.

Anti-inflammatory interleukin-10 (IL-10) mRNA levels in the brain but not the liver were below the detectable threshold. In the liver, LPS treatment also increased the mRNA expression of *Il-10* ($p < 0.01$). Only OO treatment significantly induced *Il-10* mRNA level ($p < 0.01$), while AO or CO treatment did not show significant changes (Figure 2C). Both OO-LPS and CO-LPS groups showed similar levels compared to the LPS-treated group. In comparison, AO-LPS conveyed a downregulation of *Il-10* mRNA expression compared to the LPS-treated group ($p < 0.01$) (Figure 2C).

[Tapez ici]

2.2. Brain and Liver Gene Expression of Peroxisomal Protein-Encoding Genes

Next, we investigated by RT-qPCR the effect of LPS and oil treatments on the expression of three peroxisomal genes encoding for CAT, SOD1, and ACOX1. In both the brain and liver, catalase mRNA expression was significantly induced by LPS (Figure 3A,D). However, only in the livers of OO and CO treatment groups, *Cat* mRNA was induced ($p < 0.001$) (Figure 3A,D). Pretreatment with AO or OO counteracted the LPS-induced catalase induction in the brain as well as in the livers of AO-LPS



treated group and the OO-LPS group, respectively ($p < 0.01$) (Figure 3A,D). In the brain, *Sod1* mRNA expression (Figure 3C) was upregulated in all the oil treatment (AO and OO groups ($p < 0.01$), CO ($p < 0.05$)) (Figure 3C) and were induced further by LPS challenge. The OO-LPS treated group exhibited a significant decrease ($p < 0.01$) in *Sod1* mRNA expression compared with the LPS-treated group (Figure 3C).

Figure 3. Effect of argan oil, olive oil, or colza oil treatment on gene expression of *Cat* (A,D) and *Acox1* (B,E) in brain and liver, respectively, and *Sod* in the brain (C). Male C57BL/6 mice received for 28 days a standard diet (control (CTRL)), a diet enriched with 6% (w/w) AO, OO, or CO, and intravenous injection of LPS (100 μ g) four hours antemortem. First, total RNA was isolated from mice brains and livers, and then the expression level of genes of interest was quantified by real-time RT-qPCR. All values are means \pm SD ($n = 3$). Statistical significance of higher mean signal strength (***) $p \leq 0.001$. ** $p \leq 0.01$. * $p \leq 0.05$) compared to control, (## $p \leq 0.01$. # $p \leq 0.05$) Compared to LPS and (\$\$\$ $p \leq 0.001$. \$\$ $p \leq 0.01$. \$ $p \leq 0.05$) compared to the different treatments with or without LPS administration.

Brain *Acox1* mRNA expression did not show significant changes after LPS administration or oils treatments alone (Figure 3B). In response to LPS injection, hepatic *Acox1* mRNA level was significantly reduced ($p < 0.001$) in the LPS vs. control group. *Acox1* mRNA expression was significantly downregulated after OO treatment, while there was a non-significant increase after AO treatment, and after CO treatment there was no change (Figure 3E). *Acox1* mRNA expression did not significantly



[Tapez ici]

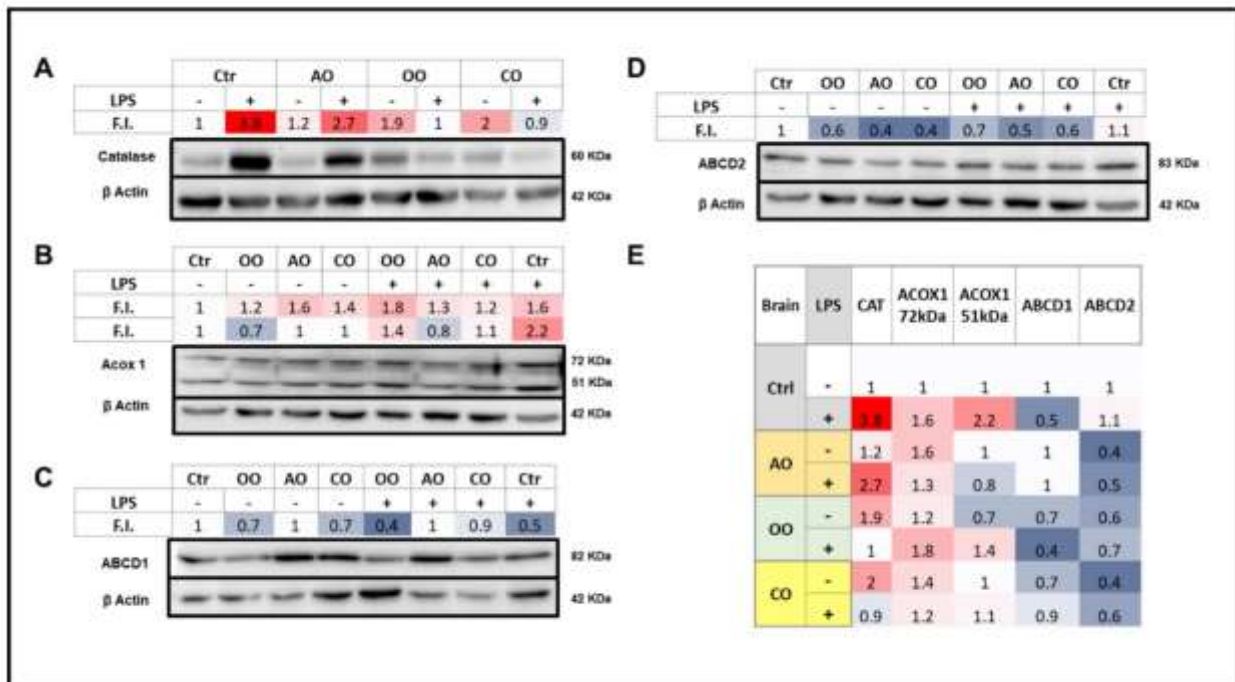
increase in oil-pretreated animals injected with LPS (AO-LPS, OO-LPS and CO-LPS groups) vs. LPS group (Figure 3E).

2.3. Brain and Liver Expressions of Peroxisomal Proteins

Levels of peroxisomal proteins involved in the fatty acid β -oxidation (ABCD1, ABCD2, and ACOX1) or H_2O_2 -degrading enzyme (CAT) were assessed by immunoblotting. ACOX1, a 72 kDa polypeptide, is structurally imported into peroxisomes and partially processed into 51 and 21 kDa protein products. ACOX1 exists as a dimer, composed of only 72 kDa polypeptides or a combination of 72, 51, and 21 kDa polypeptides [25]. Therefore, an increased signal for 51 kDa peptide could reflect increased processing of the 72 kDa parent protein.

2.3.1. Brain

LPS treatment increased brain expression of catalase and both ACOX1 72 and 51 kDa peptides, reduced the expression of ABCD1, and did not affect ABCD2 protein levels (Figure 4). Brain catalase protein expression was increased by OO or CO treatment and to a lesser extent by AO treatment. However, AO was the only oil that did not abolish the LPS-induced rise in catalase levels, and instead maintained the bulk of it (Figure 4). AO, CO, and to a lesser extent OO treatments increased the ACOX1 72 kDa level, while none of the three oils was able to increase the levels of ACOX1 51 kDa polypeptide. Both ACOX1 72 and 51 kDa peptide levels were induced by LPS administration; the highest induction of the 51 vs. 72 kDa peptide suggested a rise in the putative ACOX1 processing rates. LPS-AO and LPS-CO pretreated mice showed a lesser increase in brain ACOX1 72 kDa, in contrast to OO-LPS mice that



exhibited net inductions of both ACOX1 72 and 51 kDa polypeptides (Figure 4).

Figure 4. Effect of argan oil, olive oil or colza oil treatment on brain expressions of peroxisomal proteins, CAT (A), ACOX1 (B), ABCD1 (C), ABCD2 (D) and the heatmap for all protein expression (E). Male C57BL/6 mice received for 28 days a standard diet



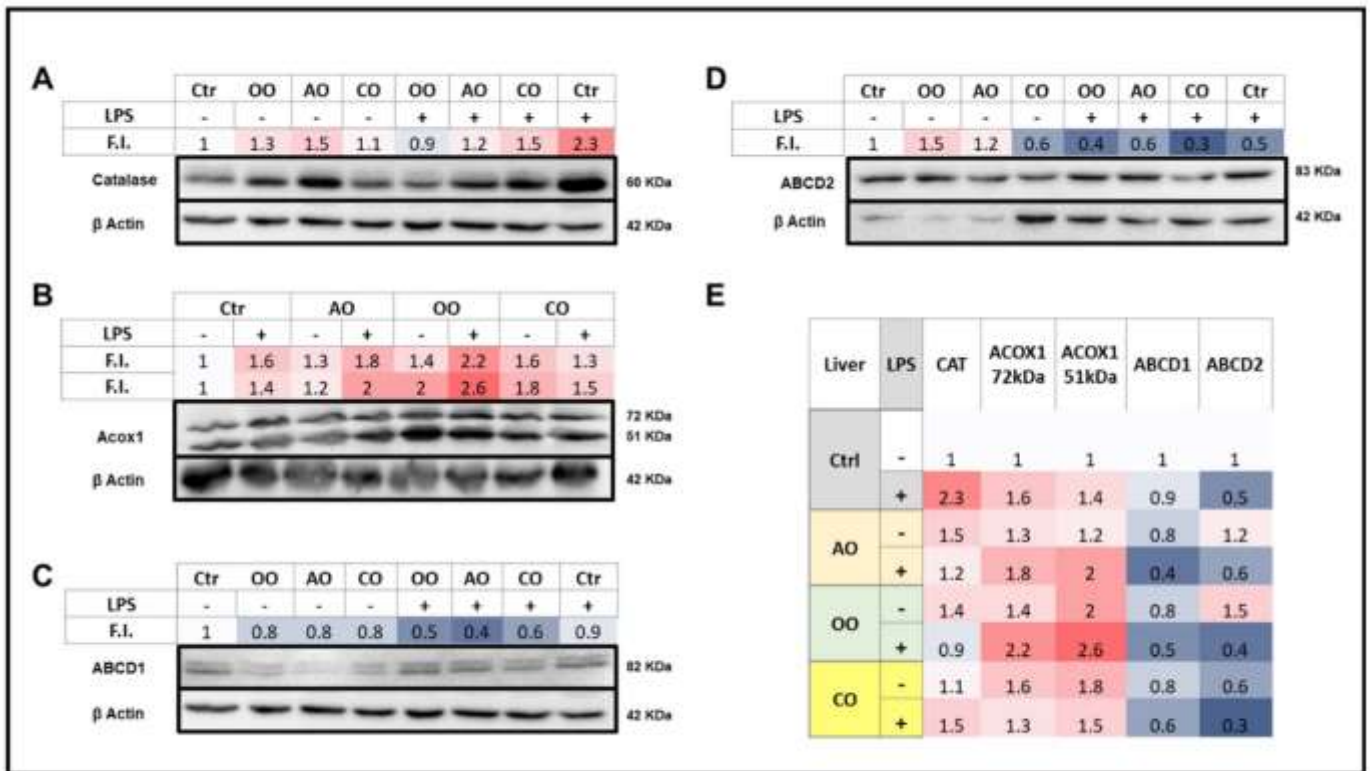
[Tapez ici]

(control (CTRL)), a diet enriched with 6% (*w/w*) AO, OO, or CO, and intravenous injection of LPS (100 µg) four hours antemortem. Brain homogenates were separated in PAGE-SDS electrophoresis and subjected to immunoblotting as described in Section 4. Band intensities were analyzed by densitometry and standardized to β-actine expression level. Tables represent the standardized densitometric analysis obtained after signal intensity quantification of different proteins.

For ABCD1 protein levels in the brain, AO treatment alone and pretreatment in the presence of LPS could maintain control baseline levels, whereas all other experimental conditions led to a decrease in brain ABCD1 levels (Figure 4). For ABCD2, each treatment with one of the three oils decreased the protein levels; these decreases, as well as control levels, were not affected by LPS (Figure 4).

2.3.2. Liver

LPS treatment induced both CAT and ACOX1 protein levels in the liver to a lesser extent than in the brain. On the other hand, AO or OO oil treatment increased the hepatic expression of catalase,



while CO oil did not (Figure 5). ACOX1 72 kDa was augmented by each oil treatment alone and LPS. The 51 kDa protein levels and hence the processing of the 72 kDa was substantially induced by OO or CO treatments better than AO treatment. ACOX1 51 kDa processing was increased by LPS which exacerbated the increase by AO or OO but not CO pretreatment (Figure 5).

Figure 5. Effect of argan oil, olive oil or colza oil treatment on liver expressions of peroxisomal proteins, CAT (A), ACOX1 (B), ABCD1 (C), ABCD2 (D) and the heatmap for all protein expression (E). Male C57BL/6 mice received for 28 days a standard diet (control (CTRL)), a diet enriched with 6% (*w/w*) AO, OO, or CO, and intravenous injection of LPS (100 µg) four hours antemortem. Liver homogenates were prepared as described in Section 4. Band intensities were analyzed by densitometry and standardized to β-actine expression level. Tables represent the standardized densitometric analysis obtained after signal intensity quantification of different proteins.



[Tapez ici]

Interestingly, ABCD1 protein expression in the liver was largely repressed with the oil treatments, and this effect was accentuated in pretreated mice in the presence of LPS, with little or no effect towards control baseline values. For ABCD2, results were more contrasted, showing a hepatic induction of its expression by AO or OO treatment and repression by CO and by LPS administration with or without oil pretreatment (Figure 5).

2.4. Brain and Liver Peroxisomal Antioxidant Enzymes Activities

The catalytic activities of three antioxidant enzymes CAT, SOD, and GPx were measured in both the brain and liver from the different groups of mice. In the brain, LPS significantly increased the activity of CAT and SOD by 305% and 295%, respectively ($p < 0.05$) (Figure 6A,B). In the liver, LPS significantly doubled catalase activity (205%; $p < 0.05$), while its 1.5-fold increase effect on SOD activity remained statistically non-significant ($p < 0.07$) (Figure 6D). In both tissues, the treatment with AO, OO, or CO alone showed no significant effect on the catalase activity compared to the control group (Figure 6A,B). Interestingly, each oil significantly increased in the brain, but not in the liver, the SOD activity (151% and 229% $p < 0.01$) for AO and OO treatments, respectively, and CO (192% $p < 0.05$) (Figure 6B,D). However, LPS-dependent increase in catalase activity was significantly entirely abolished by pretreatment with AO (LPS-AO group) and OO (LPS-OO group) but not CO pretreatment (Figure 6A,B). In contrast, SOD activity decreased in the brain by each oil pretreatment (68%; $p < 0.05$) compared to the LPS-treated groups (Figure 6C,D).



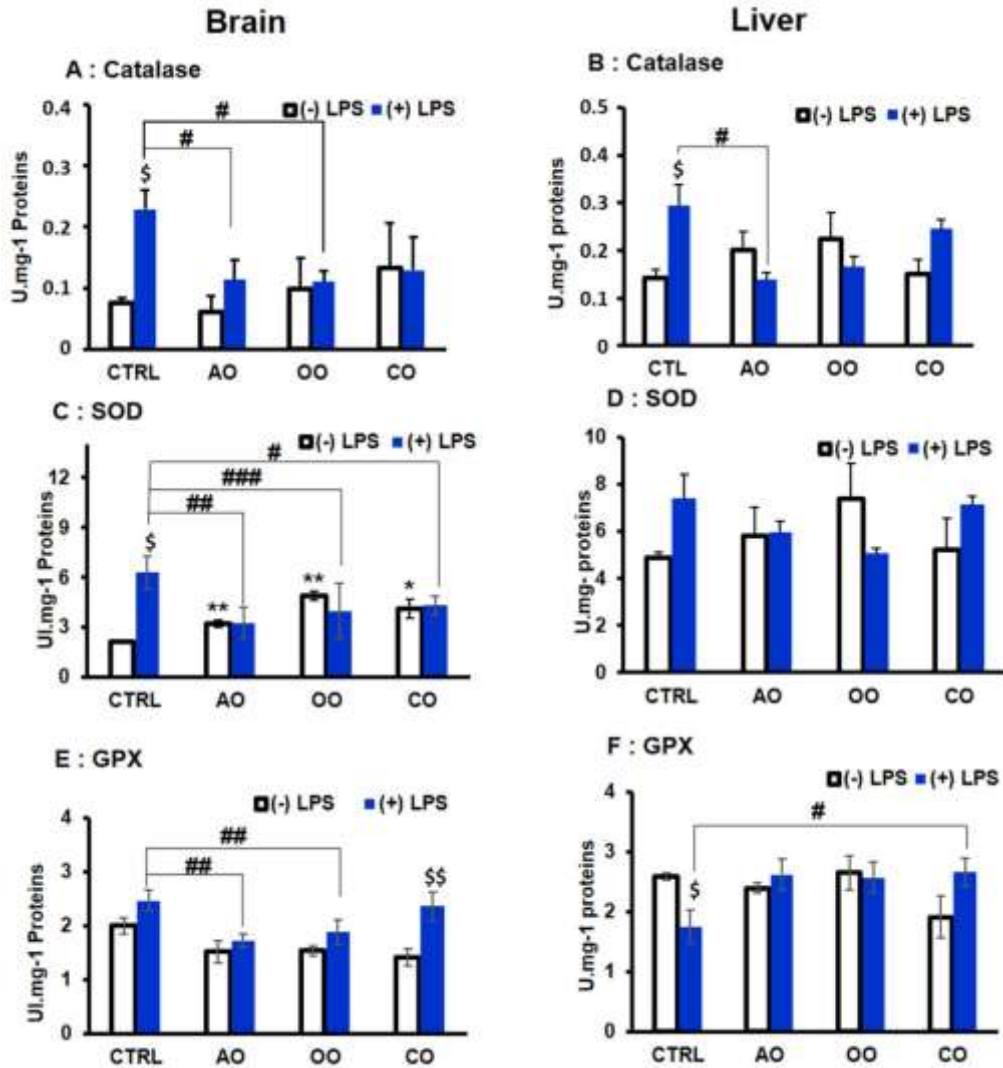


Figure 6. Effect of argan oil, olive oil or colza oil treatment on the antioxidant enzymes activities of CAT (A,B), SOD (C,D), and GPX (E,F) in brain and liver, respectively. C57BL/6 mice received for 28 days a standard diet (control (CTRL)), a diet enriched with 6% (w/w) AO, OO, or CO, and intravenous injection of LPS (100 µg) four hours antemortem. Brain and liver homogenates were prepared as described in Section 4. Results are expressed in (U.I.mg⁻¹ = µmol of substrate transformed/minute/mg of proteins). All values are means ± SD (n = 3), statistical significance of higher mean signal strength (** p ≤ 0.01, * p ≤ 0.05) compared to control, (### p ≤ 0.001, ## p ≤ 0.01, # p ≤ 0.05), compared to LPS and \$\$ p ≤ 0.01, \$ p ≤ 0.05) compared to treatment with or without LPS administration.

GPX activity was slightly but not significantly increased in brain homogenates by 123% in the LPS-treated group (Figure 6E). On the contrary, in the liver (Figure 6F), GPX activity was decreased (68%; $p < 0.05$) by the LPS treatment compared to the control group. However, none of each oil (AO, OO, or CO) pretreatment has shown a significant effect on GPX activity. However, in both tissues, these effects were prevented by oil pretreatment. In the brain, LPS-dependent increase in GPX activity (LPS group) was significantly attenuated by AO (70%, $p < 0.01$) and OO (76%; $p < 0.01$) (AO-LPS and OO-LPS groups,



[Tapez ici]

respectively) (Figure 6E). In the liver, only CO pretreatment (CO-LPS group) induced a significant increase in GPX activity (151%; $p < 0.05$) compared to the LPS-treated group (Figure 6F).

3. Discussion

In previous studies, we have collected compelling evidence of the protective mechanisms of AO against LPS-induced liver injury [10,18]. However, the potential protective effect of AO against LPS-induced brain oxidative stress and peroxisome dysfunction has not been investigated so far. In the present *in vivo* study, the protective properties of AO (compared to those of OO and CO) have been explored in the scope of a short-term LPS challenge with a focus on antioxidant mechanisms (GSH, antioxidant enzymes, ACOX1).

The non-enzymatic GSH antioxidant defense level was evaluated as an essential component of the intracellular redox balance and cellular biological functions [26]. Four hours after intravenous LPS injection, hepatic GSH levels increase rapidly, which seems to be maintained for four hours and up to sixteen hours post LPS injection [10]. It is well known that during endotoxemia, the liver serves as the primary source of plasma GSH, and this may explain the hepatic increase in GSH level after LPS injection [27]. However, under oxidative stress, this LPS-dependent GSH induction could depend on hepatic macrophage-derived Kupffer cells and not from endothelial cells [4]. Accordingly, previous studies suggested that LPS triggers glutathione synthesis *de novo* in Kupffer cells [28,29]. By contrast, brain GSH level was downregulated by LPS, as also reported [30] in mice four hours post-LPS injection. The decrease in brain GSH levels could be related to declining microglial cells. These brain phagocytes resident cells regulate brain homeostasis and control neuroinflammation [31]. Thus, LPS-treated mice displayed activated and reactive microglia, particularly in the substantia nigra, leading to neuronal damage [32].

Moreover, activating both enriched primary microglial cultures and the N11 microglial cell line by LPS/Interferon leads to a 40% decrease in GSH microglial content [33]. Here, we show that only AO (but not OO and CO) pretreatment prevented LPS-dependent GSH imbalance by counteracting both the LPS-induced downregulation in the brain and augmentation in the liver. This phenomenon may be linked to the antioxidant capacity spectrum of AO, which contains, in addition to polyphenols and tocopherols, a higher content of coenzyme Q10 and melatonin [34]. Notably, the latter has been shown to induce the expression of γ -glutamylcysteine synthetase, the rate-limiting enzyme of GSH synthesis [35].

On the other hand, lipid peroxidation is defined as the process under which oxidative stress-generated free radicals peroxidize polyunsaturated fatty acids esterified in cell membrane phospholipids [30]. Malonaldehyde, a well-known biomarker for lipid peroxidation [36,37], revealed that short-term four hours LPS injection via the tail vein led to a significant increase in lipid peroxidation in both brain



[Tapez ici]

and liver tissues. Reportedly, data show that LPS injected intraperitoneally led to a significant increase in cerebral and hepatic MDA production after 4 h in mice [30] and after 2 h in rats [38], respectively. These increased lipid peroxidation levels are maintained 12 h after intraperitoneal LPS administration [38,39]. We found that the pretreatment with oils prevents the effect of LPS on lipid peroxidation. However, AO showed a more pronounced decrease in MDA production in both brain and liver tissues. As mentioned above, it is noteworthy that AO harbors one of the highest antioxidant capacities among edible oils, including melatonin, coenzyme Q₁₀, tocopherols, and ferulic acid [11,37–44]. The antioxidant nature of AO effects may result from its unique composition in antioxidants and unsaturated fatty acids, which contribute to cell membranes stabilization and repair of brain and liver tissue damage caused by LPS [40]. As reported for several edible oils, the unsaturated fatty acids display also antioxidant properties [41]. Earlier work of Khalouki et al. [12] reported the antioxidant profile of argan oil, showing that AO phenolic compounds exhibit an antioxidant capacity superior to the soluble form of vitamin E, Trolox [12]. Total content of antioxidants (range between 456 and 1409 mg/kg) was reported by López et al. [34], including co-enzyme Q₁₀, melatonin, polyphenols and tocopherols. Furthermore, in our previous study, we have measured antioxidant properties of argan and extra virgin olive oils by Kit Radicaux Libres (KRL) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) tests [42].

Regarding the inflammatory status after LPS injection, *Tnf- α* gene expression increased enormously in the liver and only slightly decreased in the brain. Although brain *Tnf- α* expression moderately affects the oils, this downregulation effect is statistically significant for AO. LPS is a potent activator of *Tnf- α* mRNA and protein production, and its accumulation in murine macrophages [43]. Interestingly, AO-pretreated mice exhibit a significantly limited induction of *Tnf- α* mRNA when compared to OO- or CO-pretreated mice. Correspondingly, Dopp et al. (2002) and Persson et al. (2006) reported that *Tnf- α* -treated primary microglial cells exhibit an increase in GSH level concomitantly to a significant diminution in ROS levels [44,45]. However, oligodendrocytes exhibit an opposite response to *Tnf- α* . Thus, the mechanisms related to the effect of AO and other oils need more investigation to understand the outcome of different brain cell types.

Findings of the present study also include the marked increase in liver *Il-10* mRNA expression in the LPS-treated group. *Il-10* is known to have both inflammatory and antiinflammatory actions [46]. Our data are in agreement with the reported results [47]. Therefore, we suggest that the rise in *Il-10* mRNA expression represents an anti-inflammatory response to counteracting the hepatic inflammation induced by LPS injection. Accordingly, the combined AO and LPS treatment showed a significant decrease in hepatic *Il-10* mRNA expression compared with the LPS alone treated group, which may attest to the anti-inflammatory role of AO [10].

A partial or complete defect of the peroxisomal compartment is associated with severe inherited metabolic disorders (e.g., Zellweger syndrome and X-ALD) [6,8,48]. The overall cellular impact of the resulting peroxisomal metabolism dysfunction encompasses the increases in both endoplasmic reticulum and mitochondrial stresses [49–52]. The present study explored the brain and



[Tapez ici]

liver peroxisomal antioxidant and fatty acid β oxidation during sepsis and their potential restoration by AO. LPS induced both brain *Cat* and *Sod1* mRNA expressions, and a similar result was recorded for *Cat* mRNA in the liver. Imbalanced expression of catalase in mice results in enhanced NF- κ B activation and inflammation and excessive injury to different tissues [53].

Furthermore, it is well established that LPS provokes an increase in SOD mRNA expression [54–56]. Co-treatment with AO, and to a lesser extent with OO, inhibited the LPS effects in both the brain and the liver to control levels, CO oil failing to normalize the level of *Cat* mRNA expression in the brain and preserving this level in the liver. The effect of AO might be, among others as mentioned above, related to its highest content in PUFAs, which have been reported to induce catalase in hepatic cells [57]. The up-regulation of PPAR α by PUFA or palmitoylethanolamide ligands is likely to control peroxisomal catalase and SOD [58,59]. In light of this, and as we previously reported, AO treatment triggers the expression of PPAR α , its target genes, and its coactivator PGC-1 α in mouse liver [18].

Regarding the enzymatic activity level, our results indicate that LPS injection triggered the induction of brain peroxisomal enzymatic antioxidants activities such as CAT, SOD, and GPX. However, a decrease in GPX activity is observed in the liver, and LPS administration may lead to an essential decrease in antioxidant enzyme activities [60–62]. As discussed previously, the increase in the peroxisomal antioxidant enzymes activity can be seen as part of a defense mechanism against cellular free radicals [19,63,64]. Interestingly, LPS dysregulation in the brain and liver antioxidant status were prevented when mice were pretreated with AO, OO, and CO. Furthermore, the protective effect was more pronounced, with AO more than OO and CO in preserving brain CAT, SOD, and GPX activities to control values. As mentioned above, the antioxidant capacity and spectrum of AO are attributed to its high content in phenolic compounds and tocopherols (α -, β -, γ - and δ -tocopherols) [16,65]. Several studies have highlighted a rich chemical composition of AO, which, in terms of antioxidant compounds, encompasses sterols, tocopherols, polyphenols, and carotenes, all endowed with strong free radical scavenging properties and robust biological/pathogenesis antioxidant protection [12,15]. Interestingly, in vitro bioavailability of polyphenols and antioxidant properties of AO and OO were evaluated by Seiquer et al. [66], showing an increase in polyphenol content and antioxidant activity during AO digestion. Furthermore, intestinal Caco-2 cells absorb large proportion of phenol compounds and antioxidant capacity [66]. Some AO compounds (i.e., fatty acids, phytosterols, polyphenols, tocopherols) that can cross the blood–brain barrier may be neuroprotective [19]. Accordingly, several dietary phenolic compounds, including curcumin, the yellow pigment in turmeric, and the green tea flavanol have been shown to exert neuroprotection through the activation of the nuclear receptor Nrf2 (Nuclear Factor (Erythroid-Derived 2)-Like 2) and its cytoprotective target genes [67].

Additionally, we have investigated *Acox1* mRNA expression in the liver. *Acox1* encodes the first and rate-limiting enzyme in the peroxisomal β -oxidation pathway. Its deficiency leads to the accumulation of very-long-chain fatty acids (VLCFAs) and a substantial reduction in peroxisome



[Tapez ici]

abundance [68]. Our results showed significant repression by LPS of hepatic *Acox1* mRNA level and no significant effect on brain *Acox1* transcript. AO and OO showed no effect against this repression, and only CO was shown to significantly enhance the *Acox1* mRNA expression. These results are in agreement with previous studies [18,69]. However, at the protein level, ACOX1 protein expression was induced in mice brain and liver treated with LPS alone or pretreated with oil alone (i.e., AO, OO, or CO) or in the presence of both. An intriguing discrepancy was observed between transcriptional and translational regulations due to differences in mRNA and protein decay rates, knowing that aberrant translation can accelerate mRNA decay [63]. On the other hand, protein translation is under the control of the PERK/eIF2 α -P/ATF4 signaling, which inhibits the decline of protein synthesis during endoplasmic reticulum stress provoked by LPS [64]. Additionally, the peroxisomal fatty acid β -oxidation pathway induction by PPAR α -dependent PUFA activation has been primarily documented [6], and this may explain the enhanced ACOX1 protein expression by AO, which encompasses the highest PUFA content [11,70]. Accordingly, we have previously shown that AO regulates hepatic fatty acid oxidation pathways through the activation of the nuclear receptors - PPAR α , ERR α - and their coactivator, PGC-1 α [18]. The activity of ACOX1 is dependent on the supply of its substrates (i.e., fatty acids and fatty acyl-CoAs), including transport into the peroxisomal compartment. ABCD1 and ABCD2, located in the peroxisomal membrane, are involved in transporting VLCFACoAs into the peroxisome prior to their β -oxidation [71]. Our results showed that LPS treatment had a moderate decrease effect on ABCD1 protein expression in the brain, and this effect was relatively counteracted by AO and CO supplemented diets. On the other hand, LPS did not affect ABCD2 expression in the brain. Furthermore, LPS treatment did not affect ABCD1 protein expression in the liver but decreased ABCD2 protein level. In addition, we have previously reported that knocking of *Abcd1* or *Acox1* mRNA expression in oligodendrocytes resulted in an increased overproduction of ROS by VLCFA [72].

Interestingly, AO pretreatment rescued the brain protein expression of ABCD1 and was also shown to induce *Abcd1* mRNA level [42]. However, ABCD1 dysfunction results in defective transport of VLCFAs into peroxisomes and hence reduced adequate availability for their β -oxidation. Consequently, this may lead to increased phospholipids and cholesterol esters containing VLCFAs, which cause severe neurodegenerative disease in the central nervous system [73].

Collectively, our data showed that the AO protective effects against short-term LPS-induced brain and liver oxidative stress through the preservation of the peroxisomal antioxidant and fatty acid β -oxidation functions. Regarding our previous work on liver injury induced after 16 h LPS post-injection [10], here we showed that the hepato-protective action of AO is effective at short-term (i.e., 4 h), by normalizing hepatic peroxisomal antioxidant and β -oxidative capacities. For the first time, we demonstrated that AO also has a neuroprotective effect during sepsis. In the future, a combination of lipidomic and transcriptomic analysis would clarify the metabolic circuits involved in the AO hepato and neuro-protective effects against LPS. Additionally, it would be interesting to explore the potential effects of individual AO constituents, such as polyphenols. This may bring new arguments



[Tapez ici]

to the potential beneficial role of AO in the management of sepsis and as an alternative therapy to synthetic chemical compounds that may have several adverse effects.

4. Material and Methods

4.1. Chemicals and Reagents

RNeasy Mini kit (Qiagen, Courtaboeuf, France), iScript cDNA Synthesis Kit (BioRad, Marnes-la-Coquette, France) MESA GREEN qPCR MasterMix Plus (Thermo Fischer

Scientific, Illkirch, France), Applied Biosystem Step One QPCR machine (Thermo Fischer Scientific, Illkirch, France), Potter Elvehjem homogenizer (Dominique Dutscher, Issy-les-

Moulineaux, France), Anti-ABCD1 and anti-ACOX1 (BioPeroXIL laboratory, Dijon, France),

Anti-ABCD2 (ab 102948, Abcam, Cambridge, UK), anti-catalase (AF3398, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Other chemicals were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France).

4.2. Mice Treatments

C57BL/6 J male mice (12–16 weeks old, 28–32 g body weight) were purchased from Pasteur medical Laboratory in Casablanca, Morocco. Mice were used under the recommendations of the Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD), ‘Test no. 407: repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents,’ 1995). All animal experiments were approved by the ethic committee of the faculty of medicine of Hassan II University and carried out according to ethical rules of the University of Hassan I, according to the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory Animals (NIH publication No. 85-23, revised 1985) for the care and the use of laboratory animals. All mice were housed in a pathogen-free environment under a light-dark (12 h–12 h) cycles, relative humidity (45–65%), at a temperature of 22 ± 2 °C, and fed with standard diet and water ad libitum. After 10 days of acclimatization, the mice were randomly divided to eight groups (5 mice/group), each group receiving for 28 days a standard diet added or not with a vegetal oil: 2 control groups fed with a standard diet; 2 argan oil groups fed with a standard diet supplemented with 6% (w/w) AO; 2 olive oil groups fed with a standard diet supplemented with 6% (w/w) OO and 2 colza oil groups who received a standard diet supplemented with 6% (w/w) CO. Each oil was solubilized in acetone (1:3 v/v), add to diet pellets and evaporated overnight. Four hours before euthanasia and during the fed state, one group from each group (control (+LPS), AO (AO + LPS); OO (OO + LPS) and CO (CO + LPS)), received an injection (5 mg/kg) via tail vein of 100 µg of *Escherichia coli* 0111:B4 LPS (Sigma, Saint-Quentin-Fallavier, France), solubilized in sterile phosphate-buffered saline (PBS) or an equal volume of PBS alone [69]. After euthanasia, brain and liver tissues were immediately frozen in an ethanol-dry ice bath and stored at -80 °C.

4.3. Origin, Extraction and Composition of Oils



[Tapez ici]

Argan oil (AO) is a virgin edible oil which was extracted by mechanical cold-pressing roasted kernel of argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels; Sapotaceae), an endemic tree to Morocco. Argan oil and olive oil (OO) (*Olea europaea* L. cv. Moroccan picholine) were obtained from Aklim region, latitude: 34°55'45" North; longitude: 2°26'07" west, Berkane, Morocco. Colza oil (CO) (*Brassica napus* subsp. *Napus*) was obtained from a commercial supermarket.

Fatty acid methyl esters were prepared as described before [12,74]. Briefly, 0.3 g of oil sample mixed in a heptane and methanolic KOH (2 M) solution, was analyzed by gas chromatography (GC; HP 6890, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) supplied with a flame ionization detector and a capillary column (Carbowax 20 M, 30 m × 0.32 mm, 0.25 μm thickness, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). The nitrogen flow rate was at 2.5 mL/min and the temperature from 140 to 240 °C at 10 °C/min. Identification of fatty acids was based on their retention times and those of standards.

Phytosterols analysis were performed as reported by El Kharrassi et al. [74]. Briefly, oil sample (2.5 g) was diluted in 30 mL ethanolic KOH (2 M) solution. This mixture was maintained during 30 min at light boiling, then combined with distilled water (25 mL) and petroleum ether (75 mL). The obtained organic phase was washed with distilled water, evaporated in a rotary evaporator, and then supplemented with 1 mL hexane and spotted on a thin-layer chromatography (TLC, Biomnis, France). The plate was developed in a solvent solution of hexane/diethyl ether (66:34, v/v). Then, we dissolved phytosterol extracts in 10 mL chloroform. The dried extract was silylated with 500 μL of a pyridine/hexamethyldisilazane/trimethylchlorosilane (9:3:1, v/v/v) mixture, evaporated under nitrogen flow. The analysis was performed in a HP-5 integrated silica capillary column (15 m × 0.25 mm, 0.25 μm thickness) in a gas chromatograph (GC; HP 6890, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

Tocopherols were identified as reported by El Kharrasi et al. [74] using a highperformance liquid chromatography (HPLC, HP 1050, Hewlett–Packard, Avondale, PA, USA) equipped with an HP 1047A differential refractometer detector, and an octadecylsilane silica (C18) column. Elution of tocopherols was achieved by an isooctane/isopropanol (99:1, v/v) solvent.

4.4. Tissue Homogenates Preparation for Enzymatic Activity Assays

Homogenates were prepared by grinding animal's livers and brains in 10% (w/v) for the livers and 4% (w/v) for the brain potassium phosphate buffer 0.05 M, pH 7.4, respectively. Tissues were homogenized using potter Elvehjem homogenizer (Dominique Deutscher, Issy-les-Moulineaux, France). Homogenates were centrifuged for 10 min at 3000× g at 4 °C and supernatants considered as extracts were stored at –20 °C. Protein content was measured using bovine serum albumin as a standard, according to the method described by Lowry et al. [75].

4.5. Measurement of Enzymatic Activities



[Tapez ici]

4.5.1. Determination of Catalase Activity

Catalase activity was determined as described before [76]. The assay mixture containing 10 μL of the extracts and 30 μL of H_2O_2 (7.3 mM solution) was incubated on ice for 5 min. The reaction was then quenched by adding 20 μL of sulfuric acid H_2SO_4 , 6 N. The amount of H_2O_2 remaining in the reaction mixture after 5 min of catalase action was determined by titration with 140 μL of 2 mM potassium permanganate (KMnO_4). The rate of decomposition of H_2O_2 was measured by spectrophotometry at 480 nm. The specific catalase activity is expressed as $\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$ of protein.

4.5.2. Determination of Superoxide Dismutase Activity

Superoxide dismutase activity was assessed by the method described before [77]. This method involves the inhibition of tetrazolium nitroblue reduction (NBT) using riboflavin as a superoxide generator. The homogenate (20 μL) was mixed in a 50 mM phosphate buffer containing 0.025% Triton X-100, 75 mM nitro blue tetrazolium chloride NBT, 0.1 mM EDTA pH 8 and 12 mM L-methionine. The reaction is initiated by adding 2 μM riboflavin at room temperature, and the absorbance is read at 560 nm.

4.5.3. Determination of Glutathione Peroxidase Activity

Glutathione peroxidase activity was measured following the method of Flohé and Günzler [78]. Briefly, homogenate (300 μL) was incubated for 15 min at 37 °C in a reaction mixture containing 300 μL of potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 7.0), 200 μL GSH (reduced glutathione, 2 mM), 100 μL H_2O_2 (1 mM) and 100 μL sodium azide (1 mM). Then, 0.5 mL of TCA (5%) was added to stop the reaction. After centrifugation for 5 min at 1500 \times g, 100 μL of the supernatant was collected and added to 200 μL of phosphate buffer (50 mM, pH 7.0) and 0.7 mL of (5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid; DTNB) buffer (0.4 mg/mL). The absorbance was measured at 420 nm.

4.6. Determination of Reduced Glutathione Level

The level of reduced glutathione was evaluated by the method of Ellman [79]. Brains or livers homogenates (400 μL) were mixed with Trichloroacetic acid (5%) and centrifuged at 12,000 \times g for 10 min. The supernatant (50 μL) was diluted in 850 μL of phosphate buffer (50 mM, pH 8) and 100 μL of DTNB (6 mM) was added. The absorbance was read at 412 nm within 5 min against a blank containing the same reagents. The GSH concentrations were calculated by using a standard glutathione curve.

4.7. MDA Level Evaluation

Lipid peroxidation was measured via the thiobarbituric acid-colored reaction as described before [80]. The reaction mixture containing 0.5 mL of the homogenate, 0.5 mL of trichloroacetic acid (TCA, 20%) and 1 mL of thiobarbituric acid (TBA, 0.67%) was heated at 100 °C for 15 min. After cooling, MDA was extracted with *n*-butanol; centrifugation at 3000 \times g for 15 min was carried out, and the absorbance of the organic layer was measured at 532 nm.



[Tapez ici]

4.8. Quantification of Gene Expression by RT-qPCR

Total RNA from brain and livers tissues was isolated using the RNeasy Mini kit (Qiagen, Courtaboeuf, France) following the manufacturer's instructions. Total mRNA concentration was measured by spectrophotometry at 260 nm using a TrayCell (Hellma, Paris, France). The purity of nucleic acids was checked by measuring the ratio of the absorbance 260 nm/280 nm, between 1.8 and 2.2. Next, one μg of mRNA was reverse transcribed to generate cDNA using iScript cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad). The cDNAs were then used for quantitative PCR analysis of specific genes (Thermo Fischer Scientific). All PCR reactions were performed in triplicate, using the MESA GREEN qPCR MasterMix Plus (Thermo Fischer Scientific), on an Applied Biosystem Step One QPCR machine (Life Science Technologies). The primers sequences are detailed in Table 2. Thermal cycling conditions were as follows: activation of DNA polymerase at 95 °C for 10 min, followed by 40 cycles of amplification at 95 °C for 15 s, 60 °C for 30 s, and 72 °C for 30 s. At the end of the reaction, a melting curve analysis was calculated to test the absence of non-specific products. For each transcript, the amplification efficiency was determined by the slope of the standard curve generated from two-fold serial dilutions of cDNA. Gene expression was quantified using cycle threshold (Ct) values and normalized by the 36B4 reference gene. Relative expression of genes was determined according to $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ method.

Table 2. Sequences of the primers used for PCR.

Gene Name	Primer Sequences
<i>Il10-F</i>	5 ⁰ GCTGGACAACATACTGCTAACC 3 ⁰
<i>Il10-R</i>	5 ⁰ CCCAAGTAACCCTTAAAGTCCTG 3 ⁰
<i>Acox1-F</i>	5 ⁰ TCGAAGCCAGCGTTACGAG3 ⁰
<i>Acox1-R</i>	5 ⁰ GGTCTGCGATGCCAAATTCC3 ⁰
<i>Tnf α-F</i>	5 ⁰ GACGTGGAAGTGGCAGAAGAG3 ⁰ 5 ⁰
<i>Tnf α-R</i>	TGCCACAAGCAGGAATGAGA3 ⁰
<i>Catalase-F</i>	5 ⁰ AGCGACCAGATGAAGCAGTG3 ⁰
<i>Catalase-R</i>	5 ⁰ TCCGCTCTCTGTCAAAGTGTG3 ⁰
<i>Sod1-F</i>	5 ⁰ AACCAGTTGTGTTGTCAGGAC3 ⁰
<i>Sod1-R</i>	5 ⁰ CCACCATGTTTCTTAGAGTGAGG3 ⁰
<i>36b4-F</i>	5 ⁰ CGACCTGGAAGTCCAACACTAC3 ⁰
<i>36b4-R</i>	5 ⁰ ATCTGCTGCATCTGCTTG3 ⁰

4.9. Immunoblotting



[Tapez ici]

Mice brains and livers were lysed in 4% (w/v) or 10% (w/v) RIPA buffer (50 mM TrisHCl, pH8.0, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0,1% SDS, 0.5% sodium deoxycholate), respectively, using a potter Elvehjem homogenizer (Dominique Deutscher, Issy-les-Moulineaux, France). The lysates were centrifuged at 10,000× g for 10 min at 4 °C, and the supernatants were collected. Their protein content was determined using the Bicinchoninic Acid Solution (Thermo Fisher Scientific). Fifty µg of proteins were diluted (v/v) in the loading buffer (125 mM Tris-HCl, pH 6.8, 4% SDS, 20% glycerol, 14% mercaptoethanol, and 0.003% Bromophenol blue) and heated at 100 °C for 5 min, then separated on a 10% SDS-PAGE, and transferred into PVDF membrane. After blocking non-specific binding sites with 5% nonfat milk in TBST (10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20, pH 8) for 1 h at room temperature, the membrane was incubated overnight at 4 °C with the primary antibody diluted in 1% milk TBST (anti-ABCD1, “serum 029” from BioPeroxIL laboratory, [81] dilution 1/2000; anti-ABCD2, ab 102948, ab 102948 from Abcam, dilution 1/1000; anti-catalase, AF3398 from R&D Systems, dilution 1/400; anti-b-actin, A2228 from Sigma-Aldrich, dilution 1/10,000). After three washes for 10 min in PBST, the membranes were incubated for 1 h at room temperature with a secondary appropriate horseradish peroxidase-conjugated antibody diluted in 1% milk TBST (dilution 1/5000). The membranes were then washed three times in TPBS for 10 min. and the immunoreactivity was revealed by enhanced chemiluminescence using the Supersignal West Femto Maximum Sensitivity Substrate (ThermoFisher Scientific) and a Chemidoc XRS+ device (Bio-Rad). Images processing and quantification was performed using the Image Lab software (Bio-Rad).

4.10. Statistics

The data is presented as mean values ± SE. Excel (Microsoft, WA, USA) was used for statistical Analysis by *t*-test. The differences between the groups analyzed. Statistical significance was defined as a *p* value of less than 0.05.

Author Contributions: S.E. performed the experiments, analyzed the data, and wrote the paper. H.B. performed part of the experiments; S.E.K. performed the oils phytochemical analysis; R.E.K., A.E., C.G., S.S., J.V., B.N., M.C.-M. and P.A., analyzed and discussed the data, and reviewed the paper. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ministère de l'Enseignement et de la Recherche and the CNRST. The Action Intégrée of the Comité Mixte Inter-universitaire Franco-Marocain (n° TBK 19/92 n° Campus France: 41501RJ) from the PHC Toubkal program, Ministère des Affaires Étrangères, the Ministère de l'enseignement et de la Recherche.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Ethics Committee of the faculty of medicine of Hassan II University (14-11-2019) for studies involving animals.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data is contained within the article.

Acknowledgments: The authors would like to acknowledge networking support by the COST Action CA 16,112 NutRedOx (Personalized Nutrition in aging society: redox control of major age-related diseases), supported by COST (European Cooperation in Science and Technology). We thank Sailesh Surapureddi for his valuable discussion and suggestions.



[Tapez ici]

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Sharshar, T.; Annane, D.; de la Grandmaison, G.L.; Brouland, J.P.; Hopkinson, N.S.; Françoise, G. The Neuropathology of Septic Shock. *Brain Pathol. Zurich Switz.* **2004**, *14*, 21–33. [[CrossRef](#)]
2. Mantzarlis, K.; Tsolaki, V.; Zakynthinos, E. Role of Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Sepsis and Potential Therapies. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2017**, *2017*, 5985209. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Sriskandan, S.; Altmann, D.M. The Immunology of Sepsis. *J. Pathol.* **2008**, *214*, 211–223. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Spolarics, Z. Endotoxemia, Pentose Cycle, and the Oxidant/Antioxidant Balance in the Hepatic Sinusoid. *J. Leukoc. Biol.* **1998**, *63*, 534–541. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Fransen, M.; Lismont, C. Peroxisomes and Cellular Oxidant/Antioxidant Balance: Protein Redox Modifications and Impact on Inter-Organelle Communication. *Subcell. Biochem.* **2018**, *89*, 435–461. [[CrossRef](#)]
6. Vamecq, J.; Andreoletti, P.; El Kebbjaj, R.; Saih, F.E.; Latruffe, N.; El Kebbjaj, M.H.S.; Lizard, G.; Nasser, B.; Cherkaoui-Malki, M.
Peroxisomal Acyl-CoA Oxidase Type 1: Anti-Inflammatory and Anti-Aging Properties with a Special Emphasis on Studies with Lps and Argan Oil as a Model Transposable to Aging. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**, *2018*, 6986984. [[CrossRef](#)]
7. Schrader, M.; Fahimi, H.D. Peroxisomes and Oxidative Stress. *Biochim. Biophys. Acta* **2006**, *1763*, 1755–1766. [[CrossRef](#)]
8. Tawbeh, A.; Gondcaille, C.; Trompier, D.; Savary, S. Peroxisomal ABC Transporters: An Update. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 6093. [[CrossRef](#)]
9. Khan, M.; Contreras, M.; Singh, I. Endotoxin-Induced Alterations of Lipid and Fatty Acid Compositions in Rat Liver Peroxisomes. *J. Endotoxin Res.* **2000**, *6*, 41–50. [[CrossRef](#)]
10. El Kamouni, S.; El Kebbjaj, R.; Andreoletti, P.; El Ktaibi, A.; Rharrassi, I.; Essamadi, A.; El Kebbjaj, M.S.; Mandard, S.; Latruffe, N.; Vamecq, J.; et al. Protective Effect of Argan and Olive Oils against Lps-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Mice Livers. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 2181. [[CrossRef](#)]
11. Charrouf, Z.; Guillaume, D. Ethnoeconomical, Ethnomedical, and Phytochemical Study of *Argania spinosa* (L.) Skeels. *J. Ethnopharmacol.* **1999**, *67*, 7–14. [[CrossRef](#)]
12. Khallouki, F.; Younos, C.; Soulimani, R.; Oster, T.; Charrouf, Z.; Spiegelhalter, B.; Bartsch, H.; Owen, R.W. Consumption of Argan Oil (Morocco) with Its Unique Profile of Fatty Acids, Tocopherols, Squalene, Sterols and Phenolic Compounds Should Confer Valuable Cancer Chemopreventive Effects. *Eur. J. Cancer Prev.* **2003**, *12*, 67–75. [[CrossRef](#)]
13. Drissi, A.; Girona, J.; Cherki, M.; Godàs, G.; Derouiche, A.; El Messal, M.; Saile, R.; Kettani, A.; Solà, R.; Masana, L.; et al. Evidence of Hypolipemiant and Antioxidant Properties of Argan Oil Derived from the Argan Tree (*Argania spinosa*). *Clin. Nutr.* **2004**, *23*, 1159–1166. [[CrossRef](#)]
14. Cayuela, J.A.; Rada, M.; Pérez-Camino, M.d.C.; Benaissa, M.; Abdelaziz, E.; Guinda, Á. Characterization of Artisanally and Semiautomatically Extracted Argan Oils from Morocco. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2008**, *110*, 1159–1166. [[CrossRef](#)]



[Tapez ici]

15. Charrouf, Z.; Guillaume, D. Argan Oil: Occurrence, Composition and Impact on Human Health. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2008**, *110*, 632–636. [[CrossRef](#)]
16. El Monfalouti, H.; Guillaume, D.; Denhez, C.; Charrouf, Z. Therapeutic Potential of Argan Oil: A Review. *J. Pharm. Pharmacol.* **2010**, *62*, 1669–1675. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Trichopoulou, A.; Lagiou, P.; Kuper, H.; Trichopoulos, D. Cancer and Mediterranean Dietary Traditions. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.* **2000**, *9*, 869–873.
18. El Kebbaj, R.; Andreoletti, P.; El Hajj, H.I.; El Kharrassi, Y.; Vamecq, J.; Mandard, S.; Saih, F.E.; Latruffe, N.; El Kebbaj, M.S.; Lizard, G.; et al. Argan Oil Prevents Down-Regulation Induced by Endotoxin on Liver Fatty Acid Oxidation and Gluconeogenesis and on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator-1 α , (PGC-1 α), Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α) and Estrogen Receptor α (ERR α). *Biochim. Open* **2015**, *1*, 51–59. [[CrossRef](#)]
19. Elmostafi, H.; Bahbiti, Y.; Elhessni, A.; Bousalham, R.; Doumar, H.; Ouichou, A.; Benmhammed, H.; Touil, T.; Mesfioui, A. Neuroprotective Potential of Argan Oil in Neuropsychiatric Disorders in Rats: A Review. *J. Funct. Foods* **2020**, *75*, 104233. [[CrossRef](#)]
20. Saber, T.M.; Mansour, M.F.; Abdelaziz, A.S.; Mohamed, R.M.S.; Fouad, R.A.; Arisha, A.H. Argan Oil Ameliorates Sodium Fluoride-Induced Renal Damage via Inhibiting Oxidative Damage, Inflammation, and Intermediate Filament Protein Expression in Male Rats. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2020**, *27*, 30426–30436. [[CrossRef](#)]
21. Manfredini, A.; Constantino, L.; Pinto, M.C.; Michels, M.; Burger, H.; Kist, L.W.; Silva, M.C.; Gomes, L.M.; Domingui, D.; Steckert, A.; et al. Mitochondrial Dysfunction Is Associated with Long-Term Cognitive Impairment in an Animal Sepsis Model. *Clin. Sci.* **2019**, *133*, 1993–2004. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Paintlia, M.K.; Paintlia, A.S.; Contreras, M.A.; Singh, I.; Singh, A.K. Lipopolysaccharide-Induced Peroxisomal Dysfunction Exacerbates Cerebral White Matter Injury: Attenuation by *N*-Acetyl Cysteine. *Exp. Neurol.* **2008**, *210*, 560–576. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Purba, J.H.V. The Analysis of European Union’s Vegetable Oil Consumption: “Will The European Parliament Resolution Halt the Consumption of Crude Palm Oil in the European Union in the Future?”. *Int. J. Appl. Bus. Econ. Res.* **2017**, *15*, 27–39.
24. Chen, Z.; Wu, A.; Jin, H.; Liu, F. β -Sitosterol Attenuates Liver Injury in a Rat Model of Chronic Alcohol Intake. *Arch. Pharm. Res.* **2020**, *43*, 1197–1206. [[CrossRef](#)]
25. Oaxaca-Castillo, D.; Andreoletti, P.; Vluggens, A.; Yu, S.; van Veldhoven, P.P.; Reddy, J.K.; Cherkaoui-Malki, M. Biochemical Characterization of Two Functional Human Liver Acyl-CoA Oxidase Isoforms 1a and 1b Encoded by a Single Gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2007**, *360*, 314–319. [[CrossRef](#)]
26. Meister, A. Glutathione, Ascorbate, and Cellular Protection. *Cancer Res.* **1994**, *54*, 1969s–1975s.
27. Jaeschke, H. Enhanced Sinusoidal Glutathione Efflux during Endotoxin-Induced Oxidant Stress in Vivo. *Am. J. Physiol.* **1992**, *263*, G60–G68. [[CrossRef](#)]
28. Miura, K.; Ishii, T.; Sugita, Y.; Bannai, S. Cystine Uptake and Glutathione Level in Endothelial Cells Exposed to Oxidative Stress. *Am. J. Physiol.—Cell Physiol.* **1992**, *262*, C50–C58. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Rouzer, C.A.; Scott, W.A.; Griffith, O.W.; Hamill, A.L.; Cohn, Z.A. Glutathione Metabolism in Resting and Phagocytizing Peritoneal Macrophages. *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 2002–2008. [[CrossRef](#)]
30. Abdel-Salam, O.M.E.; Youness, E.R.; Mohammed, N.A.; Morsy, S.M.Y.; Omara, E.A.; Sleem, A.A. Citric Acid Effects on Brain and Liver Oxidative Stress in Lipopolysaccharide-Treated Mice. *J. Med. Food* **2014**, *17*, 588–598. [[CrossRef](#)]
31. Vilhardt, F.; Haslund-Vinding, J.; Jaquet, V.; McBean, G. Microglia Antioxidant Systems and Redox Signalling. *Br. J. Pharmacol.* **2017**, *174*, 1719–1732. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



[Tapez ici]

32. Reinert, K.R.S.; Umphlet, C.D.; Quattlebaum, A.; Boger, H.A. Short-Term Effects of an Endotoxin on Substantia Nigra Dopamine Neurons. *Brain Res.* **2014**, *1557*, 164–170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Chatterjee, S.; Noack, H.; Possel, H.; Wolf, G. Induction of Nitric Oxide Synthesis Lowers Intracellular Glutathione in Microglia of Primary Glial Cultures. *Glia* **2000**, *29*, 98–101. [[CrossRef](#)]
34. López, L.C.; Cabrera-Vique, C.; Venegas, C.; García-Corzo, L.; Luna-Sánchez, M.; Acuña-Castroviejo, D.; Escames, G. Argan Oil-Contained Antioxidants for Human Mitochondria. *Nat. Prod. Commun.* **2013**, *8*, 47–50. [[CrossRef](#)]
35. Urata, Y.; Honma, S.; Goto, S.; Todoroki, S.; Iida, T.; Cho, S.; Honma, K.; Kondo, T. Melatonin Induces Gamma-Glutamylcysteine Synthetase Mediated by Activator Protein-1 in Human Vascular Endothelial Cells. *Free Radic. Biol. Med.* **1999**, *27*, 838–847. [[CrossRef](#)]
36. Gustaw-Rothenberg, K.; Kowalczyk, K.; Stryjecka-Zimmer, M. Lipids' Peroxidation Markers in Alzheimer's Disease and Vascular Dementia. *Geriatr. Gerontol. Int.* **2010**, *10*, 161–166. [[CrossRef](#)]
37. Subramanyam, D.; Gurunathan, D.; Gaayathri, R.; Vishnu Priya, V. Comparative Evaluation of Salivary Malondialdehyde Levels as a Marker of Lipid Peroxidation in Early Childhood Caries. *Eur. J. Dent.* **2018**, *12*, 67–70. [[CrossRef](#)]
38. Ammari, M.; Othman, H.; Hajri, A.; Sakly, M.; Abdelmelek, H. Pistacia Lentiscus Oil Attenuates Memory Dysfunction and Decreases Levels of Biomarkers of Oxidative Stress Induced by Lipopolysaccharide in Rats. *Brain Res. Bull.* **2018**, *140*, 140–147. [[CrossRef](#)]
39. Wang, D.; Gao, Q.; Zhao, G.; Kan, Z.; Wang, X.; Wang, H.; Huang, J.; Wang, T.; Qian, F.; Ho, C.T.; et al. Protective Effect and Mechanism of Theanine on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Acute Liver Injury in Mice. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 7674–7683. [[CrossRef](#)]
40. Eljaoudi, R.; Elkabbaj, D.; Bahadi, A.; Ibrahim, A.; Benyahia, M.; Errasfa, M. Consumption of Argan Oil Improves Anti-Oxidant and Lipid Status in Hemodialysis Patients. *Phytother. Res.* **2015**, *29*, 1595–1599. [[CrossRef](#)]
41. Zhao, W.; Wang, L.; Yang, F.; Zhang, N.; Fan, J.; Qin, S.; Shao, T.; Xu, X.; Yan, S.; Guo, H.; et al. Antioxidant Activity Assessment of Yingjisha Sweet Almond Oil. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2022**, *57*, 1773–1781. [[CrossRef](#)]
42. Badreddine, A.; Zarrouk, A.; Karym, E.M.; Debbabi, M.; Nury, T.; Meddeb, W.; Sghaier, R.; Bezine, M.; Vejux, A.; Martine, L.; et al. Argan Oil-Mediated Attenuation of Organelle Dysfunction, Oxidative Stress and Cell Death Induced by 7-Ketocholesterol in Murine Oligodendrocytes 158N. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 2220. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Shi, L.; Kishore, R.; McMullen, M.R.; Nagy, L.E. Lipopolysaccharide Stimulation of ERK1/2 Increases TNF-Alpha Production via Egr-1. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **2002**, *282*, C1205–C1211. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Dopp, J.M.; Sarafian, T.A.; Spinella, F.M.; Kahn, M.A.; Shau, H.; de Vellis, J. Expression of the P75 TNF Receptor Is Linked to TNF-Induced NFkappaB Translocation and Oxyradical Neutralization in Glial Cells. *Neurochem. Res.* **2002**, *27*, 1535–1542. [[CrossRef](#)]
45. Persson, M.; Sandberg, M.; Hansson, E.; Rönnbäck, L. Microglial Glutamate Uptake Is Coupled to Glutathione Synthesis and Glutamate Release. *Eur. J. Neurosci.* **2006**, *24*, 1063–1070. [[CrossRef](#)]
46. Pils, M.C.; Pisano, F.; Fasnacht, N.; Heinrich, J.-M.; Groebe, L.; Schippers, A.; Rozell, B.; Jack, R.S.; Müller, W. Monocytes/Macrophages and/or Neutrophils Are the Target of IL-10 in the LPS Endotoxemia Model. *Eur. J. Immunol.* **2010**, *40*, 443–448. [[CrossRef](#)]
47. Abdelhamid, A.K.; Arafa, M.M. ORIGINAL Propolis Derivatives Inhibit the Systemic Inflammatory Response and Protect Hepatic and Neuronal Cells in Acute Septic Shock. *Braz. J. Infect. Dis.* **2011**, *15*, 332–338. [[CrossRef](#)]
48. Raas, Q.; Saih, F.; Gondcaille, C.; Trompier, D.; Hamon, Y.; Leoni, V.; Caccia, C.; Nasser, B.; Jadot, M.; Ménétrier, F.; et al. A Microglial Cell Model for Acyl-CoA Oxidase 1 Deficiency. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids* **2019**, *1864*, 567–576. [[CrossRef](#)]



[Tapez ici]

49. Ivashchenko, O.; Van Veldhoven, P.P.; Brees, C.; Ho, Y.-S.; Terlecky, S.R.; Fransen, M. Intraperoxisomal Redox Balance in Mammalian Cells: Oxidative Stress and Interorganellar Cross-Talk. *Mol. Biol. Cell* **2011**, *22*, 1440–1451. [[CrossRef](#)]
50. López-Erauskin, J.; Galino, J.; Bianchi, P.; Fourcade, S.; Andreu, A.L.; Ferrer, I.; Muñoz-Pinedo, C.; Pujol, A. Oxidative Stress Modulates Mitochondrial Failure and Cyclophilin D Function in X-Linked Adrenoleukodystrophy. *Brain J. Neurol.* **2012**, *135*, 3584–3598. [[CrossRef](#)]
51. Walton, P.A.; Pizzitelli, M. Effects of Peroxisomal Catalase Inhibition on Mitochondrial Function. *Front. Physiol.* **2012**, *3*, 108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Huang, J.; Viswakarma, N.; Yu, S.; Jia, Y.; Bai, L.; Vluggens, A.; Cherkaoui-Malki, M.; Khan, M.; Singh, I.; Yang, G.; et al. Progressive Endoplasmic Reticulum Stress Contributes to Hepatocarcinogenesis in Fatty Acyl-CoA Oxidase 1-Deficient Mice. *Am. J. Pathol.* **2011**, *179*, 703–713. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Han, W.; Fessel, J.P.; Sherrill, T.; Kocurek, E.G.; Yull, F.E.; Blackwell, T.S. Enhanced Expression of Catalase in Mitochondria Modulates NF-KB-Dependent Lung Inflammation through Alteration of Metabolic Activity in Macrophages. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **2020**, *205*, 1125–1134. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Tsan, M.F.; Clark, R.N.; Goyert, S.M.; White, J.E. Induction of TNF-Alpha and MnSOD by Endotoxin: Role of Membrane CD14 and Toll-like Receptor-4. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **2001**, *280*, C1422–C1430. [[CrossRef](#)]
55. Krautbauer, S.; Eisinger, K.; Neumeier, M.; Hader, Y.; Buettner, R.; Schmid, P.M.; Aslanidis, C.; Buechler, C. Free Fatty Acids, Lipopolysaccharide and IL-1 α Induce Adipocyte Manganese Superoxide Dismutase Which Is Increased in Visceral Adipose Tissues of Obese Rodents. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e86866. [[CrossRef](#)]
56. Mathieu, E.; Bernard, A.-S.; Ching, H.Y.V.; Somogyi, A.; Medjoubi, K.; Fores, J.R.; Bertrand, H.C.; Vincent, A.; Trépout, S.;
Guerquin-Kern, J.-L.; et al. Anti-Inflammatory Activity of Superoxide Dismutase Mimics Functionalized with Cell-Penetrating Peptides. *Dalton Trans. Camb. Engl. 2003* **2020**, *49*, 2323–2330. [[CrossRef](#)]
57. Schrader, M.; Krieglstein, K.; Fahimi, H.D. Tubular Peroxisomes in HepG2 Cells: Selective Induction by Growth Factors and Arachidonic Acid. *Eur. J. Cell Biol.* **1998**, *75*, 87–96. [[CrossRef](#)]
58. Girnun, G.D.; Domann, F.E.; Moore, S.A.; Robbins, M.E.C. Identification of a Functional Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Response Element in the Rat Catalase Promoter. *Mol. Endocrinol.* **2002**, *16*, 2793–2801. [[CrossRef](#)]
59. Mattace Raso, G.; Simeoli, R.; Russo, R.; Santoro, A.; Pirozzi, C.; d’Emmanuele di Villa Bianca, R.; Mitidieri, E.; Paciello, O.;
Pagano, T.B.; Orefice, N.S.; et al. N-Palmitoylethanolamide Protects the Kidney from Hypertensive Injury in Spontaneously Hypertensive Rats via Inhibition of Oxidative Stress. *Pharmacol. Res.* **2013**, *76*, 67–76. [[CrossRef](#)]
60. Balkan, J.; Parldar, F.H.; Dog̃ru-Abbasog̃lu, S.; Aykaç-Toker, G.; Uysal, M. The Effect of Taurine or Betaine Pretreatment on Hepatotoxicity and Prooxidant Status Induced by Lipopolysaccharide Treatment in the Liver of Rats. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2005**, *17*, 917–921. [[CrossRef](#)]
61. Hsu, D.-Z.; Chiang, P.-J.; Chien, S.-P.; Huang, B.-M.; Liu, M.-Y. Parenteral Sesame Oil Attenuates Oxidative Stress after Endotoxin Intoxication in Rats. *Toxicology* **2004**, *196*, 147–153. [[CrossRef](#)]
62. Zhu, J.-H.; Lei, X.G. Lipopolysaccharide-Induced Hepatic Oxidative Injury Is Not Potentiated by Knockout of GPX1 and SOD1 in Mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2011**, *404*, 559–563. [[CrossRef](#)]
63. Roy, B.; Jacobson, A. The Intimate Relationships of mRNA Decay and Translation. *Trends Genet. TIG* **2013**, *29*, 691–699. [[CrossRef](#)]
64. Guan, B.-J.; Krokowski, D.; Majumder, M.; Schmotzer, C.L.; Kimball, S.R.; Merrick, W.C.; Koromilas, A.E.; Hatzoglou, M. Translational Control during Endoplasmic Reticulum Stress beyond Phosphorylation of the Translation Initiation Factor EIF2 α . *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 12593–12611. [[CrossRef](#)]



[Tapez ici]

65. Rabie, K.; Mourad, K.; Imig, J.D.; Meryem, E.; Zouhra, D.; Nacieri Mrabti, H.; Elmsellem, H.; Abdelaziz, B.; Yahia, C.; Katim, A. Antioxidant Activities, Total Polyphenolic Compounds And Hplc/Dad/Ms Phenolic Profile of Argan Oil Derived from Two Different Methods of Extractions. *J. Chem. Pharm. Res.* **2017**, *8*, 1320–1327.
66. Seiquer, I.; Rueda, A.; Olalla, M.; Cabrera-Vique, C. Assessing the Bioavailability of Polyphenols and Antioxidant Properties of Extra Virgin Argan Oil by Simulated Digestion and Caco-2 Cell Assays. Comparative Study with Extra Virgin Olive Oil. *Food Chem.* **2015**, *188*, 496–503. [[CrossRef](#)]
67. Martínez-Huélamo, M.; Rodríguez-Morató, J.; Boronat, A.; De la Torre, R. Modulation of Nrf2 by Olive Oil and Wine Polyphenols and Neuroprotection. *Antioxidants* **2017**, *6*, 73. [[CrossRef](#)]
68. Cherkaoui-Malki, M.; Meyer, K.; Cao, W.Q.; Latruffe, N.; Yeldandi, A.V.; Rao, M.S.; Bradfield, C.A.; Reddy, J.K. Identification of Novel Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha (PPARalpha) Target Genes in Mouse Liver Using CDNA Microarray Analysis. *Gene Expr.* **2001**, *9*, 291–304. [[CrossRef](#)]
69. Feingold, K.R.; Wang, Y.; Moser, A.; Shigenaga, J.K.; Grunfeld, C. LPS Decreases Fatty Acid Oxidation and Nuclear Hormone Receptors in the Kidney. *J. Lipid Res.* **2008**, *49*, 2179–2187. [[CrossRef](#)]
70. Cherki, M.; Derouiche, A.; Drissi, A.; El Messal, M.; Bamou, Y.; Idrissi-ouadghiri, A.; Khalil, A.; Adlouni, A.; Msik, B. Consumption of Argan Oil May Have an Antiatherogenic Effect by Improving Paraoxonase Activities and Antioxidant Status: Intervention Study in Healthy Men. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2005**, *15*, 352–360. [[CrossRef](#)]
71. Wiesinger, C.; Kunze, M.; Regelsberger, G.; Forss-Petter, S.; Berger, J. Impaired Very Long-Chain Acyl-CoA β -Oxidation in Human X-Linked Adrenoleukodystrophy Fibroblasts Is a Direct Consequence of ABCD1 Transporter Dysfunction. *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 19269–19279. [[CrossRef](#)]
72. Baarine, M.; Andréoletti, P.; Athias, A.; Nury, T.; Zarrouk, A.; Ragot, K.; Vejux, A.; Riedinger, J.M.; Kattan, Z.; Bessede, G.; et al. Evidence of Oxidative Stress in Very Long Chain Fatty Acid—Treated Oligodendrocytes and Potentialization of ROS Production Using RNA Interference-Directed Knockdown of ABCD1 and ACOX1 Peroxisomal Proteins. *Neuroscience* **2012**, *213*, 1–18. [[CrossRef](#)]
73. Kemp, S.; Berger, J.; Aubourg, P. X-Linked Adrenoleukodystrophy: Clinical, Metabolic, Genetic and Pathophysiological Aspects. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* **2012**, *1822*, 1465–1474. [[CrossRef](#)]
74. El Kharrassi, Y.; Maata, N.; Mazri, M.A.; El Kamouni, S.; Talbi, M.; El Kebbaj, R.; Moustaid, K.; Essamadi, A.K.; Andreoletti, P.; El Mzouri, E.H.; et al. Chemical and Phytochemical Characterizations of Argan Oil (*Argania spinosa* L. Skeels), Olive Oil (*Olea europaea* L. Cv. Moroccan Picholine), Cactus Pear (*Opuntia megacantha* Salm-Dyck) Seed Oil and Cactus Cladode Essential Oil. *J. Food Meas. Charact.* **2018**, *12*, 747–754. [[CrossRef](#)]
75. Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* **1951**, *193*, 265–275. [[CrossRef](#)]
76. Ni, J.; Sasaki, Y.; Tokuyama, S.; Sogabe, A.; Tahara, Y. Conversion of a Typical Catalase from *Bacillus* Sp. TE124 to a CatalasePeroxidase by Directed Evolution. *J. Biosci. Bioeng.* **2002**, *93*, 31–36. [[CrossRef](#)]
77. Beyer, W.F.J.; Fridovich, I. Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions. *Anal. Biochem.* **1987**, *161*, 559–566. [[CrossRef](#)]
78. Flohé, L.; Günzler, W.A. Assays of Glutathione Peroxidase. *Methods Enzymol.* **1984**, *105*, 114–121. [[CrossRef](#)]
79. ELLMAN, G.L. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arch. Biochem. Biophys.* **1959**, *82*, 70–77. [[CrossRef](#)]
80. Ohkawa, H.; Ohishi, N.; Yagi, K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal. Biochem.* **1979**, *358*, 351–358. [[CrossRef](#)]
81. Raas, Q.; Gondcaille, C.; Hamon, Y.; Leoni, V.; Caccia, C.; Menetrier, F.; Lizard, G.; Trompier, D.; Savary, S. CRISPR/Cas9-Mediated Knockout of Abcd1 and Abcd2 Genes in BV-2 Cells: Novel Microglial Models for X-Linked Adrenoleukodystrophy. *Biochim Biophys Acta Mol. Cell Biol. Lipids* **2019**, *1864*, 704–714. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



Discussion

Le lipopolysaccharide (LPS) ou endotoxine est un glycolipide qui constitue une portion majeure de la membrane externe des bactéries Gram-négatives (Raetz, 1990). Il ressort de ce travail que le LPS induit une forte perturbation de l'équilibre redox dans le foie et le cerveau des souris accompagné d'une dérégulation de la fonction peroxysomale et une induction de l'inflammation. Ces effets délétères ont été atténués ou complètement supprimés par l'action de l'huile d'argan aussi bien dans le cerveau que dans le foie.

Après 28 jours de traitement avec l'HA, l'HO ou l'HC et/ou l'injection du LPS quatre heures ante-mortem, nous avons évalué la concentration du glutathion dans sa forme réduite GSH, et le niveau de la peroxydation lipidique via le dosage du MDA. Le GSH est un substrat qui joue un rôle majeur dans la défense de la cellule contre les radicaux libres (Schmitt et al., 2015). Les résultats ont montré une augmentation de la GSH hépatique en réponse au traitement avec le LPS, les résultats trouvés sont en accord avec les résultats décrits par (Al-Rikabi et al., 2020; Sewerynek et al., 1995), alors que la GSH cérébrale a été diminuée significativement après injection du LPS en comparaison avec les souris control. Ces perturbations dans la teneur hépatique et cérébrale en GSH ont été atténuées par le prétraitement avec l'huile d'argan et non pas l'huile d'olive ou l'huile de colza. L'huile d'argan est plus riche en Co-Q10 que l'huile d'olive et l'huile de colza cette coenzyme joue le rôle d'un régulateur du taux de la GSH (Yenilmez et al., 2010), et protège les membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique. Cette dernière a été évaluée par le dosage du taux du MDA considéré comme l'un des produits finaux de la peroxydation des acides gras polyinsaturés dans les cellules. La peroxydation lipidique peut entraîner des changements dans la fluidité et la perméabilité des membranes cellulaires, elle peut aussi augmenter le taux de dégradation des protéines, qui enfin conduit à la lyse cellulaire (Horton and Walker, 1993). L'injection du LPS entraîne une augmentation significative du MDA aussi bien dans le cerveau que dans le foie, l'induction du MDA par le LPS a été largement documentée (Doğanyığıt et al., 2013; Noworyta-Sokołowska et al., 2013; Savran et al., 2019; Swarnkar et al., 2009). Cet effet a été efficacement atténué par non seulement l'huile d'argan, mais aussi l'huile d'olive et de colza. La composition riche de l'huile d'argan en Vitamine E, acide férulique et d'autres antioxydants qui jouent un rôle important dans la stabilisation des membranes cellulaires et la protection de leurs intégrités (Drissi et al., 2004b; López et al., 2013; Rachida et al., 2013b). Dans le cerveau la peroxydation lipidique est



[Tapez ici]

considéré comme un facteurs majeure déclenchant les maladies neurodégénératives (Reed, 2011; Shichiri, 2014). Quant à l'évaluation des marqueurs de l'inflammation les résultats montrent que le LPS induit une forte augmentation de l'expression de l'ARNm du *TNF α* une cytokine pro-inflammatoire qui est considérée comme une cytokine centrale dans la pathogenèse du choc septique (Mira et al., 1999). Le LPS est un puissant activateur de la production et de l'accumulation d'ARNm et de protéines de TNF-alpha dans les macrophages murins (Shi et al., 2021) .Il orchestre l'inflammation qui lorsqu'elle devient chronique ou dure trop longtemps, conduit au développement et ou à la progressions de plusieurs maladies. Aussi parmi les résultats marquant cette étude l'élévation de l'expression de l'ARNm de l'IL10 par le LPS, ces données sont en accord avec les résultats trouvés par (Abdel-Salam et al., 2014; Ko et al., 2008). Aussi nos résultats montrent que l'injection du LPS une augmentation significative de l'activité antioxydante des enzymes peroxysomales comme la catalase, la SOD, et la GPX dans le cerveau, seul l'activité de la GPX a été diminué dans le foie. Le LPS induit une augmentation des activités des enzymes antioxydantes (Dalia et al., 2015; El Kamouni et al., 2017b). L'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes peroxysomale reflète une forte perturbation du statut antioxydant hépatique et cérébrale cette perturbation peut conduire à des lésions cérébrales et hépatiques irréversible (Shirley et al., 2014), le stress oxydatif joue un rôle majeur dans l'induction des lésions tissulaires du cerveau (Wang and Michaelis, 2010). Cependant, nous avons constaté une diminution de l'activité de la GPX dans le foie en réponse à la stimulation avec les LPS. Ce dernier peut entrainer une diminution importante de la GPX hépatique chez la souris et le rat (Bharrhan et al., 2010; Kim and Ha, 2010). Ces effets délétères causé par le LPS ont été prévenue chez les souris ayant reçues un prétraitement avec l'huile d'argan, d'olive ou de colza. Pourtant cet effet hépato et neuro- protecteur a été plus prononcé chez les souris prétraitées avec l'huile d'argan en comparaison avec les deux autres huiles. Grace à sa composition riche en polyphénols, tocophérols et phytostérols l'huile d'argan est douté d'un grand pouvoir antioxydant et antiradicalaire (Drissi et al., 2004b; Mansour et al., 2018; Marfil et al., 2011b).



Article 3 : Spinasterol et schottenol déminuent le stress oxydatif et améliore la fonction peroxysomale altéré par le LPS

Introduction

Dans ce troisième et dernier chapitre, et après avoir étudié l'effet de l'huile d'argan entière sur deux modèles différents *in-vitro* et *in-vivo* et afin de déterminer les composants majeurs derrière l'activité biologique de l'huile d'argan, nous avons choisi de focaliser nos études cette fois-ci sur les phytostérols de l'huile d'argan essentiellement le schotténol et le spinastérol, vu les résultats prometteuses qu'on a eu sur le cerveau dans l'étude *in-vivo* nous avons choisi d'étudier l'effet de ces deux phytostérols chez un modèle de cellules neuronales murins qui est la lignée cellulaire murine microgliale BV-2 de type sauvage (WT) et déficiente en Acox1 (Acox1 *-/-*) obtenues par la technique CRISPR-Cas 9 (Raas et al., 2018).

Les effets antioxydants et anti-inflammatoires de l'huile d'argan ont été discutés dans plusieurs études (Drissi et al., 2004b; El Kamouni et al., 2017b; Kamal et al., 2019b, 2017; H. B. Menni et al., 2019), Cependant le nombre des études s'intéressant à l'identification des molécules responsables de cette activité biologique reste limité, en particulier les études sur les phytostérols de l'huile d'argan (Badreddine et al., 2015; El Kharrassi et al., 2014b).

La présente étude avait pour objectif l'évaluation de l'effet cytoprotecteur des deux phytostérols majeurs de l'huile d'argan (schotténol et spinasterol) contre le stress oxydatif, la dérégulation de la fonction peroxysomale et l'inflammation induite par le LPS chez les BV-2 WT et (Acox1 *-/-*). Dans cette optique le test MTT a été performé pour déterminer la concentration qui ne présente aucune cytotoxicité et / ou n'influence pas la viabilité des BV-2 WT et (Acox1 *-/-*) pour cela une gamme de concentration de schotténol et spinasterol (0 à 20µM) a été testée pendant 24h et 48h, le 7KC a été utilisé comme contrôle positif. Le 7KC est un produit d'oxydation majeur toxique et pro-oxydant du cholestérol connu pour son effet cytotoxique (Nury et al., 2013). Afin d'évaluer l'effet cytoprotecteur du schottenol et du spinasterol différents paramètres ont été évalués. La production du monoxyde d'azote (NO) dans le milieu de culture par les BV-2 WT et (Acox1 *-/-*) a été estimée en utilisant le Griess test, une méthode colorimétrique souvent exploitée pour l'analyse quantitative des NO en milieu aqueux. Ensuite la capacité du schottenol et spinasterol à inhiber la production des ERO induite



[Tapez ici]

par le LPS a été évalué par la H₂-DCFDA une sonde spécifique de la détection du H₂O₂ mais peut être oxydé par le radical hydroxyle, les hydro peroxydes et le peroxydinitrite avec une sensibilité considérablement réduite par rapport à celle du H₂O₂ (Yang et al., 2014). La sonde DHE a été utilisée également pour la détection des radicaux superoxydes. Ensuite l'impact des deux phytostérols sur la fonction peroxysomale a été étudié par la mesure des niveaux des transcrits impliqués dans le transport des AGTL (*ABCD1* et *ABCD2*), l'enzyme limitante de la β -oxydation peroxysomale *Acox1* et la *Cat*, ainsi que leurs expressions protéiques par western blotting. , puis l'expression des ARNm des protéines marqueurs de l'inflammation (*TNF α* , *IL-1 β* , *iNOS* et *IL-4*) a été évalué. Enfin l'activité enzymatique de la *Cat* a été mesurée dans les deux lignées cellulaires hors l'activité de l'*Acox1* a été évalué seulement dans les BV-2 WT.



Two argan oil phytosterols, Schottenol and Spinasterol, attenuate oxidative stress and restore LPS-dysregulated peroxisomal functions in BV-2 microglial cells

Soukaina Essadek^{1,2}, Catherine Gondcaille², Stéphane Savary², Joseph Vamecq³, Mohammad Samadi⁴, Gérard Lizard², Norbert Latruffe², Boubker Nasser¹, Mustapha Cherkaoui-Malki², Pierre Andreoletti²

- ¹ Laboratoire Biochimie, Neurosciences, Ressources Naturelles et Environnement, Faculté des Sciences et Techniques, Université Hassan I, BP577, Settat 26000, Morocco ; mouniajoutey@gmail.com (M. T-J) ; f.z.saih@hotmail.com (F-E. S) ; boubker.nasser@uhp.ac.ma (B.N) ; elkebbajriad@gmail.com (R.E.) ;
 - ² Laboratoire Bio-PeroxiL EA7270, Univ. Bourgogne Franche-Comté, 6 Bd Gabriel, 21000 Dijon, France ; catherine.gondcaille@u-bourgogne.fr (C.G.) ; stsavary@u-bourgogne.fr (S.S.) ; Gerard.Lizard@u-bourgogne.fr (L.G) ; Norbert.latruffe@u-bourgogne.fr (N.L) ;
 - ³ Laboratory of Health Sciences and Technologies, Higher Institute of Health Sciences, Hassan First University, Settat 26000, Morocco ;
 - ⁴ INSERM and HMNO, CBP, CHRU Lille, 59037 Lille and RADEME EA 7364, Faculté de Médecine, Université de Lille 2, 59045 Lille, France ; joseph.vamecq@inserm.fr (J.V).
- * Correspondence: malki@u-bourgogne.fr (M.C.-M.); pierre.andreoletti@u-bourgogne.fr (P.A.); Tel.: +33-380-39-62-37 (M.C.-M.); Tel.: +33-380-39-62-55 (P.A.) ; boubker.nasser@uhp.ac.ma (B.N); Tel.: +212-663-863-543 (B.N.).

Abstract: Oxidative stress and inflammation are the key players in neuroinflammation, in which, microglia dysfunction plays a central role. Previous studies suggest that argan oil attenuate oxidative stress, inflammation and peroxisomes dysfunction in the mouse brain. In this study we explored the effects of two major argan oil phytosterols, Schottenol (Schot) and Spinasterol (Spina), on oxidative stress, inflammation and peroxisomal dysfunctions in two murine microglial BV-2 cell lines, *Wild type (Wt)* and the *Acyl-CoA oxidase 1 (Acox1)*-deficient cells challenged with LPS treatment. Our results showed, using MTT test, that only Spina treatment exhibit a significant 20% of negative cells with depolarized mitochondria at 20 μ M. However, no cytotoxicity was observed with concentrations up to 5 μ M for both phytosterols. In LPS-activated microglial cells, cotreatment with each of these phytosterols, revealed a significant decrease in intracellular ROS production and in NO level released in the culture medium. On the other hand, LPS treatment dysregulated peroxisomal antioxidant and fatty acid oxidation pathway. However, both Schot or Spina treatment normalizes the catalase activity, and enhanced ACOX1 activity. These data suggest that Schot or Spina can protect cell from oxidative stress and its harmful consequences on peroxisomal functions and homeostasis of microglial cells, which play a key role in brain neuroinflammation.

Keywords: Argan oil; Spina; Schot, peroxisome, microglia, ACOX1, inflammation, PPAR, catalase, LPS. (List three to ten pertinent keywords specific to the article yet reasonably common within the subject discipline.)



[Tapez ici]

1. Introduction

Microglial cells play a sentinel role in the regulation of the brain development and homeostasis [1]. They are involved in the oxidative stress, the neuroinflammation and the physiopathogenesis of several neurodegenerative diseases, including Alzheimer disease, multiple sclerosis and peroxisomal leukodystrophies [2]. Activated microglia may disturb healthy neurons leading to neurodegeneration [3], by producing proinflammatory molecules, counting tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1, IL-6, reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO) [4–6]. Activation of microglia can also be triggered by Lipopolysaccharides (LPS) in the brain of animal models for sepsis [7,8]. Furthermore, LPS-activated microglia can trigger the death of growing oligodendrocytes [9]. Release of ROS by LPS-activated microglia is a key step in the generation of neurotoxicity [10], which can be principally abrogated by neutralizing the extracellular hydrogen peroxide and superoxide by catalase and superoxyde dismutase treatment respectively [11,12]. This underlines the key antioxidant function of peroxisomal proteins.

Peroxisomal leukodystrophies are illustrated by the peroxisome biogenesis disorders caused by a mutation of one of the peroxin encoding genes, leading to Zellweger syndrome spectrum [13,14]. On the other hand, inborn errors in the transport or in the metabolism of very long chain fatty acids (VLCFA) into the peroxisome are associated with the ATP binding cassette transporter D1(ABCD1) mutations in x-adrenoleukodystrophy and acyl-CoA oxidase 1 (ACOX1) gene deletions/mutations in ACOX1 deficiency respectively [2,13]. In these leukodystrophies increased oxidative stress, associated with peroxisomal metabolism dysfunction, is now considered as the first hit in the development of neurodegeneration and the progressive demyelination [15].

In the aim to decipher the role of microglia in the physiopathogenesis of the peroxisomal leukodystrophies, we generated by CRISPR/Cas9 gene-editing microglial cell models deficient in peroxisomal VLCFA β -oxidation pathway. [16,17]. Among these cell models, microglial *BV-2-Acox1*^{-/-} cell line revealed a deep change in the expression of several key genes involved in microglial functions related to antioxidant activity, inflammation and phagocytosis [17]. Recently, we reported that argan oil (AO) pretreatment can abrogate the early oxidative stress caused by LPS and preserve peroxisomal functions, including antioxidant and β -oxidation activities, in both brain and liver mouse tissues [18]. In oligodendrocytes, AO has been shown to attenuate oxidative stress, organelle dysfunctions and cell death generated by pro-oxidant compounds such as 7-ketocholesterol [19]. In addition, the AO phytosterols, Schot (Schot) and Spina (Spina), are able to modulate the mitochondrial membrane potential of the microglial BV-2 cells [20].

Phytosterols enriched foods have been marketed for decades and have gained much attention in the last few years (Lin et al., 2016). They belong to the triterpene family with a cholesterol-like structure and are presents at high concentration in edible vegetable oils (Jones et al., 1997). Total



[Tapez ici]

phytosterols varies between 83 and 160 mg/ 100 g of argan oil, which contains as major sterols in mg/100g oil: α -cholestanol (12.63%), campestanol (3.73%) campesterol (0.2%), Δ -7-Avenasterol (4.2%), β -Sitosterol (3.56%), spinasterol (35.3%) and schottenol (43,8%) [20,21]. Phytosterols are widely used as food supplements and claimed with high benefice to human in health and disease (Mukherjee, 2019). The pharmacological properties of plant phytosterols on human health have been investigated in several studies (Yuan et al., 2019). Phytosterols interfere with the intestinal absorption of cholesterol, leading to the reduction of blood cholesterol levels (Hayes et al., 2004; Jones et al., 1997; Varady et al., 2007) and underlining their benefice in lowering the risk of cardiovascular disease (Moghadasian, 2000). Phytosterols revealed also significant anti-inflammatory, antibacterial, anti-ulcerative, and antitumor properties (Arisawa et al., 1985; Berger et al., 2004; Yuan et al., 2019). These compounds reduced the expression of the pro-inflammatory mediators (i.e., cyclooxygenase-2 and nitric oxide synthase (iNOS)), in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages (Huang et al., 2008).

Although the antioxidant and anti-inflammatory effects of AO have been particularly investigated, up-to date few data described the compounds responsible for its biological activities. Here we attempted to investigate the antioxidant and the anti-inflammatory effects, as well as the restoration capacity of peroxisomal functions of two major argan oil phytosterols derivatives, Schot and Spina. In this study, we investigated there effects on both Wild type (*Wt*) and ACOX1 deficient (*Acox1^{-/-}*) BV-2 cell lines, activated or not by LPS (Raas et al., 2018).

2. Materials and Methods

2.1. Cells culture and treatments

The BV-2 microglial Murine cell line wild-type (WT) and Knockout *Acox1^{-/-}* were grown and maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Lonza, Amboise, France)) supplemented with 10% fetal bovine heat- inactivated serum ((Dutscher, Brumath, France) and 1% penicillin/streptomycin antibiotics (Dutscher). Cells were cultured in appropriate seeding density at 37°C in a humidified incubator under 5% CO₂. Cells were trypsinized (0.05% trypsin–0.02% EDTA solution).

Schot and Spina were synthesized by Pr. Mohammad Samadi and previously characterized (Ref). 5 mg of Schot or Spina were diluted in 500 μ l of absolute ethanol, afterwards the solutions were sonicated for 10 min then stored at 4°C until use by dilution in the culture medium to achieve the final concentrations as indicated in the figures. The 7-Ketocholesterol (7-KC) known for its cytotoxicity was used as a positive control in the MTT assay. Stock solution was prepared by dissolving 5mg of 7-KC in 250 μ l of absolute ethanol, then diluted in the culture medium to achieve a final concentration of 20 μ M.



[Tapez ici]

2.2. MTT test

MTT test was used to evaluate the cytotoxicity of Spina and Schot at 24h and 48h treatment on BV2-Wt and BV2-Acox1-/- cells proliferation and/or viability. Cells were seeded in 24-well-plates (4×10^4 cells/well) and treated for 24h or 48h with Spina at: 1; 2.5; 5 or 20 μ M, with Schot at: 1; 2.5; 5 or 20 μ M, or with 7KC at 20 μ M as a positive control. At the end of the treatment, cells were incubated for 3h with an MTT solution at final concentration of 0.05mg/ml. After the incubation 1ml of DMSO/well was added in order to dissolve the formazan crystals. Absorbance was measured at 595nm.

2.3. Griess test

Nitric oxide production in the culture medium was measured using the Griess reagent test. 24h after cell incubation with different treatment: Schot at 1 or 2.5 μ M and Spina 1 or 2.5 μ M. Activation was performed with LPS (1 μ g/ml). The supernatant was removed and placed in a 96-well plate, an equal volume of griess reagent (1% sulphanilamide, 0.1% naphthyl-ethylene-diamine in 5% H₃PO₄) was added, after 30min incubation in the dark at RT the absorbance was measured at 540 nm. For the calibration curve, NaNO₂ dilutions from 0.39 to 100 μ M were used.

2.4. Measurement of intracellular ROS

Intracellular ROS production level were measured using 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate H₂DCFDA and dihydroethidium (DHE) assays. Cells were seeded in a 96-well-plate at a density of 2×10^4 cells/well in DMEM phenol red-free medium for 7h with different treatment with or without LPS stimulation. Then treatment medium was discarded and cells were washed with PBS and incubated with either 5 μ M H₂DCFDA or 10 μ M DHE for 70 min at 37°C in 5% CO₂. Cell fluorescence emission was measured using a fluorescence spectrophotometer (Tecan Infinite Pro M200). Hoechst staining was used to estimate cells density and calculate ROS production per cell.

2.5. Cells homogenate preparation

BV-2 cells (8×10^6) were rinsed in PBS and then lysed in RIPA lysis buffer (Tris 1M; NaCl 150 mM; NP-40 at 1% ; SDS 0,1% and desoxycholate sodium 1%) containing a mixture of protease inhibitors. Cells were homogenized on ice using by ultrasound then centrifuged for 30 min at 50 000g. The supernatants were collected and the protein content was measured using bovine serum albumin as a standard and Bicinchoninic Acid Kit (SigmaAldrich). Samples were stored at -80°C until use for further experiments.

2.6. Catalase Activity measurement

Catalase activity was evaluated following a photometric measurement of the H₂O₂ decomposition by catalase contained in the cell extract at 240 nm. The reaction was carried out in special UV



[Tapez ici]

microplate of 96 well (type Greiner 655801). A reaction mixture of H₂O₂ solution (30%), Tris-HCl buffer (1M, pH 7.4) was added to the cell extract and the reaction was followed for 2 min. One unit of the enzyme is defined as 1 μ mol of H₂O₂ consumed per minute and the specific activity is reported as units per milligram of protein

2.7. Acyl-CoA oxidase 1 activity measurement

Measurement of ACOX1 activity was performed according to the protocol described by Oaxaca-castillo et al. (2009) using a fluorimetric based assay. The reaction was carried out in a 96 well plate, a reaction mixture of 200 μ l containing Tris buffer (50 mM, pH 8.3), horseradish peroxidase (20 mg/mL), homovanillic acid (0.75 mM), and acyl-CoA substrate (palmitoyl-CoA at 50 mM final concentration). The reaction was started at 30°C by the addition of 10 μ l of enzymatic solution. The kinetics of appearance of fluorescence was measured at 420 nm every 30 seconds for 120 cycles (total kinetic of 60 minutes) using a fluorimeter (Fluorimeter/luminometer Infinite M200 pro, TECAN). The initial rate of the reaction was determined from the kinetic curves and the calculation of the specific activity of ACOX1 is expressed in units of H₂O₂ produced per minute per milligram of protein.

2.8. Immunoblotting

Cell protein lysate was prepared as described above. Fifty μ g of proteins were diluted (v/v) in the loading buffer (125 mM Tris-HCl, pH 6.8, 4% SDS, 20% glycerol, 14% mercaptoethanol, and 0.003% Bromophenol blue) and complete denaturation of proteins was obtained by incubation at 100 °C for 5 min. Samples were then separated on a 10% SDS-PAGE gel, and then transferred onto PVDF membrane. The non-specific binding sites were blocked with 5% nonfat milk in TBST (10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20, pH 8) for 1 h at room temperature. The membrane was incubated with the primary antibody diluted in 1% milk TBST over-night at 4 °C. (anti-ABCD1, "serum 029" from BioPeroxIL laboratory, [81] dilution 1/2000; anti-ABCD2, ab 102948, ab 102948 from Abcam, dilution 1/1000 ; anti-catalase, AF3398 from R&D Systems, dilution 1/400; anti- β -actin, A2228 from Sigma-Aldrich, dilution 1/10,000). Following three washes for 10 min in PBST, the membranes were immersed for 1 h at room temperature with an appropriate secondary antibody (dilution 1/5000 in 1% milk TBST) conjugated to horseradish peroxidase. We washed then membranes three times in TPBS for 10 min. and the Supersignal West Femto Maximum Sensitivity Substrate (ThermoFisher Scientific) was used to reveal the immunoreactivity through enhanced chemiluminescence and a Chemidoc XRS+ device (Bio-Rad). Using the Image Lab software (Bio-Rad), we performed the images processing and quantification.

2.9. Quantitative Reverse transcription-PCR



[Tapez ici]

We used RT-QPCR to determine mRNA expression in microglia cell lines, BV-2 Wt and Acox1^{-/-}, after different treatments. Cells were collected by trypsinization (trypsin-EDTA (2mM) solution) and then washed twice with PBS after centrifugation for 5 min at 300g. Cell pellets were used for total RNA extraction and purification using the RNeasy Mini kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) following the manufacturer's instructions. The purity of nucleic acids was controlled by the ratio of absorbance at 260 nm to 280 nm, accepting a ratio between 1.8 and 2.2. cDNA was generated by reverse transcription using iScript cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad) according to the manufacturer's instructions. Quantitative PCR of cDNA was realized using the FG Power SYBR Green (Thermo Fischer Scientific), and an iCycler iQ Real-Time Detection System (Bio-Rad). Primer sequences are described in the Table 1. PCR reactions were realized in triplicate in a final volume of 15 μ L containing 7.5 μ L of MESA Green qPCR Mastermix (Eurogentec, Uppsala, Sweden), 3.5 μ L of cDNA and forward and reverse primers at 300 nM. Thermal cycling conditions were accomplished by activation of DNA polymerase at 95 °C for 10 min, followed by 40 cycles of amplification at 95 °C for 15 s, 60 °C for 30 s, and 72 °C for 30 s. The melting curve analysis was realized to control for the absence of non-specific products. For each transcript, the amplification efficiency was determined by the slope of the standard curve generated from twofold serial dilutions of cDNA. The $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method was used to determine the relative gene expression. Results are depicted as graphs of relative expression data (fold induction) with fold positive values representing the up-regulation, fold negative values the down-regulation, and 0 as no variation of the expression [22].

3. Results

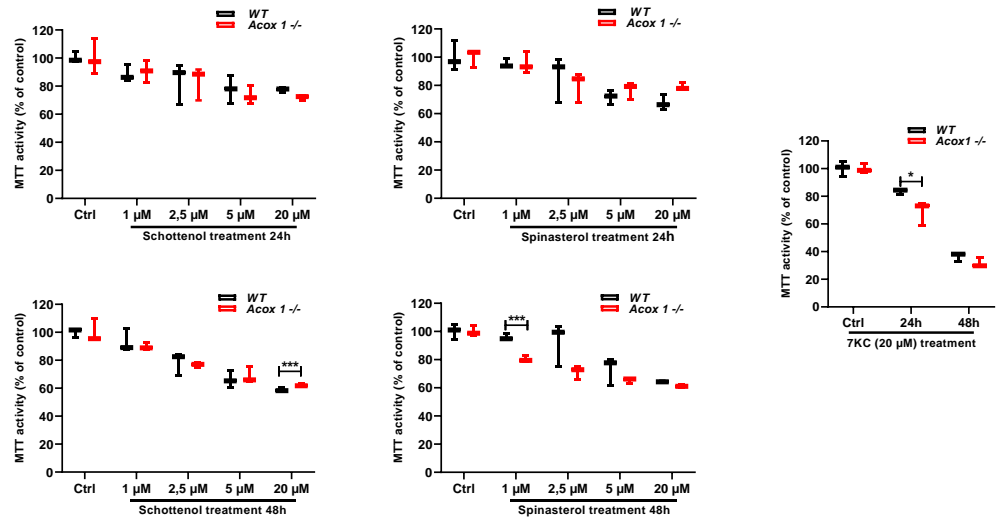
3.1. Effect of SC and SP on mitochondrial function

In order to evaluate the effect of scottenol and Spina on the mitochondrial function and cell viability of BV-2 (WT and Acox 1^{-/-}), MTT test was performed. The effect of Spina and Schot on cell viability was assessed at various concentrations (1- 2.5- 5 and 20 μ M) for 24 and 48 hours. 7-ketocholesterol was used at (20 μ M) as a positive control. No cytotoxic effect was shown under Schot and spinastrol at (1 and 2.5 μ M) treatment for 24h (fig1. A and B). No significant difference was found between the effect of the two PSs on BV-2 WT and Acox 1^{-/-}. even at the highest concentration tested which is 20 μ M, cells viability showed to be stable around 75 %, However, treatment with SC and SP for 48h showed a more pronounced effect, SC treatment induced a decrease of cell viability by 40% at 20 μ M whereas BV-2 WT showed to be more sensitive to SC treatment compared to BV-2 Acox1^{-/-} cells (60% vs 63%) respectively (fig 1. C).



[Tapez ici]

Figure 1: Schot or Spina effect on the cell proliferation and viability of the Wt and the Acox1-/- microglial BV-2 cells. Cell



proliferation and viability were assessed by the MTT test. Cells were treated with Schot or Spina with a range of concentrations from 1 to 20 μM for 24 or 48 hours. 7-Ketocholesterol (7-KC) (20μM) was used as a positive control. Values were normalized to the control and were considered statistically significance (Student t-test) at P< 0.05 (*).

On the other hand BV-2 Acox1 -/- showed to be highly sensitive to SP treatment compared with BV-2 WT cells especially at (1 and 2.5μM). like SC, at 48h SP decreased cells (BV-2 WT and Acox 1-/-) viability by almost 40%. Moreover data obtained after 7-KC treatment (fig 1. E) revealed that mitochondrial activity of BV-2 Acox 1-/- cells was significantly affected by 7-KC treatment at 24h compared to BV-2 WT . Cell viability of both type of cells was reduced in response to 7-KC treatment at 24 and 48h, the inhibition of cell growth reached 75% when BV-2 Acox 1-/- cells were treated with 7-KC for 48h. 7KC is a major toxic and pro-oxidant product of cholesterol oxidation known for its cytotoxic effect and its ability to trigger cell death (Nury et al., 2013).

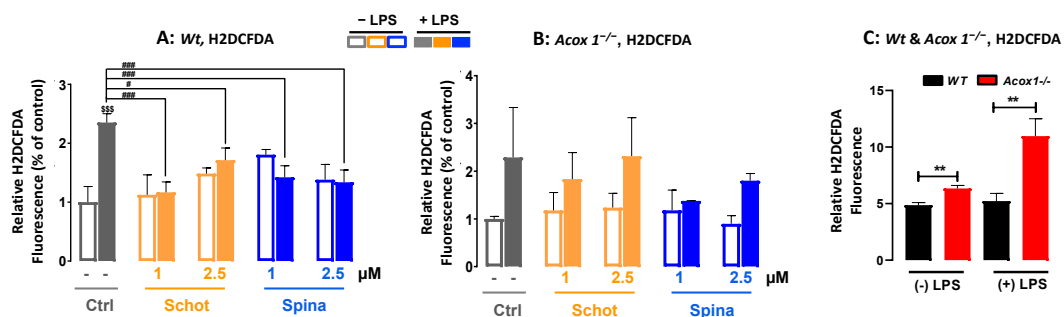


Figure 2: Schot or Spina effect on ROS production induced by LPS in the Wt (A) and the Acox1-/- (B) microglial BV-2 cells assessed by the H2DCFDA (5μM) dye test. (C) comparison of ROS production in both cell genotypes under control or LPS-induced conditions. Cells were incubated

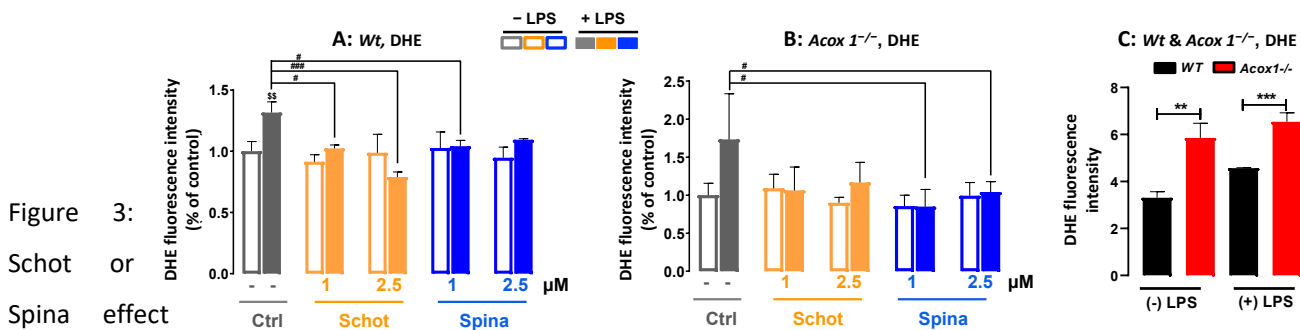


[Tapez ici]

during 7 hours with Schot or Spina (1 or 2.5 μ M), in the absence or the presence of LPS (1 μ g/ml). All values are means \pm SD (n = XX), statistical significance of higher mean signal (***) p \leq 0.001. ** p \leq 0.01. * p \leq 0.05) compared to control, (### p \leq 0.01. ## p \leq 0.01) compared to LPS, and (\$\$\$ p \leq 0.001. \$\$ p \leq 0.01) compared to the different treatments with or without LPS administration. Statistics were executed using two-way ANOVA followed by Tukey test for multiple comparisons.

3.2. SC and SP effect on LPS induced intracellular ROS accumulation

ROS play a crucial role in cell signalization growth differentiation, proliferation and apoptosis the production of ROS is an inevitable process resulting from a multiple cells reactions. In this study we investigated the effect of SC and SP at (1 and 2.5 μ M) on intracellular ROS accumulation induced by LPS treatment at 1 μ g/ml. We used two different dyes H2DCFDA and DHE, H2-DCFDA is a specific probe for the detection of H2O2 but can be oxidized by hydroxyl radical, hydro peroxides and peroxynitrite with considerably reduced sensitivity compared to that of H2O2 (Yang et al., 2014). The DHE probe was used for the detection of superoxide radical. The results (fig 2. A) show that the treatment with SC or SP alone slightly increased ROS production in BV-2 WT but remained insignificant compared to the control group. Regarding BV2 Acox 1^{-/-} the treatment with SC or SP alone at the 2 concentrations had nearly no effect on ROS production. However, LPS treatment induced a significant increase in ROS intracellular production in BV-2 WT LPS treated group (2.3 fold) compared to the control (fig 2.A) this increase was significantly decreased by the co-treatment with SC and SP especially at 1 μ M. on the other hand with BV-2 Acox 1^{-/-} the increase of ROS production by LPS treatment was less pronounced and remained non-significant, SC failed to suppress LPS effect when SP showed more efficiency in decreasing ROS production in both cell lines.

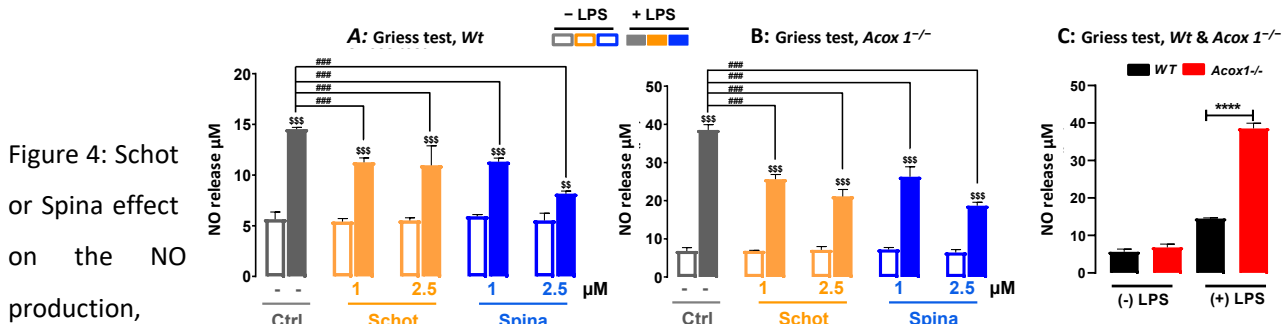


on ROS production induced by LPS in the Wt (A) and the Acox1^{-/-} (B) microglial BV-2 cells assessed by the DHE (5 μ M) dye test. (C) comparison of ROS production in both cell genotypes under control or LPS-induced conditions. Cells were incubated during 7 hours with Schot or Spina (1 or 2.5 μ M), in the presence or absence of LPS (1 μ g/ml). All values are means \pm SD (n = XX), statistical



[Tapez ici]

significance of higher mean signal (** $p \leq 0.001$. ** $p \leq 0.01$. * $p \leq 0.05$) compared to control, (### $p \leq 0.01$. ## $p \leq 0.01$) compared to LPS, and (\$\$\$ $p \leq 0.001$. \$\$ $p \leq 0.01$) compared to the different treatments with or without LPS administration. Statistics were executed using two-way ANOVA followed by Tukey test for multiple comparisons.



induced by LPS, in the culture medium of the Wt (A) and the Acox1^{-/-} (B) microglial BV-2 cells assessed by the Griess test. (C) comparison of NO release in both cell genotypes under control or LPS-induced conditions. Cells were incubated for 24h with Schot or Spina (1 or 2.5µM), in the absence or the presence of LPS (1µg/ml). All values are means \pm SD (n = XX), statistical significance of higher mean signal (** $p \leq 0.001$. ** $p \leq 0.01$. * $p \leq 0.05$) compared to control, (### $p \leq 0.01$. ## $p \leq 0.01$) compared to LPS, and (\$\$\$ $p \leq 0.001$. \$\$ $p \leq 0.01$) compared to the different treatments with or without LPS administration. Statistics were executed using two-way ANOVA followed by Tukey test for multiple comparisons

Detection of superoxide radical by DHE probe revealed broadly similar results to H2DCFDA test. The results (fig 3. A) indicate that The treatment with SC or SP alone had no effect on superoxide production. LPS treatment induce a significant increase in superoxide radical accumulation in BV-2 WT LPS treated group compared to the control group these effect was significantly attenuated by the co-treatment with SC at (1 and 2.5 µM) in a dose-dependent manner, and by SP at (1µM) compared to LPS treated group. The treatment with SC or SP alone had no effect on superoxide production. Meanwhile data (fig 3. B) show that BV-2 Acox1^{-/-} LPS treated group indicates an insignificant increase in superoxide production (1.7 fold) that was significantly decreased (0.8 fold) only by SP at (1µM) and remarkably enhanced by SC co-treatment at (1 and 2.5 µM) and SP at (2.5 µM) but remained non-significant compared with LPS treated group . In both experiments (H2DCFDA and DHE) BV2 Acox 1^{-/-} cell line showed to be more affected by LPS treatment and produced high levels of ROS compared to BV-2 WT cell line (fig 2 and 3. C).

3.3. SC and SP effects on LPS induced nitric oxide generation

Nitric oxide is a signaling molecule known for its important role in acute and chronic inflammation, in the nervous system and in apoptosis (Laroux et al., 2001). In order to evaluate SC and SP anti-



[Tapez ici]

inflammatory effect, we investigated the role of SC and SP on LPS induced NO generation. Data (fig 4. A) show that the treatment with SC or SP alone at (1 and 2.5) had no effect on NO production in BV-2 WT cells. After incubation with LPS NO accumulation increased significantly by (3 folds) in LPS treated group compared to control group. An inhibitory effect of NO accumulation was remarked in SC-LPS and SP-LPS treated group interestingly in a dose-dependent manner with SP co-treatment. Regarding NO accumulation in BV-2 Acox 1 -/- cell line, results (fig 4. B) indicate that SC or SP alone treatment conveyed no effect on NO accumulation in BV-2 Acox 1 -/- cells. However LPS treatment induce a significant increased in NO generation which reached nearly 8 folds in LPS treated group compared to the control group. The co-treatment SC-LPS and SP-LPS decreased significantly LPS induced NO generation in a dose-dependent manner for both PSs. Furthermore, BV-2 Acox 1 -/- cell line exhibited a high sensitivity toward LPS induced NO accumulation (fig 4. C) compared to BV-2 WT.

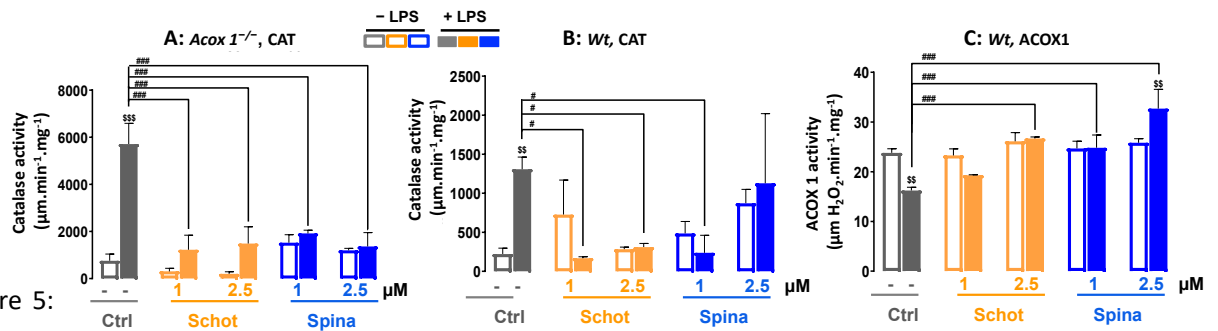


Figure 5: Schot or Spina effect on catalase activity in the Wt (A) and the Acox1- /- (B) microglial BV-2 cells. And effects on ACOX1 activity (C) in Wt microglial BV-2 cells. Cells were incubated during 24 hours with Schot or Spina (1 or 2.5 μM), in the absence or the presence of LPS (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$). All values are means \pm SD (n = XX), statistical significance of higher mean signal (***) $p \leq 0.001$. ** $p \leq 0.01$. * $p \leq 0.05$) compared to control, (### $p \leq 0.01$. ## $p \leq 0.01$) compared to LPS, and (\$\$\$ $p \leq 0.001$. \$\$ $p \leq 0.01$) compared to the different treatments with or without LPS administration. Statistics were executed using two-way ANOVA followed by Tukey test for multiple comparisons.

3.4. Effect of SC and SP on catalase and Acox1 activities

In order to investigate the effect of our two PSs (SC and SP) on peroxisomal LPS-dysregulated function the activities of catalase and Acox 1 were evaluated. The results (fig. 5 A) show that treatment with SC alone at (1 μM) in BV-2 WT cells increased insignificantly catalase activity compared to the control group, whereas at 2.5 μM the activity remained at control level. In another hand, treatment with SP alone at the two concentrations (1 and 2.5 μM) showed to increase in a dose-dependent manner catalase activity but remained insignificant compared to the control



[Tapez ici]

group. In addition, the treatment with LPS dramatically increased catalase activity by nearly 6 folds in LPS treated group compared with the control group. This effect was completely reversed when cells were co-treated with SC at (1 and 2.5 μ M) and SP at (1 μ M) who brought catalase activity to control values. Only SP at (2.5 μ M) failed to normalize Catalase activity.

Meanwhile, data (fig 5. B) show that SC alone treatment in BV-2 Acox 1 $-/-$ cell line, decreased catalase activity compared to the control group. Whereas, SP alone treatment showed to increase insignificantly catalase activity compared to the control group. Contrariwise, LPS treatment elevated significantly catalase activity by nearly 7.5 folds compared to control group this increase was significantly suppressed by SC and SP co-treatment in SC-LPS and SP-LPS treated groups compared to LPS treated group. Interestingly SP showed to enhance catalase LPS induced activity in a dose-dependent manner, the treatment of SP at 2.5 μ M brought catalase activity nearly to control values.

Acox 1 is the first and rate limiting enzyme in peroxisomal β -oxidation, in this study we evaluated the effect of SC and SP on BV-2 WT Acox 1 activity altered by LPS treatment. The results (fig 5. C) show that both SC or SP alone treatment increase Acox 1 activity. Conversely, LPS treatment decreased significantly Acox 1 activity in LPS treated group compared to control group. This decrease in Acox 1 activity was enhanced significantly by SC treatment at 2.5 μ M and by SP treatment at (1 and 2.5 μ M) in a dose-dependent manner.

3.5. Effects of SC and SP on peroxisomal proteins expression

In order to investigate the role of SC and SP treatments on peroxisomal function and inflammation induced by LPS, we evaluated the expression of peroxisomal proteins (Catalase, ACOX1, ABCD1 and ABCD2) and inflammation marker iNOS in BV-WT and Acox 1 $-/-$ the results differed from a protein to another and among cell lines. The results (Fig 6) show that LPS treatment increased the expression of ACOX1 51KDa peptide and didn't affect the expression of the 72KDa one, the treatment with SC (2.5 μ M) or SP (1 μ M) alone showed to increase both peptides expression 51KDa and 72KDa, whereas the combined treatment SC-LPS or SP-LPS remarkably decreased both peptides expression in BV-2 WT. On the other hand incubation with LPS increased the catalase (2.2 and 1.3 folds) and Inos (39.6 and 53.3 folds) protein expression in BV-2 WT and Acox1 $-/-$ respectively compared to control group. This increased showed to be attenuated by SC and SP co-treatment, SC at 1 μ M brought catalase protein expression to control value in BV-2 WT cell line, Both SC and SP exhibited a high efficiency in decreasing LPS induces Inos expression in BV-2 WT compared with BV-2 Acox1 $-/-$. The treatment with SC or SP alone had no effect on catalase protein expression in BV-2 Acox1 $-/-$ where it showed to slightly increased it in BV-2 WT.



[Tapez ici]

ABCD1 and ABCD2 are peroxisomal transporters suggested to be involved in the transport of very long chain acyl-CoA with differences in substrate specificity (Morita and Imanaka, 2012). LPS treatment decreased both ABCD1 and ABCD2 protein expression in BV-2 WT LPS treated group compared to control group, while only ABCD1 protein expression was decreased by LPS treatment in BV-2 Acox1^{-/-} compared to control group. Only SC co-treatment at 2.5 μM and SP at 1μM enhanced ABCD1 protein expression affected by LPS treatment. Both of the PSs failed to enhance ABCD2 protein expression after LPS incubation with BV-2 WT. Regarding BV-2 Acox1^{-/-} interestingly, the cotreatment with SC or SP enhanced

remarkably ABCD1 protein expression and brought it to control values.

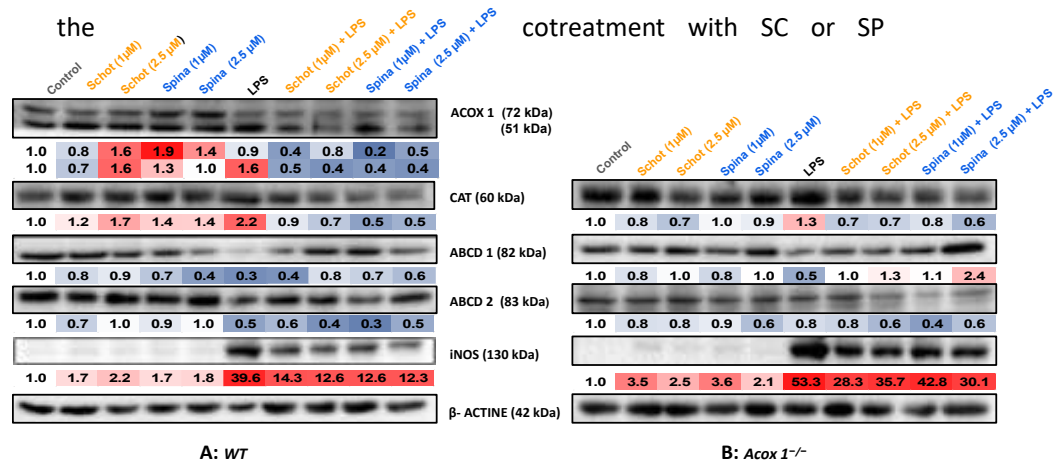


Figure 6: Immunoblotting showing Schot or Spina effect on the expressions of peroxisomal proteins, ACOX1, CAT, ABCD1, ABCD2 and on the expression of the inflammatory marker iNOS in the Wt (A) and the Acox1^{-/-} (B) microglial BV-2 cells. Cells were incubated during 24 hours with Schot or Spina (1 or 2.5 μM), in the absence or the presence of LPS (1 μg/ml). Cells homogenates were analyzed by PAGE-SDS electrophoresis and subjected to immunoblotting. Band intensities were analyzed by densitometry and standardized to β-actin expression level. Table values represent standardized densitometric analysis obtained after signal intensity quantification of different proteins.



[Tapez ici]

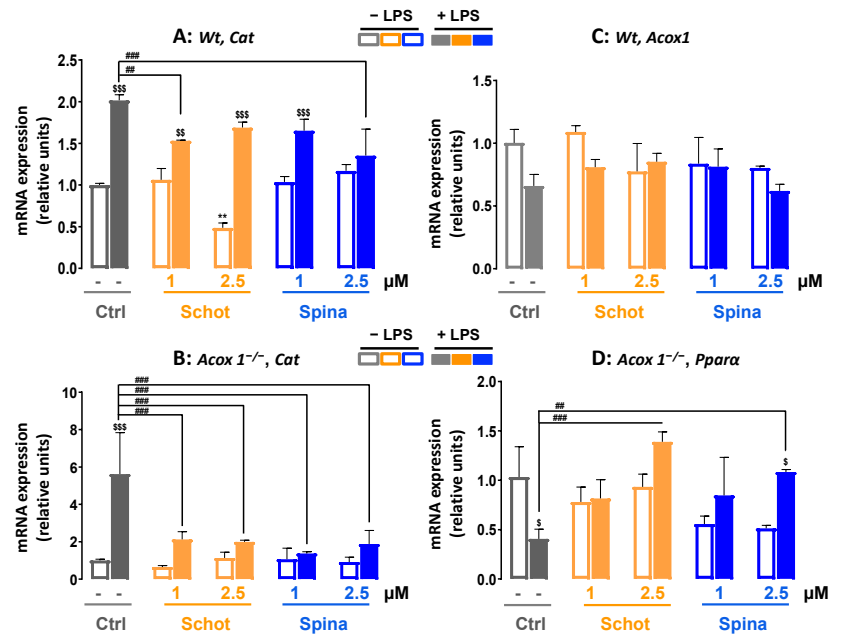


Figure 7: Effect of Schot or Spina treatment on the gene expression of Cat (A,B), Acox1 (C), and Ppara (D) in the Wt (A/C) and the Acox1^{-/-} (B/D) microglial BV-2 cells. Cells were incubated for 24h with Schot or Spina (1 or 2.5μM), in the absence or the presence of LPS (1μg/ml). Total RNA was isolated from BV-2 cells and then the expression level of genes of interest was quantified by real-time RT-qPCR. All values are means ± SD (n = 3), statistical significance of higher mean signal (*** p ≤ 0.001. ** p ≤ 0.01. * p ≤ 0.05) compared to control, (### p ≤ 0.01, # p ≤ 0.05) compared to LPS, and (\$\$\$ p ≤ 0.001) compared to the different treatments with or without LPS administration. Statistics were executed using two-way ANOVA followed by Tukey test for multiple comparisons.



[Tapez ici]

3.6. SC and SP effect on the expression of Peroxisomal Protein-Encoding Genes

In this study we investigated by RT-QPCR the effect of SC and SP treatments on the expression of four peroxisomal genes encoding for (Catalase, ABCD1, ABCD2 and ACOX1) in BV-2 WT. The results (fig 7. A) show that LPS treatment increased significantly catalase Mrna expression in LPS treated group compared to control group. Only the co-treatment SC-LPS at 1 μ M and SP-LPS at 2.5 μ M showed to decrease LPS induced catalase Mrna expression significantly. The treatment with SC alone decreased significantly catalase expression in a dose-dependent manner compared to control group, whereas treatment with SP had no effect on its expression. In addition LPS treatment decreased significantly ACOX1 Mrna expression compared to control group, the combined treatments SC-LPS or SP-LPS failed to inhibit this effect, while treatments with SC or SP alone had no effect on ACOX1 Mrna expression. Regarding the expression of gene encoding of ABC peroxisomal transports (ABCD1 and ABCD2), the results (fig 7. C and D) show that LPS treatment decreased both ABCD1 and significantly ABCD2 Mrna expression in LPS treated group compared with control group. At both concentrations (1 and 2.5 μ M) neither SC nor SP co-treatment succeed to inhibit LPS downregulated ABCD1 expression. On the contrary, both PSs counterattacked LPS effect by enhancing Mrna expression of ABCD2.

On the other hand we investigated by RT-QPCR the effect of SC and SP treatments on the expression of four peroxisomal genes encoding for (Catalase, ABCD1, ABCD2 and PPAR α) in BV-2 Acox1 $-/-$. Correspondingly to the results obtained in BV-2 WT, LPS upregulated Mrna expression of the catalase in LPS treated group of BV-2 Acox 1 $-/-$ compared to control group (fig8. A), interestingly, this effect was completely reversed by SC-LPS and SP-LPS cotreatment compared to LPS treated group, both PSs brought nearly catalase Mrna expression to control values. When incubated alone with BV-2 Acox 1 $-/-$ cell line SC and SP had no effect on catalase Mrna expression.

Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-alpha is a ligand-activated transcriptional factor that belongs to the family of nuclear receptors it regulates the expression of genes involved in fatty acid beta-oxidation. Data (fig. 8B) show that LPS treatment decrease significantly PPAR- α Mrna expression, the combined treatments SC-LPS and SP-LPS at 2.5 μ M suppressed LPS effect and significantly increased PPAR- α expression compared to LPS treated group. Both PSs at 1 μ M insignificantly and to lesser extent enhanced PPAR- α Mrna expression while treatments with SP alone at both concentration (1 and 2.5 μ M) decreased it but remained insignificant compared to control group. Furthermore, in response to LPS treatment ABCD1 and ABCD2 Mrna expression have been decreased in BV-2 Acox1 $-/-$ compared to control, neither SC nor SP co-treatment could counterattack LPS downregulation of ABCD1 and ABCD2 , When incubated alone with BV-2 Acox1 $-/-$ SP up-regulated ABCD1 Mrna express at (1 μ M) and showed to induce significantly ABCD2 Mrna expression at (1 and 2.5 μ M) compared to control group.



[Tapez ici]

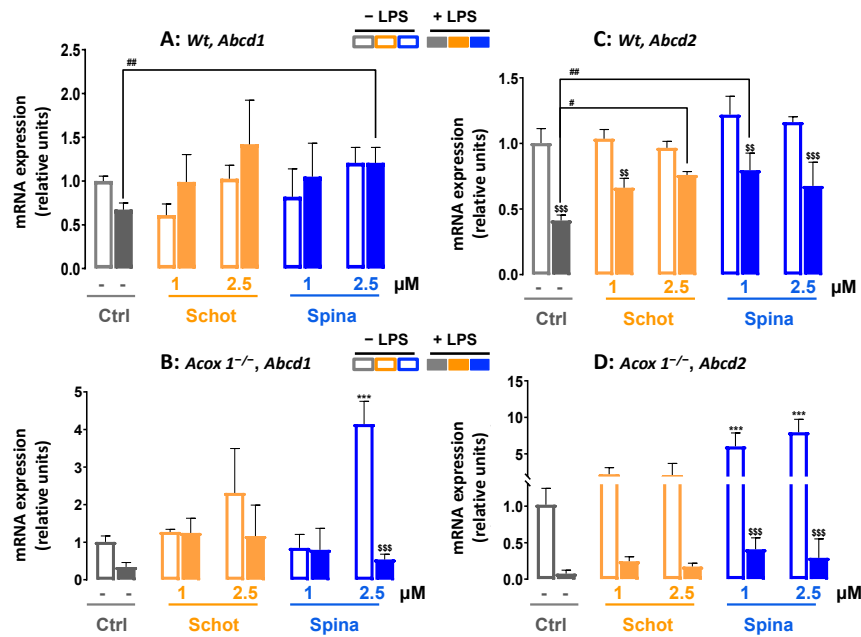


Figure 8: Effect of Schot or Spina treatment on the gene expression of Abcd1 (A/B), Abcd2 (C/D) in the Wt (A/C) and the Acox1^{-/-} (B/D) microglial BV-2 cells. Cells were incubated for 24h with Schot or Spina (1 or 2.5μM), in the absence or the presence of LPS (1μg/ml). Total RNA was isolated from BV-2 cells and then the expression level of genes of interest was quantified by real-time RT-qPCR. All values are means ± SD (n = 3), statistical significance of higher mean signal (*** p ≤ 0.001. ** p ≤ 0.01. * p ≤ 0.05) compared to control, (### p ≤ 0.01, # p ≤ 0.05) compared to LPS, and (\$\$\$ p ≤ 0.001) compared to the different treatments with or without LPS administration. Statistics were executed using two-way ANOVA followed by Tukey test for multiple comparisons.

3.7. Effect of SC and SP on the expression of inflammation markers-Encoding Genes

In order to investigate SC and SP effect on LPS- induced inflammation in mice microglia four genes encoding for inflammation markers (TNF-α, IL-1β, iNOS and IL-4) were evaluated. TNF-α is one of the most important pro-inflammatory cytokines, increased concentrations of TNF-α are found in acute and chronic inflammatory conditions. In response to LPS treatment the Mrna expression of TNF-α was induced significantly in LPS treated group compared to control group. The combined treatment SC-LPS at 1μM and SP-LPS at both concentrations attenuated significantly LPS-induced TNF-α Mrna expression. Incubation with SC alone at 2.5μM showed to downregulate TNF-α Mrna expression but remained insignificant compared to control group while the other treatments (SC at 1μM and SP at 1 and 2.5μM) showed no effect compared to the same group.



[Tapez ici]

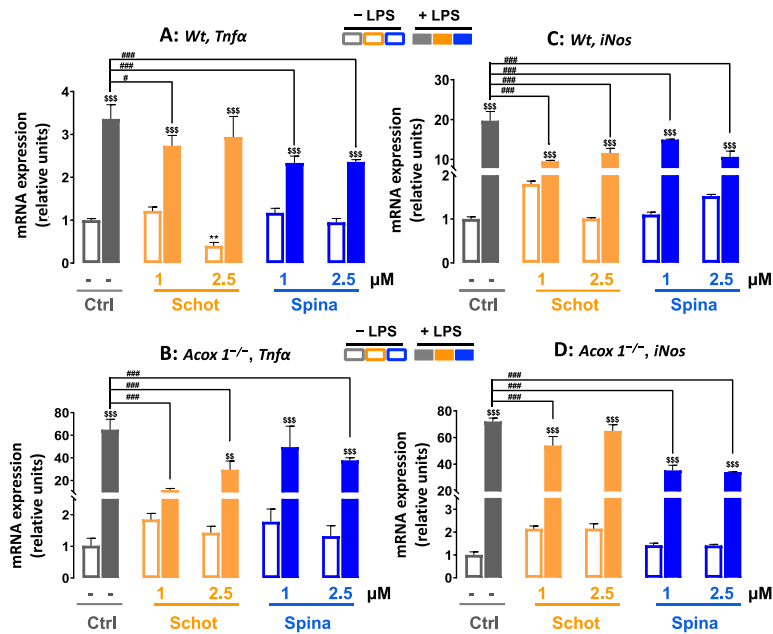


Figure 9 : Effect of Schot or Spina treatment on the gene expression of the proinflammatory markers, *Tnf-α* (A/B), *iNos* (C/D) in the Wt (A/C) and the *Acox1^{-/-}* (B/D) microglial BV-2 cells. Cells were incubated for 24h with Schot or Spina (1 or 2.5μM), in the absence or the presence of LPS (1μg/ml). Total RNA was isolated from BV-2 cells and then the expression level of genes of interest was quantified by real-time RT-qPCR. All values are means \pm SD (n = 3), statistical significance of higher mean signal (***) p \leq 0.001. ** p \leq 0.01. * p \leq 0.05) compared to control, (### p \leq 0.01, # p \leq 0.05) compared to LPS, and (\$\$\$ p \leq 0.001) compared to the different treatments with or without LPS administration. Statistics were executed using two-way ANOVA followed by Tukey test for multiple comparisons.

The results show that LPS treatment induce also another pro inflammatory cytokine IL-1 β compared to control group, this induction was significantly reversed by the co-treatments SC-LPS and SP-LPS at both concentrations. On the contrary treatment with SC or SP alone at both concentration had no effect on IL-1 β expression compared to control group. We also studied the effect of our treatments on Mrna expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS), the results (fig 8. C) indicate that LPS treatment increased Inos Mrna expression in LPS treated group compared to control group. However, the co-treatment SC-LPS and SP-LPS at both concentrations attenuated significantly Inos Mrna expression compared to LPS treated group. When incubated alone with BV-2 WT cells SC and SP showed to slightly and insignificantly increase Inos Mrna expression compared to control group. In addition, we evaluated the Mrna expression of the anti-inflammatory cytokine IL-4, data (fig 8.D) revealed that LPS treatment downregulated IL-4 Mrna expression in LPS treated group compared to control group. both co treatments SC-LPS and SP-LPS



[Tapez ici]

failed to correct LPS effect, on the contrary, the treatment with SC at both concentrations and SP at 2.5 μ M upregulated Inos Mrna expression compared to control group.

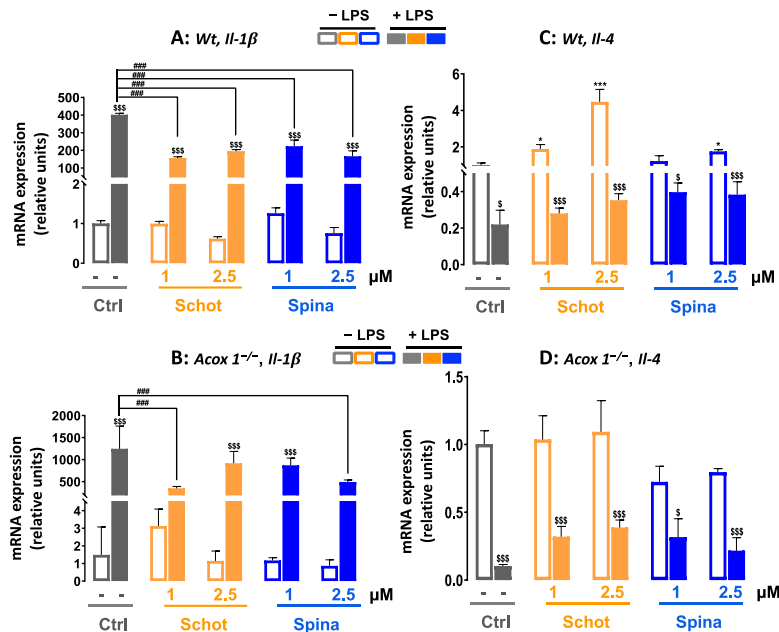


Figure 10: Effect of Schot or Spina treatment on the gene expression of the proinflammatory marker IL-1 β (A/B), the anti-inflammatory marker IL-4 (C/D) in the Wt (A/C) and the Acox1^{-/-} (B/D) microglial BV-2 cells. Cells were incubated for 24h with Schot or Spina (1 or 2.5 μ M), in the absence or the presence of LPS (1 μ g/ml). Total RNA was isolated from BV-2 cells and then the expression level of genes of interest was quantified by real-time RT-qPCR. All values are means \pm SD (n = 3), statistical significance of higher mean signal (***) p \leq 0.001. ** p \leq 0.01. * p \leq 0.05) compared to control, (### p \leq 0.01, # p \leq 0.05) compared to LPS, and (\$\$\$ p \leq 0.001) compared to the different treatments with or without LPS administration. Statistics were executed using two-way ANOVA followed by Tukey test for multiple comparisons.

Moreover, the evaluation of TNF- α and IL1- β Mrna expression in BV-2 Acox1^{-/-} cell line revealed that LPS treatment increased significantly TNF- α and IL1- β Mrna expression in LPS treated group compared to control group (fig 9. A and B), this increase was more pronounced for BV-2 Acox1^{-/-} compared to BV-2 WT cell line, the co-treatments SC-LPS at 2.5 μ M and SP-LPS at both concentration attenuated significantly LPS induced TNF- α Mrna expression compared to LPS treated group while IL1- β Mrna was attenuated significantly only by SC at 1 μ M and SP at 2.5 μ M compared to the same group. The treatment with SC alone increased TNF- α Mrna compared to control group whereas the treatments with SC or SP alone had no effect on IL1- β Mrna expression.



[Tapez ici]

In addition, data (fig 9. C) indicate that LPS treatment induce significantly Inos Mrna expression compared to control group, the cotreatment SC-LPS at 1 μ M and SP at both concentrations attenuated LPS effect. Interestingly, SP combined treatment showed more efficiency then SC to inhibit LPS effect. Contrariwise, SC and SP alone treatment had no significant effect on Inos Mrna expression compared to control group.

In addition the Mrna expression of the anti-inflammatory cytokine IL-4 was assessed in BV-2 Acox1 -/-, in response to LPS treatment the Mrna expression of IL-4 have been decreased significantly in LPS treated group compared with control group. None of treatment has a significant impact on LPS downregulation of IL-4. The treatment with SP alone at both concentrations decreased IL-4 Mrna expression but remained insignificant compared to control group.

4. Discussion

BV-2 is a type of microglial cell derived from C57/BL6 murine. Microglial cells are resident macrophages of the central nervous system, they play a key role in brain infections and inflammation (Graeber, 2003). Over activation of microglial cells induces neuronal damage and loss that lead to development of various neurodegenerative diseases (Saliba et al., 2018), the control of microglia activation play crucial role in inhibiting development of neurodegenerative disorders or attenuating their progression (Subhramanyam et al., 2019). In the last decades plant-derived compounds with pharmacological activities have received an intensive attention from scientists as an alternative of many synthetic drugs for treating neurological disorders. In this study we evaluated the effect of two phytosterols Schot and Spina on LPS induced inflammation in murine microglia BV-2 WT and Acox1-deficient cell line (Acox 1 -/-) a model for Acyl-CoA oxidase (ACOX1) deficiency which is a rare and severe peroxisomal leukodystrophy associated with a very long-chain fatty acid (VLCFA) β -oxidation defect (Raas et al., 2018). Our results showed that at low concentration SC and SP had no effect on BV-2 WT and Acox1-/- viability and mitochondrial function. In a previous study our team showed that SC and SP from argan oil or from cactus seed oil are not toxic to microglial BV2 cells and can impact the mitochondrial membrane potential (El Kharrassi et al., 2014). We notice that mitochondrial function of both cell lines was significantly altered by 7-KC treatment at 20 μ M especially at 48h treatment, 7-KC induce cell death by causing a specific form of cytotoxic activity defined as oxiaoptophagy, including oxidative stress, induction of death by apoptosis associated with autophagic criteria (Nury et al., 2021), the absence of ACOX1 enzyme simultaneously with treatment with 7-KC double challenged Acox1-/- cell line which mitochondrial function showed to be more affected than BV-2 WT by 7-KC treatment.



[Tapez ici]

Furthermore, we evaluated total ROS production by (H2DCFDA), this probe is widely applied as a hydrogen peroxide (H2O2) specific probe but broadly it can detect a wide range of ROS such as, superoxide ions (O2⁻) hydroxyl radicals (•OH), peroxynitrite (ONOO⁻) (Kaur et al., 2016). We also used DHE probe to detect superoxide radicals. Superoxide is the most important ROS in the central nervous system (CNS) (Jelinek et al., 2021). Our results revealed a strong induction of ROS production by BV-2 WT and Acox 1 ^{-/-} in response to LPS treatment. microglia are activated by LPS that trigger massive ROS production (More and Makola, 2020; Sousa et al., 2020; Zhang et al., 2022), ROS can initiate apoptosis and disrupt the blood-brain barrier (BBB), producing damage to the brain that may be irreversible (Qu et al., 2016). the increased amount of ROS generation was significantly inhibited by both PSs (SC and SP). In their study (Yoshida and Niki, 2003) showed that phytosterol chemically acts as an antioxidant and radical scavengers. Moreover, SC and SP attenuated the activity, Mrna and protein expression of catalase induced by LPS, catalase constitute the main enzyme in peroxisomal H2O2 neutralization to produce water and oxygen, perturbation of catalase activity is related to many neurodegenerative diseases (Nandi et al., 2019). Previously we observed that argan oil regulates catalase activity, Mrna and protein expression induced by LPS in mice brain (Essadek et al., 2022), data obtained in this study suggest that SC and SP may be the component behind this activity, they act like antioxidants and prevents H2O2 accumulation which prevent the increase of catalase expression and activity induced by LPS, thus phytosterols modulate antioxidant enzymes activities and act like ROS scavengers (Baskar et al., 2012; Vivancos and Moreno, 2005). The participation of oxidative stress in the development of several neurodegenerative disorders has been largely documented (Andersen, 2004; Cenini et al., 2019; Halliwell, 2006).

Lipid metabolism is crucial for neuronal development , synaptic plasticity and microglial function (Jo and Cho, 2019), perturbation of lipid metabolism at the level of synthesis, transport, or catabolism contributes to the pathogenesis of several neurodegenerative disorders, including Alzheimer's disease (Lizard et al., 2012) Parkinson's disease (Chen et al., 2012) and ACOX1 deficiency (OMIM #264470) which is an autosomal recessive disorder that causes a rapid and severe loss of nervous system function associated with developmental regression, recurrent seizures, exaggerated reflexes, loss of vision and hearing, and death between 4 and 10 years of age (Chung et al., 2020), in the present study we evaluated the protein, Mrna expression and the activity of Acox1 in BV-2 WT, ACOX1 is a peroxisomal protein required for degrading VLCFA by the process of peroxisomal β -oxidation, it is mostly expressed in glial cells. We also evaluated the Mrna and protein expression of ABCD1 and ABCD2. ABCD1 and ABCD2 belong to peroxisomal ATP-binding cassette (ABC) transporters family, they transport CoA-esters of VLCFA into peroxisomes for degradation by β -oxidation (Morita and Imanaka, 2012), ABCD1 deficiency is the principal cause of the inherited peroxisomal disorder X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD), associated with



[Tapez ici]

neurodegeneration and inflammatory cerebral demyelination (Pujol et al., 2004; Singh et al., 2009). Our results showed that LPS treatment attenuated both Mrna expression and enzymatic activity of Acox1 and shown to have no remarkable effect on its protein expression, Acox1 deficiency causes an accumulation of VLCFA and glial loss within the CNS (Griffin and Ackerman, 2020), on the other hand LPS decreased both Mrna and protein expression of ABCD1 in BV-2WT and Acox1 $-/-$. LPS down regulate ABC transporters expression (Baranova et al., 2002; Khovidhunkit et al., 2003), in cultured macrophage foam cells, stigmasterol increased expression of ABCA1 and ABCG1 and increased efflux of cholesterol to apolipoprotein (Apo) AI and high-density lipoprotein (HDL) (Sabeva et al., 2011), in their study (Gibson et al., 2012) found that LPS stimulates microglia impairs efflux of prototypical ABC transporter substrates by altering mRNA and protein expression, in part through NF- κ B signaling. Moreover, we evaluated the Mrna expression of PPAR- α in BV-2 Acox1 $-/-$ results showed a strong downregulation of PPAR- α expression by LPS treatment. PPAR- α is a transcription factor regulated by different factors (nutrition, hormone release, cytokines and growth factors) (Contreras et al., 2013), PPAR α target genes are involved in glucose and lipid metabolism and inflammation modulating pathways (Lefebvre et al., 2006), activated PPARs possess an anti-inflammatory action shown by their ability to inhibit gene expression of proinflammatory transcription factors, including signal transducer and activator of transcription (STAT), activator protein-1 (AP-1), and nuclear factor (NF- κ B) (Zhang et al., 2014). A study performed by (Nomaguchi et al., 2011) showed that aloe vera phytosterols act as ligands for PPAR and improve the expression levels of PPAR target genes in the livers of mice with diet-induced obesity. In this study we report an up regulation of PPAR- α by SC and SP. Phytosterols directly serve as ligands of (PPARs), activating Sirtuin 1 (SIRT-1), which are involved in the regulation of lipid metabolism and the pathogenesis of dementia (Shuang et al., 2016). It was reported that phytosterols esters regulate the expression of TGF- β 1, TGF- β 2, TNF- α , UCP-2, PPAR- α and PPAR- γ in hepatic tissue at both mRNA and protein level (Song et al., 2017).

Furthermore, we evaluated NO production in the culture medium by BV-2 WT and Acox 1 $-/-$ after LPS stimulation. NO is a signaling molecule produced by NO synthase (NOS), NO plays a key role in neurotransmission and neuroinflammation, in the brain NO mediate the interactions between neurons and glial cells within the CNS (Saravi, 2017), there are three isoforms of NOS, neuronal NOS (nNOS), endothelial NOS (eNOS) which produce a non-harmful NO that may have a neuroprotective effect because it can terminate the chain reactions within lipid peroxidation, inducible NOS (iNOS), which produce a damaging NO that acts as pro-oxidant by reacting with superoxide and forming highly reactive ONOO- (Shirley et al., 2014). Our results showed that LPS treatment increased NO release by BV-2 WT and Acox 1 $-/-$ in the culture medium as well as the mRNA and protein expression of Inos, It is well established that microglial cells constitute the main source of iNOS/NO after LPS treatment, under normal condition Inos is not expressed in the brain,



[Tapez ici]

but inflammatory mediators such as LPS and cytokines cause its expression in microglia and astrocytes (Saha and Pahan, 2006; Steinert et al., 2010). The NO released from activated microglia acts at the presynaptic site blocking the reuptake of glutamate, which induce activation of N-Methyl-D-aspartate (NMDA) receptors and facilitate neuronal death (Luo et al., 2011). Here we report that SC and SP significantly decrease NO release in the culture medium and Inos Mrna and protein expression induced by LPS, accumulating evidence suggest that phytosterols reduce NO production (Bradford and Awad, 2007; Moreno, 2003; Sharma et al., 2021). In addition to NO, activated microglia cells also release other inflammatory mediators, such as, TNF- α and IL-1 β (Babić Leko et al., 2020). To further investigate the anti-inflammatory effect of SC and SP we evaluated Mrna expression of TNF- α and IL-1 β in BV-2 WT and Acox 1 -/-, we notice that Acox 1 -/- microglia release significantly greater amounts of all three mediators (NO, TNF- α and IL-1 β) compared with wild-type microglia, in addition mRNA expression of both pro-inflammatory cytokines (TNF- α and IL-1 β) were induced by LPS. When activated by LPS Microglia produce neurotoxic pro-inflammatory factors (Qin et al., 2005), TNF- α is a potent pro-inflammatory cytokine and an important factor in the regulation of neuronal apoptotic cell death (Wilms et al., 2010). During acute inflammation TNF- α plays a key role in restoring brain homeostasis, acting as a defensive guard to protect against CNS injury, infection and neurodegeneration (Belarbi et al., 2012; Muhammad, 2019; Shi et al., 2013). When released at high concentrations TNF- α promote apoptosis and activates NF- κ B, which leads to proinflammatory cytokine production and thus neuroinflammation and neuronal death (Jung et al., 2019; McFarland et al., 2018). Additionally, IL-1 β is a cytokine that can activate microglia and astrocytes and lead to synthesis of other proinflammatory and chemotactic mediators within the CNS (Lynch, 2015), overexposure of IL-1 β causes considerable neuronal, vascular, and oligodendrocyte damage in many neurodegenerative diseases including Parkinson's and Alzheimer diseases (Koprach et al., 2008; Shaftel et al., 2008). Several studies reported that stimulation of microglia by LPS induced the releases of inflammatory mediators, such as NO, PGE₂, TNF- α , and IL-1 β (Thameem Dheen et al., 2007), our results showed that cotreatment with SC and SP inhibited LPS-induced inflammatory mediators NO, TNF- α , and IL-1 β production. These results indicated that SC and SP had anti-inflammatory effects on LPS-stimulated BV2 microglial cells. Inhibition of pro-inflammatory cytokines has been evaluated as a key mechanism to attenuate neurodegenerative diseases (Qian et al., 2010). Several phytosterols have been reported to have an anti-inflammatory effect manifested by their ability to inhibit production and activation of nitric oxide (NO), (iNOS), (TNF- α), cyclooxygenase-2 (COX-2), and phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinase (p-ERK) (Jie et al., 2022; Yuan et al., 2019a). In a clinical trial (Kurano et al., 2018) demonstrated the existence of a negative correlation between sitosterol levels and serum TNF α and IL-6 levels. In our study we also found that SC and SP increase the Mrna expression of the anti-inflammatory cytokine IL-4 decreased by LPS. IL 4 is a



[Tapez ici]

pleiotropic cytokine that regulates brain homeostasis it has been described to have anti-inflammatory properties and a regulatory effect such as tissue repair and cellular protection on microglia activation in neuroinflammation (Butovsky et al., 2006; Jeong et al., 2019). In his study (Spittau, 2017) showed that CNS delivery of IL-4 constitute a potent therapeutic approach to reduce neuronal damage induced by microglia-induced inflammatory responses in neurodegenerative disorders. In addition IL-4 is showed to suppress the release of pro-inflammatory cytokines, such as IL-1 β , IL-6, TNF- α , and NO (Hühner et al., 2017; Park et al., 2005), these findings are in consistent with our results which showed that the enhancement of IL-4 Mrna expression by SC and SP attenuated the Mrna expression of IL-1 β TNF- α , and Inos.

References

1. Salvi, J.; Andreoletti, P.; Audinat, E.; Baland, E.; Ben Fradj, S.; Cherkaoui-Malki, M.; Heurtaux, T.; Liénard, F.; Nédélec, E.; Rovère, C.; et al. Microgliosis: A Double-Edged Sword in the Control of Food Intake. *FEBS J* **2022**, doi:10.1111/febs.16583.
2. Trompier, D.; Vejux, A.; Zarrouk, A.; Gondcaille, C.; Geillon, F.; Nury, T.; Savary, S.; Lizard, G. Brain Peroxisomes. *Biochimie* **2014**, *98*, 102–110, doi:10.1016/j.biochi.2013.09.009.
3. von Bernhardt, R.; Eugenín-von Bernhardt, L.; Eugenín, J. Microglial Cell Dysregulation in Brain Aging and Neurodegeneration. *Front Aging Neurosci* **2015**, *7*, 124, doi:10.3389/fnagi.2015.00124.
4. Cunningham, C. Microglia and Neurodegeneration: The Role of Systemic Inflammation. *Glia* **2013**, *61*, 71–90, doi:10.1002/glia.22350.
5. Pawate, S.; Shen, Q.; Fan, F.; Bhat, N.R. Redox Regulation of Glial Inflammatory Response to Lipopolysaccharide and Interferongamma. *J Neurosci Res* **2004**, *77*, 540–551, doi:10.1002/jnr.20180.
6. Perry, V.H.; Teeling, J. Microglia and Macrophages of the Central Nervous System: The Contribution of Microglia Priming and Systemic Inflammation to Chronic Neurodegeneration. *Seminars in Immunopathology* **2013**, *35*, 601–612, doi:10.1007/s00281-013-0382-8.
7. Konsman, J.P.; Parnet, P.; Dantzer, R. Cytokine-Induced Sickness Behaviour: Mechanisms and Implications. *Trends Neurosci* **2002**, *25*, 154–159, doi:10.1016/s0166-2236(00)02088-9.
8. Vilhardt, F.; Haslund-Vinding, J.; Jaquet, V.; McBean, G. Microglia Antioxidant Systems and Redox Signalling. *Br J Pharmacol* **2017**, *174*, 1719–1732, doi:10.1111/bph.13426.
9. Li, J.; Baud, O.; Vartanian, T.; Volpe, J.J.; Rosenberg, P.A. Peroxynitrite Generated by Inducible Nitric Oxide Synthase and NADPH Oxidase Mediates Microglial Toxicity to Oligodendrocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2005**, *102*, 9936–9941, doi:10.1073/pnas.0502552102.
10. Liu, B.; Du, L.; Hong, J.S. Naloxone Protects Rat Dopaminergic Neurons against Inflammatory Damage through Inhibition of Microglia Activation and Superoxide Generation. *J Pharmacol Exp Ther* **2000**, *293*, 607–617.
11. Wang, T.; Liu, B.; Qin, L.; Wilson, B.; Hong, J.S. Protective Effect of the SOD/Catalase Mimetic MnTMPyP on Inflammation-Mediated Dopaminergic Neurodegeneration in Mesencephalic Neuronal-Glial Cultures. *J Neuroimmunol* **2004**, *147*, 68–72, doi:10.1016/j.jneuroim.2003.10.040.
12. Nell, H.J.; Au, J.L.; Giordano, C.R.; Terlecky, S.R.; Walton, P.A.; Whitehead, S.N.; Cechetto, D.F. Targeted Antioxidant, Catalase-SKL, Reduces Beta-Amyloid Toxicity in the Rat Brain. *Brain Pathol* **2017**, *27*, 86–94, doi:10.1111/bpa.12368.
13. Wanders, R.J.A. Peroxisomal Disorders: Improved Laboratory Diagnosis, New Defects and the Complicated Route to Treatment. *Mol Cell Probes* **2018**, *40*, 60–69, doi:10.1016/j.mcp.2018.02.001.
14. Fujiki, Y.; Abe, Y.; Imoto, Y.; Tanaka, A.J.; Okumoto, K.; Honsho, M.; Tamura, S.; Miyata, N.; Yamashita, T.; Chung, W.K.; et al. Recent Insights into Peroxisome Biogenesis and Associated Diseases. *J Cell Sci* **2020**, *133*, jcs236943, doi:10.1242/jcs.236943.



[Tapez ici]

15. Singh, I.; Pujol, A. Pathomechanisms Underlying X-Adrenoleukodystrophy: A Three-Hit Hypothesis. *Brain Pathol* **2010**, *20*, 838–844, doi:10.1111/j.1750-3639.2010.00392.x.
16. Raas, Q.; Gondcaille, C.; Hamon, Y.; Leoni, V.; Caccia, C.; Menetrier, F.; Lizard, G.; Tromprier, D.; Savary, S. CRISPR/Cas9-Mediated Knockout of Abcd1 and Abcd2 Genes in BV-2 Cells: Novel Microglial Models for X-Linked Adrenoleukodystrophy. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* **2019**, *1864*, 704–714, doi:10.1016/j.bbali.2019.02.006.
17. Raas, Q.; Saih, F.E.; Gondcaille, C.; Tromprier, D.; Hamon, Y.; Leoni, V.; Caccia, C.; Nasser, B.; Jadot, M.; Menetrier, F.; et al. A Microglial Cell Model for Acyl-CoA Oxidase 1 Deficiency. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* **2019**, *1864*, 567–576, doi:10.1016/j.bbali.2018.10.005.
18. Essadek, S.; Bouchab, H.; El Kebbaj, R.; Gondcaille, C.; El Kamouni, S.; Savary, S.; Vamecq, J.; Essamadi, A.; Cherkaoui-Malki, M.; Nasser, B.; et al. Effects of a Short-Term Lipopolysaccharides Challenge on Mouse Brain and Liver Peroxisomal Antioxidant and β -Oxidative Functions: Protective Action of Argan Oil. *Pharmaceuticals (Basel)* **2022**, *15*, 465, doi:10.3390/ph15040465.
19. Badreddine, A.; Zarrouk, A.; Karym, E.M.; Debbabi, M.; Nury, T.; Meddeb, W.; Sghaier, R.; Bezine, M.; Vejux, A.; Martine, L.; et al. Argan Oil-Mediated Attenuation of Organelle Dysfunction, Oxidative Stress and Cell Death Induced by 7-Ketocholesterol in Murine Oligodendrocytes 158N. *International Journal of Molecular Sciences* **2017**, *18*, 1–31, doi:10.3390/ijms18102220.
20. El Kharrassi, Y.; Samadi, M.; Lopez, T.; Nury, T.; El Kebbaj, R.; Andreoletti, P.; El Hajj, H.I.; Vamecq, J.; Moustaid, K.; Latruffe, N.; et al. Biological Activities of Schottenol and Spinasterol, Two Natural Phytosterols Present in Argan Oil and in Cactus Pear Seed Oil, on Murine Microglial BV2 Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2014**, *446*, 798–804, doi:10.1016/j.bbrc.2014.02.074.
21. El Kharrassi, Y.; Maata, N.; Mazri, M.A.; El Kamouni, S.; Talbi, M.; El Kebbaj, R.; Moustaid, K.; Essamadi, A.K.; Andreoletti, P.; El Mzouri, E.H.; et al. Chemical and Phytochemical Characterizations of Argan Oil (*Argania Spinosa* L. Skeels), Olive Oil (*Olea Europaea* L. Cv. Moroccan Picholine), Cactus Pear (*Opuntia Megacantha* Salm-Dyck) Seed Oil and Cactus Cladode Essential Oil. *Journal of Food Measurement and Characterization* **2018**, *12*, 747–754, doi:10.1007/s11694-017-9688-x.
22. Remans, T.; Keunen, E.; Bex, G.J.; Smeets, K.; Vangronsveld, J.; Cuypers, A. Reliable Gene Expression Analysis by Reverse Transcription-Quantitative PCR: Reporting and Minimizing the Uncertainty in Data Accuracy. *Plant Cell* **2014**, *26*, 3829–3837, doi:10.1105/tpc.114.130641.

Andersen, J., 2004. Oxidative stress in neurodegeneration: Cause or consequence? *Nat. Med.* 10 Suppl, S18-25. <https://doi.org/10.1038/nrn1434>

Arisawa, M., Kinghorn, A.D., Cordell, G.A., Phoebe, C.H., Farnsworth, N.R., 1985. Plant Anticancer Agents XXXVI. Schot Glucoside from *Baccharis coridifolia* and *Ipomopsis aggregata*. *Planta Med.* 51, 544–545. <https://doi.org/10.1055/s-2007-969601>

Babić Leko, M., Nikolac Perković, M., Klepac, N., Štrac, D.Š., Borovečki, F., Pivac, N., Hof, P.R., Šimić, G., 2020. IL-1 β , IL-6, IL-10, and TNF α Single Nucleotide Polymorphisms in Human Influence the Susceptibility to Alzheimer's Disease Pathology. *J. Alzheimers Dis.* 75, 1029–1047. <https://doi.org/10.3233/JAD-200056>

Baranova, I., Vishnyakova, T., Bocharov, A., Chen, Z., Remaley, A.T., Stonik, J., Eggerman, T.L., Patterson, A.P., 2002. Lipopolysaccharide down regulates both scavenger receptor B1 and ATP binding



[Tapez ici]

cassette transporter A1 in RAW cells. *Infect. Immun.* 70, 2995–3003. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.6.2995-3003.2002>

Baskar, A.A., Al Numair, K.S., Gabriel Paulraj, M., Alsaif, M.A., Muamar, M.A., Ignacimuthu, S., 2012. β -Sitosterol Prevents Lipid Peroxidation and Improves Antioxidant Status and Histoarchitecture in Rats with 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Colon Cancer. *J. Med. Food* 15, 335–343. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.1780>

Belarbi, K., Jopson, T., Tweedie, D., Arellano, C., Luo, W., Greig, N.H., Rosi, S., 2012. TNF- α protein synthesis inhibitor restores neuronal function and reverses cognitive deficits induced by chronic neuroinflammation. *J. Neuroinflammation* 9, 23. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-23>

Berger, A., Jones, P.J., Abumweis, S.S., 2004. Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids Health Dis.* 3, 5. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-3-5>

Berrougui, H., Ettaib, A., Herrera Gonzalez, M.D., Alvarez De Sotomayor, M., Bennani-Kabchi, N., Hmamouchi, M., 2003. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in Meriones shawi rats. *J. Ethnopharmacol.* 89, 15–18. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00176-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00176-4)

Bradford, P.G., Awad, A.B., 2007. Phytosterols as anticancer compounds. *Mol. Nutr. Food Res.* 51, 161–170. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600164>

Butovsky, O., Landa, G., Kunis, G., Ziv, Y., Avidan, H., Greenberg, N., Schwartz, A., Smirnov, I., Pollack, A., Jung, S., Schwartz, M., 2006. Induction and blockage of oligodendrogenesis by differently activated microglia in an animal model of multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.* 116, 905–915. <https://doi.org/10.1172/JCI26836>

Cenini, G., Lloret, A., Cascella, R., 2019. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From a Mitochondrial Point of View. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, e2105607. <https://doi.org/10.1155/2019/2105607>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2008a. Argan oil, functional food, and the sustainable development of the argan forest. *Nat. Prod. Commun.* 3, 283–288. <https://doi.org/10.1177/1934578x0800300237>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2008b. Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 632–636. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700220>

Chen, Y.-C., Wu, J.-S., Tsai, H.-D., Huang, C.-Y., Chen, J.-J., Sun, G.Y., Lin, T.-N., 2012. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR- γ) and Neurodegenerative Disorders. *Mol. Neurobiol.* 46, 114–124. <https://doi.org/10.1007/s12035-012-8259-8>

Chung, H., Wangler, M.F., Marcogliese, P.C., Jo, J., Ravenscroft, T.A., Zuo, Z., Duraine, L., Sadeghzadeh, S., Li-Kroeger, D., Schmidt, R.E., Pestronk, A., Rosenfeld, J.A., Burrage, L., Herndon, M.J., Chen, S., Shillington, A., Vawter-Lee, M., Hopkin, R., Rodriguez-Smith, J., Henrickson, M., Lee, B., Moser, A.B., Jones, R.O., Watkins, P., Yoo, T., Mar, S., Choi, M., Bucelli, R.C., Yamamoto, S., Lee, H.K.,



[Tapez ici]

Prada, C.E., Chae, J.-H., Vogel, T.P., Bellen, H.J., 2020. Loss- or Gain-of-Function Mutations in ACOX1 Cause Axonal Loss via Different Mechanisms. *Neuron* 106, 589-606.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.02.021>

Contreras, A.V., Torres, N., Tovar, A.R., 2013. PPAR- α as a Key Nutritional and Environmental Sensor for Metabolic Adaptation. *Adv. Nutr.* 4, 439–452. <https://doi.org/10.3945/an.113.003798>

Drissi, A., Girona, J., Cherki, M., Godàs, G., Derouiche, A., El Messal, M., Saile, R., Kettani, A., Solà, R., Masana, L., Adlouni, A., 2004. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin. Nutr.* 23, 1159–1166. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.03.003>

El Kharrassi, Y., Samadi, M., Lopez, T., Nury, T., El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Hajj, H.I., Vamecq, J., Moustaid, K., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., Masson, D., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2014. Biological activities of Schot and Spina, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, on murine microglial BV2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Oxysterols 446, 798–804. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.074>

Essadek, S., Bouchab, H., El Kebbaj, R., Gondcaille, C., El Kamouni, S., Savary, S., Vamecq, J., Essamadi, A., Cherkaoui-Malki, M., Nasser, B., Andreoletti, P., 2022. Effects of a Short-Term Lipopolysaccharides Challenge on Mouse Brain and Liver Peroxisomal Antioxidant and β -oxidative Functions: Protective Action of Argan Oil. *Pharm. Basel Switz.* 15, 465. <https://doi.org/10.3390/ph15040465>

Gibson, C.J., Hossain, M.M., Richardson, J.R., Aleksunes, L.M., 2012. Inflammatory Regulation of ATP Binding Cassette Efflux Transporter Expression and Function in Microglia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 343, 650–660. <https://doi.org/10.1124/jpet.112.196543>

Graeber, M.B., 2003. Microglia, in: Aminoff, M.J., Daroff, R.B. (Eds.), *Encyclopedia of the Neurological Sciences*. Academic Press, New York, pp. 137–140. <https://doi.org/10.1016/B0-12-226870-9/00476-7>

Griffin, E.N., Ackerman, S.L., 2020. Lipid Metabolism and Axon Degeneration: An ACOX1 Balancing Act. *Neuron* 106, 551–553. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.04.030>

Halliwell, B., 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J. Neurochem.* 97, 1634–1658. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x>

Hayes, K.C., Pronczuk, A., Perlman, D., 2004. Nonesterified phytosterols dissolved and recrystallized in oil reduce plasma cholesterol in gerbils and humans. *J. Nutr.* 134, 1395–1399. <https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1395>



[Tapez ici]

Huang, Y.-C., Wen, Z.-H., Wang, S.-K., Hsu, C.-H., Duh, C.-Y., 2008. New anti-inflammatory 4-methylated steroids from the Formosan soft coral *Nephthea chabroli*. *Steroids* 73, 1181–1186. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2008.05.007>

Hühner, L., Rilka, J., Gilsbach, R., Zhou, X., Machado, V., Spittau, B., 2017. Interleukin-4 Protects Dopaminergic Neurons In vitro but Is Dispensable for MPTP-Induced Neurodegeneration In vivo. *Front. Mol. Neurosci.* 10.

Jelinek, M., Jurajda, M., Duris, K., 2021. Oxidative Stress in the Brain: Basic Concepts and Treatment Strategies in Stroke. *Antioxidants* 10, 1886. <https://doi.org/10.3390/antiox10121886>

Jeong, J.Y., Chung, Y.C., Jin, B.K., 2019. Interleukin-4 and Interleukin-13 Exacerbate Neurotoxicity of Prothrombin Kringle-2 in Cortex In Vivo via Oxidative Stress. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 1927. <https://doi.org/10.3390/ijms20081927>

Jie, F., Yang, X., Wu, L., Wang, M., Lu, B., 2022. Linking phytosterols and oxyphytosterols from food to brain health: origins, effects, and underlying mechanisms. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 62, 3613–3630. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1867819>

Jo, D.S., Cho, D.-H., 2019. Peroxisomal dysfunction in neurodegenerative diseases. *Arch. Pharm. Res.* 42, 393–406. <https://doi.org/10.1007/s12272-019-01131-2>

Jones, P., MacDougall, D.E., Ntanios, F., Vanstone, C.A., 1997. Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 75, 217–227. <https://doi.org/10.1139/y97-011>

Jung, Y.J., Tweedie, D., Scerba, M.T., Greig, N.H., 2019. Neuroinflammation as a Factor of Neurodegenerative Disease: Thalidomide Analogs as Treatments. *Front. Cell Dev. Biol.* 7.

Kamal, R., Kharbach, M., Vander, Y., Zohra, H., Ghchime, R., Bouklouze, A., Cherrah, Y., Alaoui, K., 2019. In vivo anti-inflammatory response and bioactive compounds' profile of polyphenolic extracts from edible Argan oil (*Argania spinosa* L.), obtained by two extraction methods 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13066>

Kaur, N., Sharma, I., Kirat, K., Pati, P., 2016. Detection of Reactive Oxygen Species in *Oryza sativa* L. (Rice). *BIO-Protoc.* 6. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2061>

Khallouki, F., Younos, C., Soulimani, R., Oster, T., Charrouf, Z., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., Owen, R.W., 2003. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur. J. Cancer Prev.* 12, 67–75. <https://doi.org/10.1097/00008469-200302000-00011>

Khovidhunkit, W., Moser, A.H., Shigenaga, J.K., Grunfeld, C., Feingold, K.R., 2003. Endotoxin down-regulates ABCG5 and ABCG8 in mouse liver and ABCA1 and ABCG1 in J774 murine



[Tapez ici]

macrophages: differential role of LXR. *J. Lipid Res.* 44, 1728–1736. <https://doi.org/10.1194/jlr.M300100-JLR200>

Koprich, J.B., Reske-Nielsen, C., Mithal, P., Isacson, O., 2008. Neuroinflammation mediated by IL-1 β increases susceptibility of dopamine neurons to degeneration in an animal model of Parkinson's disease. *J. Neuroinflammation* 5, 8. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-8>

Kurano, M., Hasegawa, K., Kunimi, M., Hara, M., Yatomi, Y., Teramoto, T., Tsukamoto, K., 2018. Sitosterol prevents obesity-related chronic inflammation. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1863, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2017.12.004>

Lagarda, M.J., García-Llatas, G., Farré, R., 2006. Analysis of phytosterols in foods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 1486–1496. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.02.052>

Laroux, F.S., Pavlick, K.P., Hines, I.N., Kawachi, S., Harada, H., Bharwani, S., Hoffman, J.M., Grisham, M.B., 2001. Role of nitric oxide in inflammation. *Acta Physiol. Scand.* 173, 113–118. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2001.00891.x>

Lefebvre, P., Chinetti, G., Fruchart, J.-C., Staels, B., 2006. Sorting out the roles of PPAR α in energy metabolism and vascular homeostasis. *J. Clin. Invest.* 116, 571–580. <https://doi.org/10.1172/JCI27989>

Lin, Y., Knol, D., Trautwein, E.A., 2016. Phytosterol oxidation products (POP) in foods with added phytosterols and estimation of their daily intake: A literature review. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 118, 1423–1438. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500368>

Lizard, G., Rouaud, O., Demarquoy, J., Cherkaoui-Malki, M., Iuliano, L., 2012. Potential Roles of Peroxisomes in Alzheimer's Disease and in Dementia of the Alzheimer's Type. *J. Alzheimers Dis.* 29, 241–254. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111163>

Luo, T., Wu, W.-H., Chen, B.-S., 2011. NMDA receptor signaling: death or survival? *Front. Biol.* 6, 468–476. <https://doi.org/10.1007/s11515-011-1187-6>

Lybbert, T.J., Aboudrare, A., Chaloud, D., Magnan, N., Nash, M., 2011. Booming markets for Moroccan argan oil appear to benefit some rural households while threatening the endemic argan forest. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106382108>

Lynch, M.A., 2015. Neuroinflammatory changes negatively impact on LTP: A focus on IL-1 β . *Brain Res.* 1621, 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.08.040>

Marfil, R., Giménez, R., Martínez, O., Bouzas, P.R., Rufián-Henares, J.A., Mesías, M., Cabrera-Vique, C., 2011. Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*, Skeels). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 886–893. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000503>

McFarland, A.J., Davey, A.K., McDermott, C.M., Grant, G.D., Lewohl, J., Anoopkumar-Dukie, S., 2018. Differences in statin associated neuroprotection corresponds with either decreased production



[Tapez ici]

of IL-1 β or TNF- α in an in vitro model of neuroinflammation-induced neurodegeneration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 344, 56–73. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.03.005>

Moghadasian, M.H., 2000. Pharmacological properties of plant sterols. *Life Sci.* 67, 605–615. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(00\)00665-2](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)00665-2)

Monfalouti, H.E., Guillaume, D., Denhez, C., Charrouf, Z., 2010. Therapeutic potential of argan oil: A review. *J. Pharm. Pharmacol.* 62, 1669–1675. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01190.x>

More, G.K., Makola, R.T., 2020. In-vitro analysis of free radical scavenging activities and suppression of LPS-induced ROS production in macrophage cells by *Solanum sisymbriifolium* extracts. *Sci. Rep.* 10, 6493. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63491-w>

Moreno, J.J., 2003. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radic. Biol. Med.* 35, 1073–1081. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00465-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00465-9)

Morita, M., Imanaka, T., 2012. Peroxisomal ABC transporters: Structure, function and role in disease. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis., Metabolic Functions and Biogenesis of Peroxisomes in Health and Disease* 1822, 1387–1396. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.02.009>

Muhammad, M., 2019. Tumor Necrosis Factor Alpha: A Major Cytokine of Brain Neuroinflammation, *Cytokines*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85476>

Mukherjee, P.K., 2019. Phyto-Pharmaceuticals, Nutraceuticals and Their Evaluation, in: *Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs*. Elsevier, pp. 707–722. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813374-3.00020-X>

Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C.K., Das, N., 2019. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, 9613090. <https://doi.org/10.1155/2019/9613090>

Nomaguchi, K., Tanaka, M., Misawa, E., Yamada, M., Toida, T., Iwatsuki, K., Goto, T., Kawada, T., 2011. Aloe vera phytosterols act as ligands for PPAR and improve the expression levels of PPAR target genes in the livers of mice with diet-induced obesity. *Obes. Res. Clin. Pract.* 5, e190–e201. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2011.01.002>

Nury, T., Samadi, M., Zarrouk, A., Riedinger, J.M., Lizard, G., 2013. Improved synthesis and in vitro evaluation of the cytotoxic profile of oxysterols oxidized at C4 (4 α - and 4 β -hydroxycholesterol) and C7 (7-ketocholesterol, 7 α - and 7 β -hydroxycholesterol) on cells of the central nervous system. *Eur. J. Med. Chem.* 70, 558–567. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.09.028>

Nury, T., Yammine, A., Ghzaïel, I., Sassi, K., Zarrouk, A., Brahmi, F., Samadi, M., Rup-Jacques, S., Vervandier-Fasseur, D., Pais de Barros, J.P., Bergas, V., Ghosh, S., Majeed, M., Pande, A., Atanasov, A., Hammami, S., Hammami, M., Mackrill, J., Nasser, B., Andreoletti, P., Cherkaoui-Malki, M., Vejux,



[Tapez ici]

A., Lizard, G., 2021. Attenuation of 7-ketocholesterol- and 7 β -hydroxycholesterol-induced oxiaoptophagy by nutrients, synthetic molecules and oils: Potential for the prevention of age-related diseases. *Ageing Res. Rev.* 68, 101324. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101324>

Oaxaca-castillo, D., Andreoletti, P., Vluggens, A., Yu, S., Veldhoven, P.P. Van, Reddy, J.K., Cherkaoui-malki, M., 2009. NIH Public Access 360, 314–319. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.06.059>. *Biochemical*

Park, K.W., Lee, D.Y., Joe, E.H., Kim, S.U., Jin, B.K., 2005. Neuroprotective role of microglia expressing interleukin-4. *J. Neurosci. Res.* 81, 397–402. <https://doi.org/10.1002/jnr.20483>

Pujol, A., Ferrer, I., Camps, C., Metzger, E., Hindelang, C., Callizot, N., Ruiz, M., Pàmols, T., Giròs, M., Mandel, J.L., 2004. Functional overlap between ABCD1 (ALD) and ABCD2 (ALDR) transporters: a therapeutic target for X-adrenoleukodystrophy. *Hum. Mol. Genet.* 13, 2997–3006. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh323>

Qian, L., Flood, P.M., Hong, J.-S., 2010. Neuroinflammation is a key player in Parkinson's disease and a prime target for therapy. *J. Neural Transm.* 117, 971–979. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0428-1>

Qin, L., Li, G., Qian, X., Liu, Y., Wu, X., Liu, B., Hong, J.-S., Block, M.L., 2005. Interactive role of the toll-like receptor 4 and reactive oxygen species in LPS-induced microglia activation. *Glia* 52, 78–84. <https://doi.org/10.1002/glia.20225>

Raas, Q., Saih, F., Gondcaille, C., Trompier, D., Hamon, Y., Leoni, V., Caccia, C., Nasser, B., Jadot, M., Ménétrier, F., Lizard, G., Andreoletti, P., Savary, S., 2018. A microglial cell model for acyl-CoA oxidase 1 deficiency. *BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* #pagerange#. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.10.005>

Sabeva, N.S., McPhaul, C.M., Li, X., Cory, T.J., Feola, D.J., Graf, G.A., 2011. Phytosterols differentially influence ABC transporter expression, cholesterol efflux and inflammatory cytokine secretion in macrophage foam cells. *J. Nutr. Biochem.* 22, 777–783. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.07.002>

Saha, R.N., Pahan, K., 2006. Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase Gene in Glial Cells. *Antioxid. Redox Signal.* 8, 929–947. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.929>

Saliba, S.W., Jauch, H., Gargouri, B., Keil, A., Hurrle, T., Volz, N., Mohr, F., van der Stelt, M., Bräse, S., Fiebich, B.L., 2018. Anti-neuroinflammatory effects of GPR55 antagonists in LPS-activated primary microglial cells. *J. Neuroinflammation* 15, 322. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1362-7>

Saravi, S.S.S., 2017. Nitric Oxide Synthase: Simple Enzyme-Complex Roles. *BoD – Books on Demand*.



[Tapez ici]

Shaftel, S.S., Griffin, W.S.T., O'Banion, M.K., 2008. The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: an evolving perspective. *J. Neuroinflammation* 5, 7. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-7>

Sharma, N., Tan, M.A., An, S.S.A., 2021. Phytosterols: Potential Metabolic Modulators in Neurodegenerative Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 12255. <https://doi.org/10.3390/ijms222212255>

Shi, X., Chen, Y., Nadeem, L., Xu, G., 2013. Beneficial effect of TNF- α inhibition on diabetic peripheral neuropathy. *J. Neuroinflammation* 10, 836. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-69>

Shirley, R., Ord, E.N.J., Work, L.M., 2014. Oxidative Stress and the Use of Antioxidants in Stroke. *Antioxidants* 3, 472–501. <https://doi.org/10.3390/antiox3030472>

Shuang, R., Rui, X., Wenfang, L., 2016. Phytosterols and Dementia. *Plant Foods Hum. Nutr.* 71, 347–354. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0574-1>

Singh, J., Khan, M., Singh, I., 2009. Silencing of Abcd1 and Abcd2 genes sensitizes astrocytes for inflammation: implication for X-adrenoleukodystrophy *. *J. Lipid Res.* 50, 135–147. <https://doi.org/10.1194/jlr.M800321-JLR200>

Song, L., Qu, D., Zhang, Q., Jiang, J., Zhou, H., Jiang, R., Li, Y., Zhang, Y., Yan, H., 2017. Phytosterol esters attenuate hepatic steatosis in rats with non-alcoholic fatty liver disease rats fed a high-fat diet. *Sci. Rep.* 7, 41604. <https://doi.org/10.1038/srep41604>

Sousa, N.A., Oliveira, G.A.L., de Oliveira, A.P., Lopes, A.L.F., Iles, B., Nogueira, K.M., Araújo, T.S.L., Souza, L.K.M., Araújo, A.R., Ramos-Jesus, J., Plácido, A., Amaral, C., Campelo, Y.D.M., Barbosa, E.A., Portugal, C.C., Socodato, R., Lobo, A., Relvas, J., Bemquerer, M., Eaton, P., Leite, J.R.S.A., Medeiros, J.V.R., 2020. Novel Ocellatin Peptides Mitigate LPS-induced ROS Formation and NF- κ B Activation in Microglia and Hippocampal Neurons. *Sci. Rep.* 10, 2696. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59665-1>

Spittau, B., 2017. Interleukin 4-induced neuroprotection and regulation of microglia activation as a therapeutic approach in the MPTP model of Parkinson's disease. *Neural Regen. Res.* 12, 1433–1434. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.215250>

Steinert, J.R., Chernova, T., Forsythe, I.D., 2010. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. *Neurosci. Rev. J. Bringing Neurobiol. Neurol. Psychiatry* 16, 435–452. <https://doi.org/10.1177/1073858410366481>

Subhramanyam, C.S., Wang, C., Hu, Q., Dheen, S.T., 2019. Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Semin. Cell Dev. Biol., SI: Calcium signalling* 94, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.004>

Thameem Dheen, S., Kaur, C., Ling, E.-A., 2007. Microglial Activation and its Implications in the Brain Diseases. *Curr. Med. Chem.* 14, 1189–1197. <https://doi.org/10.2174/092986707780597961>



[Tapez ici]

Varady, K.A., Houweling, A.H., Jones, P.J.H., 2007. Effect of plant sterols and exercise training on cholesterol absorption and synthesis in previously sedentary hypercholesterolemic subjects. *Transl. Res. J. Lab. Clin. Med.* 149, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2006.06.002>

Vivancos, M., Moreno, J.J., 2005. β -Sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. *Free Radic. Biol. Med.* 39, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.025>

Wilms, H., Sievers, J., Rickert, U., Rostami-Yazdi, M., Mrowietz, U., Lucius, R., 2010. Dimethylfumarate inhibits microglial and astrocytic inflammation by suppressing the synthesis of nitric oxide, IL-1 β , TNF- α and IL-6 in an in-vitro model of brain inflammation. *J. Neuroinflammation* 7, 30. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-7-30>

Yang, C., Jiang, L., Zhang, H., Shimoda, L.A., DeBerardinis, R.J., Semenza, G.L., 2014. Chapter Twenty-Two - Analysis of Hypoxia-Induced Metabolic Reprogramming, in: Galluzzi, L., Kroemer, G. (Eds.), *Methods in Enzymology, Conceptual Background and Bioenergetic/Mitochondrial Aspects of Oncometabolism*. Academic Press, pp. 425–455. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416618-9.00022-4>

Yoshida, Y., Niki, E., 2003. Antioxidant effects of phytosterol and its components. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 49, 277–280. <https://doi.org/10.3177/jnsv.49.277>

Yuan, L., Zhang, F., Shen, M., Jia, S., Xie, J., 2019. Phytosterols Suppress Phagocytosis and Inhibit Inflammatory Mediators via ERK Pathway on LPS-Triggered Inflammatory Responses in RAW264.7 Macrophages and the Correlation with Their Structure. *Foods* 8, 582. <https://doi.org/10.3390/foods8110582>

Zhang, J., Fan, W., Neng, L., Chen, B., Wang, Y., Zuo, B., Lu, W., 2022. Adenosine improves LPS-induced ROS expression and increasing in monolayer permeability of endothelial cell via acting on A2AR. *Microvasc. Res.* 143, 104403. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2022.104403>

Zhang, N., Chu, E.S.H., Zhang, J., Li, X., Liang, Q., Chen, J., Chen, M., Teoh, N., Farrell, G., Sung, J.J.Y., Yu, J., 2014. Peroxisome proliferator activated receptor alpha inhibits hepatocarcinogenesis through mediating NF- κ B signaling pathway. *Oncotarget* 5, 8330–8340.



Discussion

La neuro-inflammation est un mécanisme de défense qui protège le cerveau en cas d'infection (Blais and Rivest, 2003) la stimulation inflammatoire peut persister en raison de facteurs endogènes (mutation génétique et agrégation de protéines) ou environnementaux (infection, traumatisme et médicaments) (Lenz and Vlachos, 2019). Les réponses inflammatoires persistantes impliquent la microglie et les astrocytes et peuvent conduire à des maladies neurodégénératives (Kempuraj et al., 2016). La microglie est constituée des cellules immunitaires résidentes du cerveau . Les microglies incontrôlées et suractivées peuvent libérer des facteurs pro-inflammatoires et cytotoxiques (Nakajima and Kohsaka, 2001). Par conséquent, la recherche sur de nouveaux inhibiteurs de la neuro-inflammation est d'une importance capitale pour le traitement des maladies neurodégénératives.

Le test MTT a révélé que les deux phytostérols SC et SP n'ont pas affecté la viabilité des BV-2 WT et Acox1^{-/-} et leur fonction mitochondriale. Dans une étude précédente, notre équipe a montré que le SC et le SP ne sont pas toxiques pour les cellules microgliales BV2 et peuvent avoir un impact sur le potentiel membranaire mitochondrial (El Kharrassi et al., 2014b). le 7-KC est un puissant inducteur de cytotoxicité et de la mort cellulaire (Nury et al., 2020). Le 7-KC induit à 48h une forte cytotoxicité qui a affecté la fonction mitochondriale des BV-2 Acox1^{-/-} d'une manière plus prononcée comparées avec les BV-2 WT. Pour l'étude de la neuro-inflammation les deux lignées cellulaires ont été traitées avec le LPS. C'est une molécules largement utilisé dans les études sur l'inflammation cérébrale, il initie plusieurs activités cellulaires majeures qui contribuent de manière critique à la pathogenèse de la neuro-



[Tapez ici]

inflammation (Batista et al., 2019). Il ressort de ce travail que le LPS induit une forte neuro-inflammation au niveau de la microglie. En premier lieu le LPS a induit un fort stress oxydant traduit par une production massive des ERO et une perturbation de l'activité et l'expression de la protéine et l'ARNm de la catalase. La catalase est une protéine peroxysomale capable de détruire le H₂O₂ (Baudin, 2020b). Le LPS est connu pour son pouvoir d'induction de production des ERO et la dérégulation de la fonction peroxysomale (Lee et al., 2022). Cet effet délétère a été efficacement supprimé par le SC et SP. Dans leur étude (Yoshida and Niki, 2003) ont montré que le phytostérol agit chimiquement comme un antioxydant et piègeur des radicaux libres. Ainsi, nous avons remarqué que le SC et le SP influence le métabolisme lipidique au niveau du catabolisme en régulant l'activité et l'expression de l'enzyme Acox1 l'enzyme limitante dans la dégradation des AGTLC dans la β -oxydation peroxysomale le déficit en Acox1 provoque une accumulation des AGTLC et une perte des cellules gliales dans le SNC (Griffin and Ackerman, 2020), le transport par l'induction de l'expression des deux transporteurs peroxysomaux ABCD1 et ABCD2 réprimé par le LPS, et aussi par l'induction de l'expression du facteur de transcription PPAR- α . Il a été démontré que les PS agissent comme des ligands pour PPAR- α et améliorent les niveaux d'expression des gènes cibles de PPAR (Nomaguchi et al., 2011). De plus le SC et SP ont montré une activité anti-inflammatoire traduite par leur pouvoir à inhiber la production de NO dans le milieu de culture des deux lignées cellulaires et l'atténuation de l'expression des cytokines pro-inflammatoires comme l'Inos, TNF- α et IL-1 β induite par le LPS et l'induction de l'expression de la cytokine anti-inflammatoire IL-4, il a été démontré que les PS possèdent un effet anti-inflammatoire (Salehi et al., 2021; Yuan et al., 2019b). Ils inhibent la libération de cytokines pro-inflammatoires IL-1 β , IL-6 et TNF- α (He et al., 2022; Kurano et al., 2018)



[Tapez ici]



[Tapez ici]

Discussion



[Tapez ici]

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et suite à ses effets délétères sur les différentes composantes cellulaires, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies. L'utilisation de substances naturelles comme les huiles a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Les huiles végétales représentent un produit très varié de corps gras, qui se caractérisent par leur intérêt nutritionnel, leurs usages et leurs critères biologiques tels que la composition en acides gras et en antioxydants, particulièrement en composés phénoliques et phytostérols qui présentent une source d'antioxydants puissants (Zarrouk et al., 2019).

Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes et activité antioxydante et antiradicalaire de l'huile d'argan comparé avec l'huile d'olive

Les résultats de l'étude phytochimique montrent que l'huile d'argan présente un taux important en polyphénols, les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation et la valeur nutritionnelle des huiles (Zeb, 2021). Ils sont des composés qui peuvent agir comme antioxydants en aidant le corps à renforcer son système de défense contre les anomalies liées au stress oxydatif telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les processus inflammatoires (Giglio et al., 2018; Quintero-Flórez et al., 2018b; Zhou et al., 2016). Ainsi l'huile d'argan est une source importante de composés antioxydants (El Kamouni et al., 2017b; Essadek et al., 2022; Kamal et al., 2017). En comparaison avec l'huile d'argan l'huile d'olive est plus riche en polyphénols les résultats trouvés sont en accord avec les résultats décrites dans l'étude comparative des fruits et des huiles d'argan et d'olive réalisée par (Demnati et al., 2011). D'autres études effectuées montrent que l'huile d'argan est riche en polyphénols elle présente une teneur qui varie entre 6.07 et 152.04 mg GAE/kg (Marfil et al., 2011b). D'après (Houshia et al., 2014; Nenadis et al., 2019) la teneur de l'huile d'olive en polyphénols totaux varie entre 100 et 1000 mg/Kg. La teneur en polyphénols et en flavonoïdes des huiles varie en fonction des cultivars, du lieu d'origine, des méthodes d'extraction et des conditions de stockage (Saffar et al., 2019). Concernant l'activité antioxydante de nos huiles et d'après les tests FRAP, DPPH et ABTS on constate que l'huile d'argan est dotée d'un grand pouvoir antioxydant et antiradicalaire. Ainsi la forte activité antioxydante de l'huile d'argan est expliquée par sa teneur élevée en composés



[Tapez ici]

antioxydants. Parmi ces composés figure le α -tocophérol mais aussi le γ -tocophérol, constituant connu pour ses propriétés pharmacologiques (Thompson and Cooney, 2020). D'après (Marfil et al., 2011b) le γ -tocophérol et le tocophérol le plus abondant de l'huile d'argan il représente 84.68 % des polyphénols totaux de l'huile d'argan. La teneur en tocophérols des huiles en générale varie entre 427 et 654 mg/kg, Ainsi les tocophérols et les composés saponines de l'huile d'argan ont des propriétés antioxydantes antiprolifératives et anti inflammatoires (Cherki et al., 2005; Drissi et al., 2006). D'après le dosage des polyphénols et les résultats des tests d'activité antioxydante on constate qu'il existe une très forte corrélation entre la teneur en phénols totaux et flavonoïdes, et l'activité antioxydante des huiles. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté qu'il existe une relation étroite entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante (Franco et al., 2014; Galvano et al., 2007; Smeriglio et al., 2016). Aussi L'activité antioxydante attribuée aux polyphénols s'expliquent en partie par leur capacité à complexer les métaux et à piéger les radicaux libres (Kherraz et al., 2019).

Effet de l'huile d'argan comparé avec l'huile d'olive sur la production des ROS, le taux et l'activité des enzymes antioxydantes CAT, SOD et GPX

Afin d'évaluer l'activité antioxydante de l'HA et l'HO la production des ERO a été mesuré par la sonde H2DCFDA dans *T.pyriformis* après induction avec le H₂O₂, les résultats ont montrés une forte production des ERO après traitement avec le H₂O₂, le H₂O₂ favorise la génération des ERO qui provoque un stress oxydatif, une forte cytotoxicité et conduit à la mort cellulaire (Ahamed et al., 2020b; Coyle et al., 2006b; Ghosh et al., 2010b; Rytter et al., 2007b), Lorsque l'HA ou l'HO ont été ajoutés au milieu de culture en co-traitement avec H₂O₂, la production des ERO a été fortement abaissé pour atteindre des niveaux semblables aux cellules contrôles, l'HA a joué un rôle de piègeur de radicaux libres. L'effet piégeant observé ici fait référence à la composition et aux propriétés uniques de l'huile d'argan notamment sa richesse en composés mineurs tels que les tocophérols, les stérols (schottenol et spinastérol), les phénols (acide férulique, syringique et vanillique) et la vitamine E qui ont tous des propriétés piégeuses de radicaux libres (A. E. Midaoui et al., 2017; Orabi et al., 2020b; Şekeroğlu et al., 2017b). De plus, il existe un grand nombre d'études apportant la preuve que l'activité de piégeage de



[Tapez ici]

radicaux de l'HO est strictement corrélée à sa teneur en polyphénols (Haman et al., 2017b; Paradiso et al., 2020a; Quintero-Flórez et al., 2018b; Rossi et al., 2017b).

Pour les résultats de dosage enzymatique et suite au traitement avec le peroxyde d'hydrogène un agent puissant connu par son pouvoir à induire le stress oxydatif chez les cellules on constate une augmentation importante du taux et de l'activité des enzymes antioxydants à savoir la catalase, la superoxyde dismutase, la GPX et aussi le taux de la GSH chez les cellules induite par le H₂O₂, l'induction des enzymes antioxydantes est perçue comme le révélateur de l'existence d'un stress oxydant, (Al-amin et al., 2018; Dalia et al., 2015) une autre étude menée sur des oligodendrocytes montre qu'il existe une coopérativité catalase-GPX chez les cellules pour résister au stress oxydatif et à la mort cellulaire induite par le peroxyde d'hydrogène (Baud et al., 2004). Par contre, chez les cellules traitées avec l'huile d'argan au même temps de l'induction du stress on constate que le taux et l'activité de ces enzymes a été atténué on explique les résultats obtenues par le fait que la richesse de l'huile d'argan en éléments antioxydant et anti radicalaire permet à la cellule de développé un mécanisme compensatoire pour faire face au stress oxydatif au lieu d'empruntée le mécanisme normale qui se traduit généralement par l'élévation du taux de ces enzymes. Ces composés antioxydant sont essentiellement les tocophérols les phytostérols . L'huile d'argan est très connue par sa richesse en tocophérol et en phytostérols dont les principaux sont le schottenol et le spinasterol (Charrouf and Guillaume, 2002). Concernant le stress nitrosatif, les résultats montrent que le taux et l'activité des enzymes de stress chez les cellules contrôle diminue après le traitement avec l'agent de stress SNP lorsqu'on compare avec les cellules non traitées, en revanche les cellules traitées avec l'huile d'argan et l'huile d'olive présentent après le traitement avec le SNP des taux élevés de l'enzyme cette augmentation a été peut exprimer pour les cellules traitées avec l'huile de colza. On peut expliquer la diminution des taux des enzymes de stress chez les cellules traitées par le SNP par le mécanisme suivant lors d'un stress intense l'organisme dans un premier temps, réagi en surexprimant les enzyme de stress si le stress perdure et produit de façon massive des ERO/ERN toxiques, les enzymes de stress seront détruites et leur concentration chute ce mécanisme a été largement démontré (Pincemail et al., 2002). L'effet des huiles remarqué dans ce cas c'était l'augmentation de la défense antioxydante qui s'est traduit par une augmentation des taux des enzymes de stress En effet, plus l'activité des enzymes antioxydantes est élevée, plus la protection contre les effets des radicaux libres est efficace (Ighodaro and Akinloye, 2018).



*Effet de l'huile d'argan sur l'accumulation des gouttelettes lipidiques intracellulaires et la peroxydation des lipides membranaires chez *T.pyriformis**

Le rouge de Nile red est utilisé comme colorant vital pour la détection de gouttelettes lipidiques intracellulaires par microscopie à fluorescence et cyto-fluorométrie en flux. Les gouttelettes lipidiques sont constituées d'un noyau de lipides neutres, comprenant du triacylglycérol et d'ester de cholestérol, entouré d'une monocouche de phospholipides (Listenberger and Brown, 2007b). Nous rapportons ici l'utilisation du Nile red comme méthode rapide et peu coûteuse pour estimer les lipides intracellulaires de *T. pyriformis* par l'application directe du colorant sur des cellules fixées sans aucune extraction ni purification. Estimation qualitative des changements de la teneur en lipides des cellules relatifs aux traitements variables montrent que l'intensité de la fluorescence des gouttelettes lipidiques fluorescentes en couleur jaune-or, variait entre les différents traitements. Les gouttelettes lipidiques peuvent servir de réservoirs d'énergie, de sources de lipides pour la biosynthèse membranaire ou de sites de stockage pour des espèces lipidiques potentiellement toxiques (Petan et al., 2018b). Le nombre de gouttelettes lipidiques était très élevé dans les cellules traitées avec le H₂O₂. Le stress oxydatif est connu comme déclencheur de l'accumulation de gouttelettes lipidiques intracellulaires (Cruz et al., 2020b; Lee et al., 2015b, 2013b). L'HA et L'HO en co-traitement avec H₂O₂ ont induit une diminution remarquable du nombre de gouttelettes lipidiques par rapport au groupe traité avec H₂O₂. Cet effet était plus prononcé dans les cellules co-traitées avec l'HA. D'une autre part les résultats du dosage de la MDA ont montrés que le taux de ce produit de peroxydation lipidique augmente après induction du stress oxydatif avec le H₂O₂, chez les cellules co-traitées avec l'huile d'argan cette augmentation a été faiblement exprimée ces résultats sont en accord avec les résultats de (Rachida et al., 2013b) ayant trouvées que l'huile d'argan induit une diminution du taux de l'MDA chez *T. pyriformis* soumis au stress oxydatif induit par le peroxyde d'hydrogène par rapport au cellules contrôles. Des résultats similaires aussi ont été obtenus par (Eljaoudi et al., 2015), qui ont montrés une diminution du taux de l'MDA chez des patients hémodialysés suite à un régime riche en huile d'argan. Pour expliquer ces résultats on suggère que la richesse de l'huile d'argan en stérols et en acide gras polyinsaturé protège les cellules de la peroxydation lipidique. Les acides gras de l'huile d'argan sont à 80 % des acides gras polyinsaturés ils jouent un rôle important dans le maintien des membranes cellulaires (Guillaume and Charrouf, 2011), donc l'huile d'argan



[Tapez ici]

n'agit pas seulement comme un antioxydant fort, lipophile et piègeur de radicaux libres, mais aussi un stabilisateur efficace des membranes cellulaires. Encore beaucoup d'études ont prouvé que les aliments riches en tocophérols et en composés phénoliques peuvent réduire la susceptibilité des lipoprotéines à la peroxydation lipidique, qui joue un rôle crucial dans le développement de l'athérosclérose (Amarowicz and B. Pegg, 2017; Fitó et al., 2000; Hernáez et al., 2016; Rahman et al., 2015). Ainsi l'huile d'argan est riche en vitamine E, qui est un antioxydant naturel considéré comme la principale ligne de défense contre la peroxydation lipidique (Mohd. Esa et al., 2013; Niki, 2014).

Effet de l'huile d'argan sur la dérégulation de la fonction peroxysomale et l'inflammation induite par le LPS chez la souris

Le lipopolysaccharide (LPS) ou endotoxine est un glycolipide qui constitue une portion majeure de la membrane externe des bactéries Gram-négatives (Raetz, 1990). L'une des conséquences les plus fréquentes et les plus graves des infections causées par les bactéries Gram négatives est le développement d'un choc septique. Ce dernier constitue la complication la plus grave de la septicémie (Parrillo, 1993), une maladie mortelle qui se caractérise par un dysfonctionnement des organes vitaux, due essentiellement à une réponse inflammatoire excessive de l'hôte (Annane et al., 2005b). Le travail réalisé *in-vivo* dans cette étude avait pour but l'évaluation de l'effet potentiel protecteur de l'huile d'argan comparé avec l'huile d'olive et l'huile de colza, sur la dérégulation de la fonction peroxysomale et l'inflammation induite par le LPS dans le cerveau des souris comparé avec le foie. Nos études antérieures ont apporté des preuves convaincantes des mécanismes de protection de l'huile d'argan contre les lésions hépatiques induites par le LPS (El Kamouni et al., 2017b; El Kebbij et al., 2015). Cependant, l'effet protecteur potentiel de l'AO contre le stress oxydatif cérébral induit par le LPS et le dysfonctionnement des peroxysomes n'a pas encore été étudié.



Effet de l'huile d'argan sur les défenses antioxydantes non enzymatiques cérébrales et hépatiques des souris

La défense antioxydante non enzymatique du GSH a été évaluée comme un élément important de l'équilibre redox intracellulaire et des fonctions biologiques cellulaires (Meister, 1994). L'injection du LPS par voie intraveineuse quatre heures ante-mortem entraîne rapidement l'augmentation du taux de GSH hépatique, qui semble se maintenir pendant quatre heures et jusqu'à seize heures après l'injection de LPS (El Kamouni et al., 2017b). Il est bien connu que pendant l'endotoxémie, le foie constitue la principale source de GSH plasmatique et cela peut expliquer ici l'augmentation hépatique du taux de GSH après l'injection de LPS (Houston et al., 2019). Les résultats trouvés sont en accord avec les résultats décrits par (Al-Rikabi et al., 2020; Sewerynek et al., 1995). En réponse au stress oxydatif, cette induction de GSH dépendante du LPS pourrait provenir spécialement des cellules de Kupffer dérivées des macrophages hépatiques et non des cellules endothéliales (Spolarics, 1998). En conséquence, les premières études ont suggéré que le LPS déclenche la synthèse de glutathion de novo dans les cellules de Kupffer (Miura et al., 1992). En revanche, le niveau de GSH dans le cerveau était diminué par le LPS, comme rapporté par (Abdel-Salam et al., 2014) chez la souris quatre heures après injection du LPS. La diminution du niveau de GSH dans le cerveau pourrait être liée à son déclin dans les cellules microgliales. Ces cellules résidentes dérivées de macrophages cérébraux sont reconnues impliquées dans la neuroinflammation (Vilhardt et al., 2017). Ainsi, les souris traitées au LPS présentaient des microglies activées, en particulier dans la substance noire, ce qui peut entraîner des lésions neuronales (Reinert et al., 2014). De plus, l'activation des cultures microgliales primaires et de la lignée cellulaire microgliale N11 enrichies par le LPS/interféron entraîne une diminution de 40 % du contenu microglial en GSH (Chatterjee et al., 2000). Dans la présente étude, nous avons révélé que seul le prétraitement avec l'HA prévenait un déséquilibre GSH remarquablement dépendant du LPS en contrecarrant à la fois la régulation négative dans le cerveau et l'augmentation dans le foie, contrairement à l'HO et à l'HC. Cela peut être lié à la capacité antioxydante de l'HA, qui contient en plus des polyphénols et des tocophérols, une teneur plus élevée en coenzyme Q10 et en mélatonine (López et al., 2013). Il a été démontré que ce dernier induisait l'expression de la γ -glutamylcystéine synthétase, l'enzyme limitante de la synthèse du GSH (Urata et al., 1999).



Effet protecteur de l'huile d'argan contre la peroxydation lipidique dans le cerveau et le foie des souris

La peroxydation lipidique est définie comme le processus par lequel les radicaux libres générateurs de stress oxydatif peroxydent les acides gras polyinsaturés estérifiés dans les phospholipides des membranes cellulaires. La peroxydation lipidique peut entraîner des changements dans la fluidité et la perméabilité des membranes cellulaires, elle peut aussi augmenter le taux de dégradation des protéines, qui enfin conduit à la lyse cellulaire (Horton and Walker, 1993). Dans le cerveau la peroxydation lipidique est considéré comme un facteurs majeure déclenchant les maladies neurodégénératives (Reed, 2011; Shichiri, 2014). Le dosage du malonaldéhyde (MDA), un biomarqueur bien connu de la peroxydation lipidique (Gustaw-Rothenberg et al., 2010; Subramanyam et al., 2019), a révélé qu'une injection de LPS à court terme de quatre heures via la veine caudale entraîne une augmentation significative de la peroxydation des lipides dans les tissus cérébraux et hépatiques. A nos jours, les données montrent que le LPS injecté par voie intrapéritonéale conduit respectivement après 4 heures chez la souris (Abdel-Salam et al., 2014) et après 2 heures chez le rat (Ammari et al., 2018) à une augmentation importante de la production cérébrale et hépatique du MDA Ce niveau accru de peroxydation lipidique semble être maintenu jusqu'à 12 heures après l'administration intrapéritonéale de LPS (Ammari et al., 2018; Wang et al., 2018) Nous avons constaté que le prétraitement avec des huiles contre-attaque l'effet de LPS sur la peroxydation lipidique. Cependant, l'huile d'argan a montré un effet plus prononcé sur la diminution de la production de MDA dans les tissus cérébraux et hépatiques. Il a démontré que parmi les huiles comestibles, l'huile d'argan est le plus riche en composés ayant une activité antioxydante, notamment la mélatonine, la coenzyme Q10, les tocophérols et l'acide férulique qui jouent un rôle important dans la stabilisation des membranes cellulaires et la protection de leurs intégrités (Charrouf and Guillaume, 1999; Khallouki et al., 2017; López et al., 2013), Cela suggère que les effets de l'HA peuvent résulter de sa composition unique en antioxydants et en acides gras insaturés qui contribuent tous les deux à la stabilisation des membranes cellulaires et la réparation des dommages causés par le LPS des tissus cérébraux et hépatiques (Eljaoudi et al., 2015).



Effet protecteur de l'huile d'argan contre l'inflammation induite par le LPS dans le cerveau et le foie des souris

Parlant de l'état inflammatoire après l'injection de LPS, l'expression du gène *Tnf- α* a été fortement augmentée dans le foie et légèrement diminuée dans le cerveau. Cependant, dans le cerveau, le traitement avec différentes huiles semble diminuer l'expression de *Tnf- α* , et cette régulation à la baisse est principalement statistiquement significative pour l'HA. Le LPS est un activateur puissant de la transcription de l'ARNm et de la production de protéines de *Tnf- α* dans les macrophages murins (Shi et al., 2021). En effet, les souris prétraitées avec l'HA présentent une induction limitée significative de l'ARNm de *Tnf- α* par rapport aux souris prétraitées à l'HO et à l'HC. De même, Dopp et al. (2002) et Persson et al. (2006) ont rapporté que les cellules microgliales primaires traitées au *Tnf- α* présentent une augmentation du niveau de GSH en même temps qu'une diminution significative des niveaux des ERO (Dopp et al., 2002; Persson et al., 2006). L'augmentation du *TNF α* est connue pour activer la voie NF- κ B (Karsan and Leong, 2000). NF- κ B est un facteur de transcription inductible, qui peut être activé par les cytokines inflammatoires *TNF- α* et *IL-1 β* , le LPS et les intermédiaires réactifs de l'oxygène (Kim et al., 2004). On sait que les gènes pro-inflammatoires, dont *IL-1 β* , *IL-6*, *iNOS* et *COX2*, agissent sous le contrôle de NF- κ B (Vallabhapurapu and Karin, 2009). Cependant, les oligodendrocytes présentent une réponse opposée au *Tnf- α* . Ainsi, les mécanismes liés à l'effet de l'HA et d'autres huiles nécessitent des études plus approfondies pour comprendre la réponse des différents types de cellules cérébrales.

Dans la présente étude les résultats montrent une augmentation marquée de l'expression de l'ARNm de *IL-10* pour chez les souris traitées au LPS dans le foie. *IL-10* est une cytokine connue pour avoir à la fois une action inflammatoire et anti-inflammatoire (Pils et al., 2010). Les résultats obtenus sont en accord avec les résultats obtenus par (Abdelhamid et al., n.d.). Nous suggérons que l'augmentation de l'expression de l'ARNm de *IL-10* est une réponse anti-inflammatoire pour remédier l'inflammation hépatique induite par l'injection de LPS. En conséquence, le traitement combiné à l'huile d'argan et au LPS a montré une diminution significative de l'expression de l'ARNm de *IL-10* par rapport au groupe traité au LPS seul, ce qui peut résulter du rôle anti-inflammatoire décrit de l'huile d'argan (El Kamouni et al., 2017b).

Un dysfonctionnement partiel ou complet du peroxydome est associé à l'apparition de troubles métaboliques héréditaires sévères (par exemple, syndrome de Zellweger et X-ALD)



[Tapez ici]

(Raas et al., 2018; Tawbeh et al., 2021; Vamecq et al., 2018b). L'impact d'un tel dysfonctionnement des peroxysomes sur le métabolisme, est illustré par l'augmentation du stress dans le réticulum endoplasmique et les mitochondries (Huang et al., 2011a; Ivashchenko et al., 2011; López-Erauskin et al., 2012; Walton and Pizzitelli, 2012).

Effet de l'huile d'argan sur l'expression et l'activité des enzymes antioxydantes dans le cerveau et le foie des souris

Dans la présente étude, nous avons exploré l'oxydation des antioxydants peroxysomaux et des acides gras du cerveau et du foie au cours de la septicémie et leur restauration éventuelle par l'HA. Les expressions d'ARNm de la *Cat* et de la *Sod1* dans le cerveau ont été induites par le LPS et un résultat similaire a été enregistré pour l'ARNm de *Cat* dans le foie. L'expression déséquilibrée de la catalase chez la souris entraîne une activation accrues du NF-kB associé à une inflammation, ainsi que des lésions excessives de différents tissus (Han et al., 2020). Il a été démontré que le LPS provoque une augmentation de l'expression de l'ARNm de la *Sod* (Krautbauer et al., 2014; Scheitler et al., 2020; Tsan et al., 2021). Le co-traitement avec l'huile d'argan a restauré, à la fois dans le cerveau et le foie, les valeurs du contrôle et cet effet a été moins prononcé pour l'HO, Alors que l'huile de colza n'a pas réussi à normaliser le niveau d'expression de l'ARNm de la *Cat* dans le cerveau et il l'a induit dans le foie. L'effet de l'HA est probablement lié à sa teneur élevée en AGPI, connues par leur capacité à induire la catalase dans les cellules hépatiques (Schrader et al., 1998). Ainsi, le récepteur nucléaire PPAR α activé par ses ligands (AGPI ou Palmitoyléthanolamide) contrôle l'expression génique de la catalase peroxysomale et de la SOD (Girnun et al., 2002; Mattace Raso et al., 2013). Comme nous l'avons signalé précédemment, le traitement par l'HA induit l'expression de PPAR α , de ses gènes cibles et de son coactivateur PGC-1 α dans le foie des souris (El Kebbaj et al., 2015).

Quant à l'activité enzymatique, nos résultats montrent que quatre heures d'injection ante-mortem de LPS conduisaient à l'induction dans le cerveau des activités antioxydantes enzymatiques peroxysomales telles que la CAT, SOD et GPX. Cependant, nous avons observé une diminution de l'activité GPX dans le foie par rapport à l'activité de la même enzyme dans le cerveau. L'administration de LPS peut entraîner une diminution importante de l'activité des enzymes antioxydantes (Balkan et al., n.d.; Hsu et al., 2004; n, Eunsung Mouradian, 2008). Une



[Tapez ici]

telle augmentation observée ici pour l'activité des enzymes antioxydantes peroxysomales peut être observé comme un mécanisme de défense contre les radicaux libres cellulaires, comme décrit précédemment (Al-amin et al., 2018; Dalia et al., 2015; El Kamouni et al., 2017b). En effet, cette dérégulation du statut antioxydant du cerveau et du foie a été prévenue lorsque les souris ont été prétraitées avec l'huile d'argan, l'huile d'olive et l'huile de colza. Cet effet d'amélioration était plus prononcé avec l'huile d'argan, montrant plus d'efficacité que l'huile d'olive et l'huile de colza pour restaurer les activités cérébrales CAT, SOD et GPX aux valeurs témoins. La capacité antioxydante de l'huile d'argan a été attribuée à sa forte teneur en composés phénoliques et en tocophérols (α -, β -, γ - et δ -tocophérols) (Monfalouti et al., 2010; Rabie et al., 2016). Plusieurs études ont mis en évidence la composition chimique de l'huile d'argan en termes de présence de nombreux composés antioxydants dont les stérols, les tocophérols, les polyphénols et les carotènes, qui sont considérés comme de puissants piègeurs de radicaux libres avec un effet antioxydant robuste (Charrouf and Guillaume, 2008c; Khallouki et al., 2003b).

De plus, nous avons étudié l'expression de l'ARNm *d'Acox1* dans le foie. *Acox1* code pour la première enzyme limitante de la voie de β -oxydation peroxisomales. Sa carence entraîne une accumulation des acides gras à très longue chaîne (AGTLC) et une forte réduction de l'abondance des peroxysomes (Cherkaoui-malki et al., 2018). Nos résultats ont montré une répression significative par le LPS du niveau d'ARNm *Acox1* hépatique et aucun effet significatif sur la quantité de transcription *Acox1* cérébrale. L'huile d'argan et l'huile d'olive n'ont montré aucun effet sur cette répression, seule l'huile de colza a amélioré de manière significative l'expression de l'ARNm *d'Acox1*. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études (Feingold et al., 2008 ; Kebbaj et al., 2013). Cependant, au niveau protéique, l'expression de la protéine ACOX1 a été induite dans le cerveau et le foie de souris traitées avec du LPS seul ou prétraitées avec de l'huile seule (c'est-à-dire AO, OO ou CO) ou en présence de LPS. Premièrement, cet écart intrigant entre les régulations transcriptionnelles et traductionnelles peut être dû à la différence entre les taux de dégradation de l'ARNm et des protéines, sachant que la dégradation de l'ARNm peut être accélérée par une traduction aberrante (Roy et Jacobson, 2013). D'autre part, la traduction des protéines est sous le contrôle de la signalisation PERK/eIF2 α -P/ATF4, qui stoppe le déclin de la synthèse des protéines lors du stress du réticulum endoplasmique provoqué par le LPS (Guan et al., 2014).



Les phytostérols et la microglie

Les phytostérols sont des stérols végétaux, ils peuvent être trouvés dans différentes parties des plantes (fleurs, tiges, fruits, feuilles et racines), les mammifères sont incapables de synthétiser les PSs, raison pour laquelle ils sont exclusivement apportés par l'alimentation. En moyenne, un individu consomme entre 100 et 400 mg/j de phytostérols, provenant principalement d'huiles végétales, de céréales, de noix et de légumes (Lagarda et al., 2006; Lesma et al., 2018). ils ont été largement utilisés comme compléments alimentaires afin d'améliorer la santé humaine et de combattre les maladies (Mukherjee, 2019). Les propriétés pharmacologiques des phytostérols végétaux sur la santé humaine ont été évaluées dans de nombreuses études (Yuan et al., 2019a) elles ont montré avoir un effet bénéfique sur la réduction du taux de cholestérol sanguin en interférant avec l'absorption du cholestérol (Hayes et al., 2004; Jones et al., 1997; Varady et al., 2007) et ainsi diminuer le risque de maladie cardiovasculaire (Moghadasian, 2000). les phytostérols ont également d'importantes propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes, antiulcéreuses et antitumorales (Arisawa et al., 1985; Berger et al., 2004; Yuan et al., 2019a). De nombreuses études ont montré que ces composés réduisaient l'expression des médiateurs pro-inflammatoires, la cyclooxygénase-2 (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase (iNOS), dans les macrophages RAW264.7 stimulés par le LPS (Huang et al., 2008).

BV-2 est un type de cellule microgliale dérivée de cerveaux de souris C57/BL6. Les cellules microgliales sont des macrophages résidents du système nerveux central, elles jouent un rôle clé dans les infections cérébrales et l'inflammation (Graeber, 2003). La suractivation des cellules microgliales induit des dommages et des pertes neuronales qui conduisent au développement de diverses maladies neurodégénératives (Saliba et al., 2018), le contrôle de l'activation de la microglie joue un rôle crucial dans l'inhibition du développement des troubles neurodégénératifs ou l'atténuation de leur progression (Subramanyam et al., 2019). Au cours des dernières décennies, les composés d'origine végétale ayant des activités pharmacologiques ont reçu une attention intensive de la part des scientifiques en tant qu'alternative à de nombreux médicaments synthétiques pour le traitement des troubles neurologiques. Dans cette partie de notre étude, nous avons évalué l'effet de deux phytostérols, le schottenol et le spinastérol, sur l'inflammation induite par le LPS dans la microglie murine BV-2 WT et sur la lignée cellulaire déficiente en Acox1 (Acox 1 $-/-$), un modèle de déficit en



[Tapez ici]

Acyl-CoA oxydase (ACOX1) qui est une leucodystrophie peroxysomale rare et sévère associée à un défaut de β -oxydation des acides gras à très longue chaîne (AGGLC) (Raas et al., 2018).

Effet du SC et SP sur la fonction mitochondriale et la production des ERO induite par le LPS chez les BV2-WT et Acox1 -/-

Le test MTT a été utilisé pour évaluer les effets des traitements sur la viabilité cellulaire et/ou l'activité mitochondriale. Le MTT est réduit en sel de formazan par l'enzyme mitochondriale succinate déshydrogénase (SDH), dans les cellules métaboliquement actives (Vejuh and Lizard, 2009). Nos résultats ont montré qu'à faible concentration, SC et SP n'avaient aucun effet sur la viabilité des BV-2 WT et Acox1-/- et sur la fonction mitochondriale. Dans une étude précédente, notre équipe a montré que le SC et le SP de l'huile d'argan ou de l'huile de graines de cactus ne sont pas toxiques pour les cellules microgliales BV2 et peuvent avoir un impact sur le potentiel membranaire mitochondrial (El Kharrassi et al., 2014b). Nous remarquons que la fonction mitochondriale des deux lignées cellulaires a été significativement altérée par le traitement au 7-KC à 20 μ M, en particulier à 48h de traitement, le 7-KC induit la mort cellulaire en provoquant une forme spécifique d'activité cytotoxique définie comme l'oxiaptophagie, comprenant le stress oxydatif, l'induction de la mort cellulaire par apoptose associée à des critères autophagiques (Nury et al., 2021), l'absence de l'enzyme ACOX1 dans la lignée cellulaire Acox1-/- simultanément avec le traitement 7-KC a présenté un double challenge pour les cellules BV-2 Acox1-/- dont la fonction mitochondriale semble être plus affectée par le traitement au 7-KC que les BV-2 WT. De plus, nous avons évalué la production des ERO par (H2DCFDA), cette sonde est largement utilisée comme sonde spécifique pour la détection du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), mais elle peut généralement détecter une large gamme de ERO tels que les ions superoxyde (O₂⁻) les radicaux hydroxyle (\bullet OH), et le peroxydinitrite (ONOO⁻) (Kaur et al., 2016). Nous avons également utilisé la sonde DHE pour détecter les radicaux superoxydes. Le superoxyde est le ERO le plus important du système nerveux central (Jelinek et al., 2021). Nos résultats ont révélé une forte induction de la production des ERO par BV-2 WT et Acox1 -/- en réponse au traitement au LPS. Les microglies sont activées par les LPS qui déclenchent une production massive des ERO (More and Makola, 2020; Sousa et al., 2020; Zhang et al., 2022), les ERO peuvent initier l'apoptose et perturber la barrière hémato-encéphalique, produisant des dommages au cerveau qui peuvent être



[Tapez ici]

irréversible (Qu et al., 2016). la quantité accrue de génération des ERO a été significativement inhibée par les deux PS (SC et SP). Dans leur étude (Yoshida and Niki, 2003) ont montré que le phytostérol agit chimiquement comme un antioxydant et piègeur des radicaux libres. De plus, SC et SP atténuent l'activité, l'ARNm et l'expression protéique de la catalase induite par le LPS, la catalase constitue l'enzyme principale dans la neutralisation peroxysomale du H₂O₂ pour produire de l'eau et de l'oxygène, la perturbation de l'activité de la catalase est liée à de nombreuses maladies neurodégénératives (Nandi et al., 2019). Auparavant, nous avons démontré que l'huile d'argan régule l'activité, l'ARNm et l'expression protéique de la catalase induites par le LPS dans le cerveau de la souris (Essadek et al., 2022), les données obtenues dans cette étude suggèrent que le SC et le SP peuvent être le composant derrière cette activité, ils agissent comme antioxydants et empêchent l'accumulation de H₂O₂ qui empêche l'augmentation de l'expression et de l'activité de la catalase induite par le LPS, ainsi les phytostérols modulent les activités des enzymes antioxydantes et agissent comme des piègeurs des ERO (Baskar et al., 2012; Vivancos and Moreno, 2005). La participation du stress oxydatif au développement de plusieurs troubles neurodégénératifs a été largement documentée (Andersen, 2004; Cenini et al., 2019; Halliwell, 2006).

Effet du SC et SP sur le métabolisme lipidique le transport et la dégradation des AGTLC dans la microglie

Le métabolisme lipidique est crucial pour le développement neuronal, la plasticité synaptique et la fonction microgliale (Jo and Cho, 2019), la perturbation du métabolisme lipidique au niveau de la synthèse, du transport ou du catabolisme contribue à la pathogenèse de plusieurs troubles neurodégénératifs, dont la maladie d'Alzheimer (Lizard et al., 2012a) la maladie de Parkinson (Griffin and Ackerman, 2020)(Chen et al., 2012) et le déficit en ACOX1 (OMIM #264470) qui est un trouble autosomique récessif qui provoque une perte rapide et sévère de la fonction du système nerveux associée à une régression du développement, des crises récurrentes, des réflexes exagérés, perte de vision et d'audition et décès entre 4 et 10 ans (Chung et al., 2020), dans la présente étude, nous avons évalué l'expression de l'ARNm, l'expression protéique et l'activité enzymatique de l'Acox1 dans les BV-2 WT, ACOX1 est une protéine peroxysomale nécessaire à la dégradation des AGTLC par le processus de la β -oxydation peroxysomale, elle est principalement exprimée dans les cellules gliales. Nous avons



[Tapez ici]

également évalué l'expression de l'ARNm et l'expression protéique de ABCD1 et ABCD2. ABCD1 et ABCD2 appartiennent à la famille des transporteurs peroxysomal ATP-binding cassette (ABC), ils transportent les esters CoA des AGTLC dans les peroxysomes pour la dégradation par β -oxydation (Morita and Imanaka, 2012), le déficit en ABCD1 est la principale cause de la maladie peroxysomale héréditaire Adréno-leucodystrophie liée à l'X (X-ALD), associée à la neurodégénérescence et à la démyélinisation cérébrale inflammatoire (Pujol et al., 2004; Singh et al., 2009). Nos résultats ont montré que le traitement au LPS atténuait à la fois l'expression de l'ARNm et l'activité enzymatique d'Acox1 et n'avait aucun effet remarquable sur son expression protéique, le déficit en Acox1 provoque une accumulation des AGTLC et une perte des cellules gliales dans le SNC (Griffin and Ackerman, 2020), d'autre part, le LPS a diminué à la fois l'expression de l'ARNm et de la protéine ABCD1 dans les BV-2WT et Acox1^{-/-}. Le LPS induit une diminution de l'expression des transporteurs ABC (Baranova et al., 2002; Khovidhunkit et al., 2003), dans les cellules spumeuses de macrophages en culture, le stigmasterol a augmenté l'expression de ABCA1 et ABCG1 et a augmenté l'efflux de cholestérol vers l'apolipoprotéine (Apo) AI et HDL (Sabeva et al., 2011), dans leur étude (Gibson et al., 2012) ont constaté que le LPS stimule la microglie et altère l'efflux des substrats prototypiques du transporteur ABC en modifiant leur expression protéique et d'ARNm par la voie de signalisation NF- κ B. De plus, nous avons évalué l'expression de l'ARNm de PPAR- α dans les BV-2 Acox1^{-/-} les résultats ont montré une forte réduction de l'expression de PPAR- α par le traitement au LPS. PPAR- α est un facteur de transcription régulé par différents facteurs (nutrition, libération d'hormones, cytokines et facteurs de croissance) (Contreras et al., 2013), les gènes cibles de PPAR α sont impliqués dans le métabolisme du glucose et des lipides et dans les voies de modulation de l'inflammation (Lefebvre et al., 2006), les PPARs activés possèdent une action anti-inflammatoire démontrée par leur capacité à inhiber l'expression génique des facteurs de transcription pro-inflammatoires, notamment le transducteur de signal et l'activateur de la transcription (STAT), la protéine activatrice-1 (AP-1) et le facteur nucléaire (NF- κ B) (Zhang et al., 2014). Une étude réalisée par (Nomaguchi et al., 2011) a montré que les phytostérols d'aloevera agissent comme des ligands pour PPAR- α et améliorent les niveaux d'expression des gènes cibles de PPAR dans le foie de souris souffrant d'obésité induite par l'alimentation. Dans cette étude, nous rapportons une augmentation de l'expression de PPAR- α par le SC et le SP. Les phytostérols agissent directement comme des ligands des (PPAR), activant la sirtuine 1 (SIRT-1), qui sont impliquées dans la régulation du métabolisme des lipides et la pathogenèse de la démence (Shuang et al., 2016). De plus il a été rapporté que les



[Tapez ici]

esters de phytostérols régulent l'expression de TGF- β 1, TGF- β 2, TNF- α , UCP-2, PPAR- α et PPAR- γ dans le tissu hépatique au niveau de l'ARNm et des protéines (Song et al., 2017).

Effet du SC et SP sur les cytokines pro et anti-inflammatoires dans la neuro-inflammation induite par le LPS dans la microglie

En outre, nous avons évalué la production de NO dans le milieu de culture par BV-2 WT et Acox 1 $-/-$ après stimulation par le LPS. Le NO est une molécule de signalisation produite par la NO synthase (NOS), le NO joue un rôle clé dans la neurotransmission et la neuro-inflammation, dans le cerveau, le NO assure les interactions entre les neurones et les cellules gliales au sein du SNC (Saravi, 2017), il existe trois isoformes de NOS, NOS neuronale (nNOS), NOS endothéliale (eNOS) qui produisent un NO non nocif qui peut avoir un effet neuroprotecteur car il peut mettre fin aux réactions en chaîne de la peroxydation lipidique, NOS inducible (iNOS), qui produisent un NO nocif qui agit comme un pro-oxydant en réagissant avec le superoxyde et en formant de l'ONOO- hautement réactif (Shirley et al., 2014). Nos résultats ont montré que le traitement au LPS augmentait la libération de NO par BV-2 WT et Acox 1 $-/-$ dans le milieu de culture ainsi que l'expression de l'ARNm et des protéines d'iNOS. Il est bien établi que les cellules microgliales constituent la principale source d'iNOS/NO après traitement au LPS, dans des conditions normales, iNOS n'est pas exprimé dans le cerveau, mais des médiateurs inflammatoires tels que le LPS et les cytokines provoquent son expression dans la microglie et les astrocytes (Saha and Pahan, 2006; Steinert et al., 2010). Le NO libéré de la microglie activée agit au niveau du site présynaptique en bloquant la recapture du glutamate, qui induit l'activation des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et facilite la mort neuronale (Luo et al., 2011). Nous rapportons ici que SC et SP diminuent de manière significative la libération de NO dans le milieu de culture et l'expression de protéines et d'ARNm d'iNOS induite par le LPS, de plus en plus de preuves suggèrent que les phytostérols réduisent la production de NO (Bradford and Awad, 2007; Moreno, 2003; Sharma et al., 2021). En plus du NO, les cellules microgliales activées libèrent également d'autres médiateurs inflammatoires, tels que le TNF- α et l'IL-1 β (Babić Leko et al., 2020). Pour étudier plus profondément l'effet anti-inflammatoire de SC et SP, nous avons évalué l'expression de l'ARNm de TNF- α et IL-1 β dans BV-2 WT et Acox 1 $-/-$, nous remarquons que la microglie



[Tapez ici]

Acox 1 -/- libère des quantités significativement plus importantes des trois médiateurs (NO, TNF- α et IL-1 β) par rapport à la microglie de type sauvage, en plus l'expression de l'ARNm des deux cytokines pro-inflammatoires (TNF- α et IL-1 β) ont été induites par le LPS. Lorsqu'il est activé par le LPS, la microglie produit des facteurs pro-inflammatoires neurotoxiques (Qin et al., 2005), le TNF- α est une cytokine pro-inflammatoire puissante et un facteur important dans la régulation de la mort cellulaire apoptotique neuronale (Wilms et al., 2010). Au cours de l'inflammation aiguë, le TNF- α joue un rôle clé dans la restauration de l'homéostasie cérébrale, agissant comme un garde défensif pour se protéger contre les lésions, les infections et la neurodégénérescence du SNC (Belarbi et al., 2012; Muhammad, 2019; Shi et al., 2013). Lorsqu'il est libéré à des concentrations élevées, le TNF- α favorise l'apoptose et active le NF- κ B, ce qui conduit à la production de cytokines pro-inflammatoires et donc à la neuro-inflammation et à la mort neuronale (Jung et al., 2019; McFarland et al., 2018). De plus, l'IL-1 β est une cytokine qui peut activer la microglie et les astrocytes et conduire à la synthèse d'autres médiateurs pro-inflammatoires et chimiotactiques dans le SNC (Lynch, 2015), la surexposition de l'IL-1 β provoque des dommages neuronaux, vasculaires et oligodendrocytes considérables dans de nombreuses maladies neurodégénératives telles que les maladies de Parkinson et d'Alzheimer (Koprach et al., 2008; Shaftel et al., 2008). Plusieurs études ont rapporté que la stimulation de la microglie par le LPS induisait la libération de médiateurs inflammatoires, tels que NO, PGE2, TNF- α et IL-1 β (Thameem Dheen et al., 2007), nos résultats ont montré que le co-traitement avec SC et SP inhibait l'expression des médiateurs pro-inflammatoires NO, TNF- α et IL-1 β , induits par le LPS. Ces résultats ont indiqué que SC et SP avaient des effets anti-inflammatoires sur les cellules microgliales BV2 stimulées par le LPS. L'inhibition des cytokines pro-inflammatoires a été évaluée comme un mécanisme clé pour atténuer les maladies neurodégénératives (Qian et al., 2010). Plusieurs phytostérols ont été reconnus avoir un effet anti-inflammatoire manifesté par leur capacité à inhiber la production et l'activation de l'oxyde nitrique (NO), (iNOS), (TNF- α), de la cyclooxygénase-2 (COX-2) et de la protéine kinase extracellulaire phosphorylé (p-ERK) (Jie et al., 2022; Yuan et al., 2019a). Dans un essai clinique (Kurano et al., 2018) a démontré l'existence d'une corrélation négative entre les niveaux de sitostérol et les niveaux sériques de TNF- α et d'IL-6. Dans notre étude, nous avons également constaté que SC et SP augmentent l'expression de l'ARNm de la cytokine anti-inflammatoire IL-4 diminuée par le LPS. L'IL 4 est une cytokine pléiotrope qui régule l'homéostasie cérébrale. Il a été décrit comme ayant des propriétés anti-inflammatoires et un effet régulateur tel que la réparation tissulaire et la protection cellulaire dans l'activation de la microglie dans la neuroinflammation (Butovsky et al., 2006; Jeong et al., 2019). Dans son étude



[Tapez ici]

(Spittau, 2017) a montré que la délivrance d'IL-4 au SNC constitue une approche thérapeutique puissante pour réduire les dommages neuronaux induits par les réponses inflammatoires induites par la microglie dans les troubles neurodégénératifs. De plus, il a été démontré que l'IL-4 supprime l'expression des cytokines pro-inflammatoires, telles que IL-1 β , IL-6, TNF- α et NO (Hühner et al., 2017; Park et al., 2005), ces résultats sont en accord avec nos résultats qui ont montré que l'amélioration de l'expression de l'ARNm de l'IL-4 par SC et SP a atténué l'expression de l'IL-1 β TNF- α et iNOS.



[Tapez ici]

Conclusion et perspectives



[Tapez ici]

Dans sa globalité le travail réalisé dans ce projet de thèse a permis d'apporter de nouvelles preuves convaincantes décrivant l'activité antioxydantes et l'activité anti-inflammatoire de l'huile d'argan.

L'huile d'argan dans un premier temps testé sur le modèle unicellulaire primitif *T. pyriformis* a montré une grande capacité à piéger les radicaux libres et une forte activité antioxydante traduite par le rétablissement du taux et de l'activité des enzymes antioxydantes a des niveaux des cellules contrôles, dans le même sens et sur le modèle in-vivo qu'est la souris nous avons montré pour la première fois avec nos travaux réalisés sur le cerveau que l'huile d'argan donné comme prétraitement protège le cerveau contre le stress oxydant causé par le LPS, ce dernier perturberait le métabolisme peroxysomale et induisait une forte inflammation. L'huile d'argan et grâce à sa composition unique en acides gras polyinsaturés et en polyphénols, tocophérols et phytostérols a permis

- ✓ De protéger le cerveau du stress oxydatif révéler par l'élévation de l'expression et l'activité des enzymes antioxydantes
- ✓ De maintenir l'homéostasie du métabolisme peroxysomale par la protection contre sa dérégulation causé par le LPS notamment la perturbation de la catalase l'Acox 1 et les transporteurs peroxysomaux Abcd1 et Abcd2.
- ✓ D'atténuer l'inflammation en agissant au niveau transcriptionnel par la diminution du biomarqueur pro-inflammatoire TNF α .

Par ailleurs, les travaux de la dernière partie de ce projet se sont focalisés sur l'étude des effets des deux phytostérols majeurs de l'huile d'argan schotténol et spinastérol sur le stress oxydatif et la neuro-inflammation dans la microglie nos résultats ont montrés que

- ✓ Le SC et le SP possèdent une forte activité antioxydante illustré par la neutralisation des ROS en générale et le radical superoxyde en particulier
- ✓ Le SC et le SP protège la microglie contre la dérégulation de la fonction peroxysomale par le rétablissement et l'activité de la catalase et l'Acox1, ABCD1 et ABCD2 altéré par le LPS
- ✓ Le SC et le SP possèdent une activité anti-inflammatoire au niveau de la microglie ils atténuent la production du NO et l'expression de son gène iNOS ils agissent au niveau transcriptionnel ou ils diminuent l'expression des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et TNF- α et induisent l'expression de la cytokines antiinflammatoire IL-4.



[Tapez ici]

- ✓ Le SC et le SP possèdent un effet modulateur du métabolisme lipidique par la régulation de l'expression du facteur de transcription PPAR- α

Les effets du SC et SP observés sur les cellules déficientes en Acox1 constituent un apport prometteur pour les patients atteints de la maladie neurodégénérative associée à la déficience en ACOX1, comme continuité de ce travail

- ✓ Il serait intéressant de tester l'effet des deux phytostérols sur une lignée humaine des patients atteints de la déficience en ACOX1.
- ✓ Notre laboratoire dispose aussi de lignées microglie murine BV-2 (ABCD1 -/-, ABCD2 -/-, ABCD1/2 -/-) obtenues par la technique CRISPR-Cas 9 il serait intéressant de tester l'effet du SC et SP sur ces lignées, et aussi utiliser d'autres types de cellules comme les oligodendrocytes et d'autres types de cellules du système nerveux central, aussi utiliser des cultures de cellules mixtes pour mieux mimer la fonction cérébrale.
- ✓ Il est aussi nécessaire de creuser le mécanisme et mieux étudier les voies de signalisation afin de mieux comprendre l'effet de l'huile d'argan en générale et du SC et SP en particulier.
- ✓ Il est aussi nécessaire de tester nos phytostérols sur un modèle *in-vivo* pour voir si leur activité antioxydante et anti-inflammatoire serait aussi présente comme *in-vitro* surtout avec le débat ouvert sur la biodisponibilité des phytostérols.



[Tapez ici]

Références bibliographiques



[Tapez ici]

Abbas, B., Dehpour, A., Ebrahimzadeh, A., 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition 60, 405–412.

Abdelhamid, A., Ph, K., Arafa, M.M., n.d. ORIGINAL Propolis derivatives inhibit the systemic inflammatory response and protect hepatic and neuronal cells in acute septic shock. *Braz. J. Infect. Dis.* 15, 332–338. [https://doi.org/10.1016/S1413-8670\(11\)70201-X](https://doi.org/10.1016/S1413-8670(11)70201-X)

Abdel-Salam, O.M.E., Youness, E.R., Mohammed, N.A., Morsy, S.M.Y., Omara, E.A., Sleem, A.A., 2014. Citric acid effects on brain and liver oxidative stress in lipopolysaccharide-treated mice. *J. Med. Food* 17, 588–598. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0065>

Abe, Y., Honsho, M., Nakanishi, H., Taguchi, R., Fujiki, Y., 2014. Very-long-chain polyunsaturated fatty acids accumulate in phosphatidylcholine of fibroblasts from patients with Zellweger syndrome and acyl-CoA oxidase1 deficiency. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1841, 610–619. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.01.001>

Adlouni, A., Christon, R., Cherki, M., Khalil, A., ElMessal, M., 2008. THE NUTRITIONAL BENEFITS OF ARGAN OIL IN OBESITY RISK PREVENTION. *Atheroscler. Suppl. - ATHEROSCLER SUPPL* 9, 137–138. [https://doi.org/10.1016/S1567-5688\(08\)70554-3](https://doi.org/10.1016/S1567-5688(08)70554-3)

Adlouni, P.A., 2020. Intérêt de l'huile d'Argan dans la prévention des maladies cardiovasculaires 12–16.

Aebi, H., 1984. [13] catalase 105, 121–126.

Agrawal, G., Subramani, S., 2016. De novo peroxisome biogenesis: Evolving concepts and conundrums. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1863, 892–901. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.09.014>

Ahamed, M., Akhtar, M.J., Alaizeri, Z.A.M., Alhadlaq, H.A., 2020a. TiO₂ nanoparticles potentiated the cytotoxicity, oxidative stress and apoptosis response of cadmium in two different human cells. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 10425–10435. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07130-6>

Ahamed, M., Akhtar, M.J., Alaizeri, Z.A.M., Alhadlaq, H.A., 2020b. TiO₂ nanoparticles potentiated the cytotoxicity, oxidative stress and apoptosis response of cadmium in two different human cells. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 10425–10435. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07130-6>

Al-amin, M., Choudhury, F.R., Chowdhury, A.S., 2018. Pretreatment With Risperidone Ameliorates Systemic LPS-Induced Oxidative Stress in the Cortex and Hippocampus 12, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00384>



[Tapez ici]

Al-Rikabi, R., Al-Shmgani, H., Dewir, Y.H., El-Hendawy, S., 2020. In Vivo and In Vitro Evaluation of the Protective Effects of Hesperidin in Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Cytotoxicity of Cell. *Molecules* 25, 478. <https://doi.org/10.3390/molecules25030478>

Amarowicz, R., B. Pegg, R., 2017. The Potential Protective Effects of Phenolic Compounds against Low-density Lipoprotein Oxidation. *Curr. Pharm. Des.* 23, 2754–2766. <https://doi.org/10.2174/1381612823666170329142936>

Ammari, M., Othman, H., Hajri, A., Sakly, M., Abdelmelek, H., 2018. Pistacia lentiscus oil attenuates memory dysfunction and decreases levels of biomarkers of oxidative stress induced by lipopolysaccharide in rats. *Brain Res. Bull.* 140, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.04.014>

Ana, P., Cabo, M., Lanly, C., 2018. Ibn al-Baytār et ses apports à la botanique et à la pharmacologie dans le Kitāb al-Ġāmī 23–39.

Andersen, J., 2004. Oxidative stress in neurodegeneration: Cause or consequence? *Nat. Med.* 10 Suppl, S18-25. <https://doi.org/10.1038/nrn1434>

Annane, P.D., Bellissant, P.E., Cavaillon, J.M., 2005a. Septic shock. *Lancet* 365, 63–78. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17667-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17667-8)

Annane, P.D., Bellissant, P.E., Cavaillon, J.M., 2005b. Septic shock. *Lancet* 365, 63–78. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17667-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17667-8)

Arisawa, M., Kinghorn, A.D., Cordell, G.A., Phoebe, C.H., Farnsworth, N.R., 1985. Plant Anticancer Agents XXXVI. Schottenol Glucoside from *Baccharis coridifolia* and *Ipomopsis aggregata*. *Planta Med.* 51, 544–545. <https://doi.org/10.1055/s-2007-969601>

Arsova-sarafinovska, Z., Eken, A., Matevska, N., Erdem, O., Sayal, A., Sikole, A., Suturkova, L., Dimovski, A.J., Aydin, A., 2009. Increased oxidative / nitrosative stress and decreased antioxidant enzyme activities in prostate cancer 42, 1228–1235. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.05.009>

Aubourg, P., 2007. Adrénoleucodystrophie liée à l'X☆☆Cet article est publié en partenariat avec Orphanet et disponible sur le site www.orpha.net. © 2007 Orphanet. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés. *Ann. Endocrinol.* 68, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2007.04.002>

Ayd, B., 2017. ScienceDirect Effects of argan oil on the mitochondrial function , antioxidant system and the activity of NADPH- generating enzymes in acrylamide treated rat brain 87, 476–481. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.124>

Baarine, M., Ragot, K., Genin, E.C., El Hajj, H., Tromprier, D., Andreoletti, P., Ghandour, M.S., Menetrier, F., Cherkaoui-Malki, M., Savary, S., Lizard, G., 2009. Peroxisomal and mitochondrial status of two murine oligodendrocytic cell lines (158N, 158JP): Potential models for the study of peroxisomal disorders



[Tapez ici]

associated with dysmyelination processes. *J. Neurochem.* 111, 119–131. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06311.x>

Babić Leko, M., Nikolac Perković, M., Klepac, N., Štrac, D.Š., Borovečki, F., Pivac, N., Hof, P.R., Šimić, G., 2020. IL-1 β , IL-6, IL-10, and TNF α Single Nucleotide Polymorphisms in Human Influence the Susceptibility to Alzheimer's Disease Pathology. *J. Alzheimers Dis.* 75, 1029–1047. <https://doi.org/10.3233/JAD-200056>

Badreddine, A., Karym, E.M., Zarrouk, A., Nury, T., El Kharrassi, Y., Nasser, B., Cherkaoui Malki, M., Lizard, G., Samadi, M., 2015. An expeditious synthesis of spinasterol and schottenol, two phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, and evaluation of their biological activities on cells of the central nervous system. *Steroids* 99, 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.01.005>

Badreddine, A., Zarrouk, A., Karym, E.M., Debbabi, M., Nury, T., Meddeb, W., Sghaier, R., Bezine, M., Vejux, A., Martine, L., Grégoire, S., Bretillon, L., Prost-Camus, E., Durand, P., Prost, M., Moreau, T., Cherkaoui-Malki, M., Nasser, B., Lizard, G., 2017. Argan oil-mediated attenuation of organelle dysfunction, oxidative stress and cell death induced by 7-ketocholesterol in murine oligodendrocytes 158N. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 1–31. <https://doi.org/10.3390/ijms18102220>

Bakour, M., Soulo, N., Hammam, N., Fatemi, H.E.L., Aboulghazi, A., Taroq, A., Abdellaoui, A., Al-waili, N., 2018. The Antioxidant Content and Protective Effect of Argan Oil and Syzygium aromaticum Essential Oil in Hydrogen Peroxide-Induced Biochemical and Histological Changes. <https://doi.org/10.3390/ijms19020610>

Balkan, J., Parıldar, F.H., Dog, S., n.d. The effect of taurine or betaine pretreatment on hepatotoxicity and prooxidant status induced by lipopolysaccharide treatment in the liver of rats , in Aykac 917–921.

Baranova, I., Vishnyakova, T., Bocharov, A., Chen, Z., Remaley, A.T., Stonik, J., Eggerman, T.L., Patterson, A.P., 2002. Lipopolysaccharide down regulates both scavenger receptor B1 and ATP binding cassette transporter A1 in RAW cells. *Infect. Immun.* 70, 2995–3003. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.6.2995-3003.2002>

Baskar, A.A., Al Numair, K.S., Gabriel Paulraj, M., Alsaif, M.A., Muamar, M.A., Ignacimuthu, S., 2012. β -Sitosterol Prevents Lipid Peroxidation and Improves Antioxidant Status and Histoarchitecture in Rats with 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Colon Cancer. *J. Med. Food* 15, 335–343. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.1780>

Batista, C.R.A., Gomes, G.F., Candelario-Jalil, E., Fiebich, B.L., de Oliveira, A.C.P., 2019. Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation as a Bridge to Understand Neurodegeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 2293. <https://doi.org/10.3390/ijms20092293>



[Tapez ici]

Baud, O., Greene, A.E., Li, J., Wang, H., Volpe, J.J., Rosenberg, P.A., 2004. Glutathione Peroxidase-Catalase Cooperativity Is Required for Resistance to Hydrogen Peroxide by Mature Rat Oligodendrocytes. *J. Neurosci.* 24, 1531–1540. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3989-03.2004>

Baudin, B., 2020a. Stress oxydant et protections antioxydantes. *Rev. Francoph. Lab.* 2020, 22–30. [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(20\)30159-3](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(20)30159-3)

Baudin, B., 2020b. Stress oxydant et protections antioxydantes. *Rev. Francoph. Lab.* 2020, 22–30. [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(20\)30159-3](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(20)30159-3)

Baumer M. & ZeraiA, 1999. LA PLUS CONTINENTALE DES STATIONS DE L ' ARGANIER.

Beaudeau, J.L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., Peynet, J., 2006. Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-Anal. Biol. Spec.* 21, 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2006.02.001>

Beavers, K.M., Beavers, D.P., Newman, J.J., Anderson, A.M., Loeser, R.F., Nicklas, B.J., Lyles, M.F., Miller, G.D., Mihalko, S.L., Messier, S.P., 2015. Effects of total and regional fat loss on plasma CRP and IL-6 in overweight and obese, older adults with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 23, 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.11.005>

Belarbi, K., Jopson, T., Tweedie, D., Arellano, C., Luo, W., Greig, N.H., Rosi, S., 2012. TNF- α protein synthesis inhibitor restores neuronal function and reverses cognitive deficits induced by chronic neuroinflammation. *J. Neuroinflammation* 9, 23. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-23>

Bellahcen, S., Hakkou, Z., Ziyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Aziz, M., Bnouham, M., 2013. Antidiabetic and antihypertensive effect of Virgin Argan Oil in model of neonatal streptozotocin-induced diabetic and l-nitroarginine methylester (l-NAME) hypertensive rats. *J. Complement. Integr. Med.* 10, 1–8. <https://doi.org/10.1515/jcim-2013-0008>

Bellahcen, S., Mekhfi, H., Ziyat, A., Legssyer, A., Hakkou, A., Aziz, M., Bnouham, M., 2012. Prevention of chemically induced diabetes mellitus in experimental animals by virgin argan oil. *Phytother. Res.* 26, 180–185. <https://doi.org/10.1002/ptr.3524>

Bennani, H., 2007. Quel impact de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate? *Technol. Lab.* 6, 8–10.

Bennani, H., Drissi, A., Giton, F., Kheuang, L., Fiet, J., Adlouni, A., 2007. Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. *Cancer Detect. Prev.* 31, 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.cdp.2006.09.006>



[Tapez ici]

Benzaria, A., Meskini, N., Dubois, M., Croset, M., Némoz, G., Lagarde, M., Prigent, A.F., 2006. Effect of dietary argan oil on fatty acid composition, proliferation, and phospholipase D activity of rat thymocytes. *Nutrition* 22, 628–637. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2006.03.001>

Berger, A., Jones, P.J., Abumweis, S.S., 2004. Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids Health Dis.* 3, 5. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-3-5>

Berger, J., Forss-Petter, S., Eichler, F.S., 2014. Pathophysiology of X-linked adrenoleukodystrophy. *Biochimie* 98, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.11.023>

Berná, G., Jurado-ruiz, E., Serrana, H.L. De, Martín, F., 2014. Consumption of extra-virgin olive oil rich in phenolic compounds has beneficial antioxidant effects in healthy human adults. *J. Funct. Foods* 10, 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.013>

Berrougui, H., Cloutier, M., Isabelle, M., Khalil, A., 2006. Phenolic-extract from argan oil (*Argania spinosa* L.) inhibits human low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis* 184, 389–396. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.05.018>

Berrougui, H., Ettaib, A., Herrera Gonzalez, M.D., Alvarez De Sotomayor, M., Bennani-Kabchi, N., Hmamouchi, M., 2003a. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in Meriones shawi rats. *J. Ethnopharmacol.* 89, 15–18. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00176-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00176-4)

Berrougui, H., Ettaib, A., Herrera Gonzalez, M.D., Alvarez De Sotomayor, M., Bennani-Kabchi, N., Hmamouchi, M., 2003b. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in Meriones shawi rats. *J. Ethnopharmacol.* 89, 15–18. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00176-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00176-4)

Beyer, W.F., Fridovich, I., 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem.* 161, 559–566. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90489-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1)

Bharrhan, S., Chopra, K., Rishi, P., 2010. Vitamin E Supplementation Modulates Endotoxin-induced Liver Damage in a Rat Model. *Am. J. Biomed. Sci.* 51–62. <https://doi.org/10.5099/aj100100051>

Blais, V., Rivest, S., 2003. Rôle de la réponse immunitaire innée dans le cerveau. *médecine/sciences* 19, 981–987. <https://doi.org/10.1051/medsci/20031910981>

Bnouham, M., Bellahcen, S., Benalla, W., Legssyer, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., 2008. Antidiabetic activity assessment of *Argania spinosa* oil. *J. Complement. Integr. Med.* 5. <https://doi.org/10.2202/1553-3840.1180>



[Tapez ici]

Bottelbergs, A., Verheijden, S., Hulshagen, L., Gutmann, D.H., Goebbels, S., Nave, K.-A., Kassmann, C., Baes, M., 2010. Axonal integrity in the absence of functional peroxisomes from projection neurons and astrocytes. *Glia* 58, 1532–1543. <https://doi.org/10.1002/glia.21027>

Boucetta, K.Q., Charrouf, Z., Derouiche, A., Rahali, Y., Bensouda, Y., 2014. Original paper Skin hydration in postmenopausal women : argan oil benefit with oral and / or topical use 13, 280–288. <https://doi.org/10.5114/pm.2014.46470>

Bourre, J.M., 2004. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during ageing. *J. Nutr. Health Aging* 8, 163–174.

Braasch, K., De, M., Deppe, J., Spindler, X., Cantu, A.A., Maynard, P., Lennard, C., Roux, C., 2013. Nile red : Alternative to physical developer for the detection of latent fingerprints on wet porous surfaces ? *J. Forensic Sci. Int.* 230, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.03.041>

Bradford, P.G., Awad, A.B., 2007. Phytosterols as anticancer compounds. *Mol. Nutr. Food Res.* 51, 161–170. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600164>

Braverman, N.E., D'Agostino, M.D., Maclean, G.E., 2013. Peroxisome biogenesis disorders: Biological, clinical and pathophysiological perspectives. *Dev. Disabil. Res. Rev.* 17, 187–196. <https://doi.org/10.1002/ddrr.1113>

Braverman, N.E., Raymond, G.V., Rizzo, W.B., Moser, A.B., Wilkinson, M.E., Stone, E.M., Steinberg, S.J., Wangler, M.F., Rush, E.T., Hacia, J.G., Bose, M., 2016. Peroxisome biogenesis disorders in the Zellweger spectrum: An overview of current diagnosis, clinical manifestations, and treatment guidelines. *Mol. Genet. Metab.* 117, 313–321. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2015.12.009>

Brealey, D., Karyampudi, S., Jacques, T.S., Novelli, M., Stidwill, R., Taylor, V., Smolenski, R.T., Singer, M., 2004. Mitochondrial dysfunction in a long-term rodent model of sepsis and organ failure. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 286, 491–497. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00432.2003>

Brocard, C., Es-Souni, M., Ramirez, L.C., Latruffe, N., Bournot, P., 1993. Stimulation of peroxisomal palmitoyl-CoA oxidase activity by ciprofibrate in hepatic cell lines: comparative studies in Fao, MH1C1 and HepG2 cells. *Biol. Cell* 77, 37–41. [https://doi.org/10.1016/s0248-4900\(05\)80172-8](https://doi.org/10.1016/s0248-4900(05)80172-8)

Butovsky, O., Landa, G., Kunis, G., Ziv, Y., Avidan, H., Greenberg, N., Schwartz, A., Smirnov, I., Pollack, A., Jung, S., Schwartz, M., 2006. Induction and blockage of oligodendrogenesis by differently activated microglia in an animal model of multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.* 116, 905–915. <https://doi.org/10.1172/JCI26836>

Calder, P.C., Bosco, N., Bourdet-Sicard, R., Capuron, L., Delzenne, N., Doré, J., Franceschi, C., Lehtinen, M.J., Recker, T., Salvioli, S., Visioli, F., 2017. Health relevance of the modification of low grade



[Tapez ici]

inflammation in ageing (inflammageing) and the role of nutrition. *Ageing Res. Rev.* 40, 95–119. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.09.001>

Cassidy-hanley, D.M., 2013. *Tetrahymena in the Laboratory: Strain Resources, Methods for Culture, Maintenance, and Storage.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385967-9.00008-6>. *Tetrahymena*

Cassidy-Hanley, D.M., n.d. *Tetrahymena in the Laboratory: Strain Resources, Methods for Culture, Maintenance, and Storage.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385967-9.00008-6>

Cayuela, J.A., Rada, M., Pérez-camino, M.C., Benaissa, M., Abdelaziz, E., Guinda, Á., 2008a. Characterization of artisanally and semiautomatically extracted argan oils from Morocco 1159–1166. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800146>

Cayuela, J.A., Rada, M., Pérez-camino, M.C., Benaissa, M., Abdelaziz, E., Guinda, Á., 2008b. Characterization of artisanally and semiautomatically extracted argan oils from Morocco 1159–1166. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800146>

Çelik, S.E., Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R., 2010. Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods. *Talanta* 81, 1300–1309. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.02.025>

Cenini, G., Lloret, A., Cascella, R., 2019. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From a Mitochondrial Point of View. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, e2105607. <https://doi.org/10.1155/2019/2105607>

Charrouf, Z., Collin, G., Garneau, F., 1999. Valorisation des produits de l'arganier pour une gestion durable des zones arides du sud-ouest marocain. pp. 195–209.

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2008a. Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 632–636. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700220>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2008b. Argan oil, functional food, and the sustainable development of the argan forest. *Nat. Prod. Commun.* 3, 283–288. <https://doi.org/10.1177/1934578x0800300237>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2008c. Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 632–636. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700220>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2007. HUILE D'ARGAN UNE PRODUCTION DEVENUE ADULTE.

Charrouf, Z., Guillaume, D., 2002. Secondary metabolites from *Argania spinosa* (L.) skeels. *Phytochem. Rev.* 1, 345–354. <https://doi.org/10.1023/A:1026030100167>

Charrouf, Z., Guillaume, D., 1999. Ethnoeconomical , ethnomedical , and phytochemical study of *Argania spinosa* (L .) Skeels 67, 7–14.



[Tapez ici]

Chatterjee, S., Noack, H., Possel, H., Wolf, G., 2000. Induction of nitric oxide synthesis lowers intracellular glutathione in microglia of primary glial cultures. *Glia* 29, 98–101.

Chen, R., Tai, Y., Chen, T., Lin, T., 2013. Propofol protects against nitrosative stress-induced apoptotic insults to cerebrovascular endothelial cells via an intrinsic mitochondrial mechanism. *Surgery* 154, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2013.02.003>

Chen, T., Wu, G., Hsu, C., Fong, T., Chen, R., 2010. Chemico-Biological Interactions Nitrosative stress induces osteoblast apoptosis through downregulating MAPK-mediated NF- κ B / AP-1 activation and subsequent Bcl-X_L expression. *Chem. Biol. Interact.* 184, 359–365. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.040>

Chen, Y.-C., Wu, J.-S., Tsai, H.-D., Huang, C.-Y., Chen, J.-J., Sun, G.Y., Lin, T.-N., 2012. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR- γ) and Neurodegenerative Disorders. *Mol. Neurobiol.* 46, 114–124. <https://doi.org/10.1007/s12035-012-8259-8>

Cherkaoui-malki, M., Meyer, K., Cao, W., Latruffe, N., Yeldandi, A.V., Rao, M.S., Bradfield, C.A., Reddy, J.K., 2018. Identification of Novel Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α) Target Genes in Mouse Liver Using cDNA Microarray Analysis 9, 291–304.

Cherkaoui-Malki, M., Surapureddi, S., El Hajj, H., Vamecq, J., Andreoletti, P., 2012. Hepatic Steatosis and Peroxisomal Fatty Acid Beta-oxidation. *Curr. Drug Metab.* 13, 1412–1421. <https://doi.org/10.2174/138920012803762765>

Cherki, M., Berrougui, H., Drissi, A., Adlouni, A., Khalil, A., 2006. Argan oil : Which benefits on cardiovascular diseases ? Argan oil : Which benefits on cardiovascular diseases ? <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2006.02.004>

Cherki, M., Derouiche, A., Drissi, A., El, M., Bamou, Y., Idrissi-ouadghiri, A., Khalil, A., Adlouni, A., Msik, B., 2005. Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status : Intervention study in healthy men. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2004.08.005>

Christen, Y., 2018. Christen2000 71.

Chung, H., Wangler, M.F., Marcogliese, P.C., Jo, J., Ravenscroft, T.A., Zuo, Z., Duraine, L., Sadeghzadeh, S., Li-Kroeger, D., Schmidt, R.E., Pestronk, A., Rosenfeld, J.A., Burrage, L., Herndon, M.J., Chen, S., Shillington, A., Vawter-Lee, M., Hopkin, R., Rodriguez-Smith, J., Henrickson, M., Lee, B., Moser, A.B., Jones, R.O., Watkins, P., Yoo, T., Mar, S., Choi, M., Bucelli, R.C., Yamamoto, S., Lee, H.K., Prada, C.E., Chae, J.-H., Vogel, T.P., Bellen, H.J., 2020. Loss- or Gain-of-Function Mutations in ACOX1 Cause Axonal Loss via Different Mechanisms. *Neuron* 106, 589-606.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.02.021>



[Tapez ici]

Clarke, C.E., Alger, S., Preece, M.A., Burdon, M.A., Chavda, S., Denis, S., Ferdinandusse, S., Wanders, R.J.A., 2004. Tremor and deep white matter changes in alpha-methylacyl-CoA racemase deficiency. *Neurology* 63, 188–189. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000132841.81250.b7>

Clayton, P.T., 2001. Clinical consequences of defects in peroxisomal beta-oxidation. *Biochem. Soc. Trans.* 29, 298–305. <https://doi.org/10.1042/0300-5127:0290298>

Comhair, S.A.A., Erzurum, S.C., 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am. J. Physiol. - Lung Cell. Mol. Physiol.* 283, 246–255. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00491.2001>

Contreras, A.V., Torres, N., Tovar, A.R., 2013. PPAR- α as a Key Nutritional and Environmental Sensor for Metabolic Adaptation¹². *Adv. Nutr.* 4, 439–452. <https://doi.org/10.3945/an.113.003798>

Coyle, C.H., Martinez, L.J., Coleman, M.C., B, D.R.S., Weintraub, N.L., Kader, K.N., 2006a. Mechanisms of H₂O₂-induced oxidative stress in endothelial cells.

Coyle, C.H., Martinez, L.J., Coleman, M.C., B, D.R.S., Weintraub, N.L., Kader, K.N., 2006b. Mechanisms of H₂O₂-induced oxidative stress in endothelial cells.

Crane, D.I., 2014. Revisiting the neuropathogenesis of Zellweger syndrome. *Neurochem. Int.* 69, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.02.007>

Cruz, A.L.S., Barreto, E.D.A., Bozza, P.T., 2020a. Lipid droplets : platforms with multiple functions in cancer hallmarks. *Cell Death Dis.* <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2297-3>

Cruz, A.L.S., Barreto, E.D.A., Bozza, P.T., 2020b. Lipid droplets : platforms with multiple functions in cancer hallmarks. *Cell Death Dis.* <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2297-3>

Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L., 2003. Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Med. Veterinaire* 147, 315–324.

Dalia, Q., Abdelsalam, R.M., Attia, A.S., Abdel-aziz, M.T., 2015. Pharmacological Reports Pretreatment with magnesium ameliorates lipopolysaccharide- induced liver injury in mice. *Pharmacol. Rep.* 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.02.004>

D'amico, A., Bertini, E., 2013. Metabolic neuropathies and myopathies, in: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, pp. 1437–1455. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59565-2.00013-7>

De Duve, C., Baudhuin, P., 1966. Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiol. Rev.* 46, 323–357. <https://doi.org/10.1152/physrev.1966.46.2.323>

Dean, R.T., Gieseg, S., Davies, M., 1993. Reactive species and their accumulation on radical-damaged proteins 437–441.



[Tapez ici]

Dehpour, A., 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition 60, 405–412.

Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J.P.E., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A., 2013. Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid. Redox Signal.* 18, 1818–1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>

Demnati, D., Sánchez, S., Pacheco, R., Zahar, M., Martínez, L., 2011. Comparative study of argan and olive fruits and oils 7.

Derouiche, A., Cherki, M., Drissi, A., Bamou, Y., El Messal, M., Idrissi-Oudghiri, A., Lecerf, J.M., Adlouni, A., 2005. Nutritional intervention study with argan oil in man: Effects on lipids and apolipoproteins. *Ann. Nutr. Metab.* 49, 196–201. <https://doi.org/10.1159/000087072>

Devaraj, E., Roy, A., Veeraragavan, G.R., Magesh, A., 2020. β -Sitosterol attenuates carbon tetrachloride – induced oxidative stress and chronic liver injury in rats 1067–1075.

Diggle, C.P., 2002. In vitro studies on the relationship between polyunsaturated fatty acids and cancer: Tumour or tissue specific effects? *Prog. Lipid Res.* 41, 240–253. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(01\)00025-X](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(01)00025-X)

Doğanyığıt, Z., Küp, F.Ö., Silici, S., Deniz, K., Yakan, B., Atayoglu, T., 2013. Protective effects of propolis on female rats' histopathological, biochemical and genotoxic changes during LPS induced endotoxemia. *Phytomedicine* 20, 632–639. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.01.010>

Dopp, J.M., Sarafian, T.A., Spinella, F.M., Kahn, M.A., Shau, H., de Vellis, J., 2002. Expression of the p75 TNF receptor is linked to TNF-induced NFkappaB translocation and oxyradical neutralization in glial cells. *Neurochem. Res.* 27, 1535–1542. <https://doi.org/10.1023/a:1021608724117>

Doria, M., Maugest, L., Moreau, T., Lizard, G., Vejux, A., 2016. Contribution of cholesterol and oxysterols to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Free Radic. Biol. Med.* 101, 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.008>

Douillard, C., 2011. Adrénoleucodystrophie liée à l'X et atteintes endocriniennes. *Corresp. En Métabolismes Horm. Diabètes Nutr.* 3.

Drissi, A., Bennani, H., Giton, F., Charrouf, Z., Fiet, J., Adlouni, A., 2006. Tocopherols and saponins derived from *Argania spinosa* exert, an antiproliferative effect on human prostate cancer. *Cancer Invest.* 24, 588–592. <https://doi.org/10.1080/07357900600894815>

Drissi, A., Girona, J., Cherki, M., Godàs, G., Derouiche, A., El Messal, M., Saile, R., Kettani, A., Solà, R., Masana, L., Adlouni, A., 2004a. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived



[Tapez ici]

from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin. Nutr.* 23, 1159–1166.
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.03.003>

Drissi, A., Girona, J., Cherki, M., Godàs, G., Derouiche, A., El Messal, M., Saïle, R., Kettani, A., Solà, R., Masana, L., Adlouni, A., 2004b. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin. Nutr.* 23, 1159–1166.
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.03.003>

Dürichen, H., Siegmund, L., Burmester, A., Fischer, M.S., Wöstemeyer, J., 2016a. Ingestion and digestion studies in *Tetrahymena pyriformis* based on chemically modified microparticles. *Eur. J. Protistol.* 52, 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2015.11.004>

Dürichen, H., Siegmund, L., Burmester, A., Fischer, M.S., Wöstemeyer, J., 2016b. Ingestion and digestion studies in *Tetrahymena pyriformis* based on chemically modified microparticles. *Eur. J. Protistol.* 52, 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2015.11.004>

Eckert, G.P., Franke, C., Nöldner, M., Rau, O., Wurglics, M., Schubert-Zsilavecz, M., Müller, W.E., 2010. Plant derived omega-3-fatty acids protect mitochondrial function in the brain. *Pharmacol. Res.* 61, 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.01.005>

El Abbassi, A., Khalid, N., Zbakh, H., Ahmad, A., 2014. Physicochemical Characteristics, Nutritional Properties, and Health Benefits of Argan Oil: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 1401–1414.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2011.638424>

El Hajj, H.I., Vluggens, A., Andreoletti, P., Ragot, K., Mandard, S., Kersten, S., Waterham, H.R., Lizard, G., Wanders, R.J.A., Reddy, J.K., Cherkaoui-Malki, M., 2012. The inflammatory response in acyl-CoA oxidase 1 deficiency (pseudoneonatal adrenoleukodystrophy). *Endocrinology* 153, 2568–2575.
<https://doi.org/10.1210/en.2012-1137>

El Kamouni, S., El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Ktaibi, A., Rharrassi, I., Essamadi, A., El Kebbaj, M.S., Mandard, S., Latruffe, N., Vamecq, J., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2017a. Protective effect of argan and olive oils against lps-induced oxidative stress and inflammation in mice livers. *Int. J. Mol. Sci.* 18.
<https://doi.org/10.3390/ijms18102181>

El Kamouni, S., El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Ktaibi, A., Rharrassi, I., Essamadi, A., El Kebbaj, M.S., Mandard, S., Latruffe, N., Vamecq, J., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2017b. Protective effect of argan and olive oils against lps-induced oxidative stress and inflammation in mice livers. *Int. J. Mol. Sci.* 18.
<https://doi.org/10.3390/ijms18102181>

El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Hajj, H.I., El Kharrassi, Y., Vamecq, J., Mandard, S., Saih, F.E., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2015. Argan oil prevents down-regulation induced by endotoxin on liver fatty acid oxidation and gluconeogenesis and on peroxisome



[Tapez ici]

proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α , (PGC-1 α), peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) and estrogen r. *Biochim. Open* 1, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.biopen.2015.10.002>

El Kharrassi, Y., Samadi, M., Lopez, T., Nury, T., El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Hajj, H.I., Vamecq, J., Moustaid, K., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., Masson, D., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2014a. Biological activities of Schottenol and Spinasterol, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, on murine microglial BV2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446, 798–804. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.074>

El Kharrassi, Y., Samadi, M., Lopez, T., Nury, T., El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Hajj, H.I., Vamecq, J., Moustaid, K., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., Masson, D., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2014b. Biological activities of Schottenol and Spinasterol, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, on murine microglial BV2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446, 798–804. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.074>

El Kharrassi, Y., Samadi, M., Lopez, T., Nury, T., El Kebbaj, R., Andreoletti, P., El Hajj, H.I., Vamecq, J., Moustaid, K., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., Masson, D., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2014c. Biological activities of Schottenol and Spinasterol, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, on murine microglial BV2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun., Oxysterols* 446, 798–804. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.074>

EL MOUSADIK, A., PETIT, and R.J., 1996. Chloroplast DNA phylogeography of the argan tree of Morocco 547–555.

Eljaoudi, R., Elkabbaj, D., Bahadi, A., Ibrahim, A., Benyahia, M., Errasfa, M., 2015. Consumption of argan oil improves anti-oxidant and lipid status in hemodialysis patients. *Phytother. Res.* 29, 1595–1599. <https://doi.org/10.1002/ptr.5405>

Ellman, G.L., 1959a. Tissue Su \sim yd \sim I Groups 70–77.

Ellman, G.L., 1959b. Tissue Su \sim yd \sim I Groups 70–77.

Elmostafi, H., Bahbiti, Y., Elhessni, A., Bousalham, R., Doumar, H., Ouichou, A., Benmhammed, H., Touil, T., Mesfioui, A., 2020. Neuroprotective potential of Argan oil in neuropsychiatric disorders in rats : A review. *J. Funct. Foods* 75, 104233. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104233>

Elsayed Azab, A., A Adwas, Almokhtar, Ibrahim Elsayed, A.S., A Adwas, A., Ibrahim Elsayed, Ata Sedik, Quwaydir, F.A., 2019. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J. Appl. Biotechnol. Bioeng.* 6, 43–47. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>

Emberger, L., 1960. *Traité de Botanique vasculaires , Cryptogamie ; Tome II , fasc . I et II , par L .* Emberger 125–127.



[Tapez ici]

Emonard, H., Marcq, V., Mirand, C., Hornebeck, W., 1999. Inhibition of gelatinase A by oleic acid. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 878, 647–649. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb07751.x>

Er, R., Aydın, B., Şekeroğlu, V., Atlı Şekeroğlu, Z., 2020. Protective effect of Argan oil on mitochondrial function and oxidative stress against acrylamide-induced liver and kidney injury in rats. *Biomarkers* 25, 458–467. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2020.1797877>

Espín, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.J., 2000a. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agric. Food Chem.* 48, 648–656. <https://doi.org/10.1021/jf9908188>

Espín, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.J., 2000b. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agric. Food Chem.* 48, 648–656. <https://doi.org/10.1021/jf9908188>

Essadek, S., Bouchab, H., El Kebbjaj, R., Gondcaille, C., El Kamouni, S., Savary, S., Vamecq, J., Essamadi, A., Cherkaoui-Malki, M., Nasser, B., Andreoletti, P., 2022. Effects of a Short-Term Lipopolysaccharides Challenge on Mouse Brain and Liver Peroxisomal Antioxidant and β -oxidative Functions: Protective Action of Argan Oil. *Pharm. Basel Switz.* 15, 465. <https://doi.org/10.3390/ph15040465>

Fabelo, N., Martín, V., Santpere, G., Marín, R., Torrent, L., Ferrer, I., Díaz, M., 2011. Severe alterations in lipid composition of frontal cortex lipid rafts from Parkinson's disease and incidental Parkinson's disease. *Mol. Med. Camb. Mass* 17, 1107–1118. <https://doi.org/10.2119/molmed.2011.00119>

Fabre, 1999. L'intérêt de l'huile d'argan vierge enrichie en insaponifiable ainsi que les peptides extraits de tourteaux en cosmetologie.

Fabre, G., Bayach, I., Berka, K., Paloncýová, M., Starok, M., Rossi, C., Duroux, J.L., Otyepka, M., Trouillas, P., 2015. Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes. *Chem. Commun.* 51, 7713–7716. <https://doi.org/10.1039/c5cc00636h>

Fain, O., 2004. Vitamin C deficiency. *Rev. Médecine Interne Fondée Par Société Natl. Française Médecine Interne* 25, 872–880. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2004.03.009>

Favier, A., 2003. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actual. Chim.* 108–115.

Favier, A., 1997. Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 55, 9–16.



[Tapez ici]

Ferdinandusse, S., Denis, S., Hogenhout, E.M., Koster, J., van Roermund, C.W.T., IJlst, L., Moser, A.B., Wanders, R.J.A., Waterham, H.R., 2007. Clinical, biochemical, and mutational spectrum of peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase deficiency. *Hum. Mutat.* 28, 904–912. <https://doi.org/10.1002/humu.20535>

Ferry, M., 2009. Fonctions des oligoéléments et besoins spécifiques de la personne âgée, in: *Traité de Nutrition de La Personne Âgée*. Springer Paris, Paris, pp. 35–41. https://doi.org/10.1007/978-2-287-98117-3_5

Fitó, M., Covas, M.I., Lamuela-Raventós, R.M., Vila, J., Torrents, J., de la Torre, C., Marrugat, J., 2000. Protective effect of olive oil and its phenolic compounds against low density lipoprotein oxidation. *Lipids* 35, 633–638. <https://doi.org/10.1007/s11745-000-0567-1>

Flohe, L., Gunzler, W., 1984a. LEOPOLD FLOHES and WOLFGANG A. GONZLER The term glutathione peroxidase (glutathione: H₂O₂ oxidoreductase, EC 1.11.1.9) is reserved for the selenoprotein catalyzing the reaction: 105, 114–120.

Flohe, L., Gunzler, W., 1984b. LEOPOLD FLOHE and WOLFGANG A. GONZLER The term glutathione peroxidase (glutathione: H₂O₂ oxidoreductase, EC 1.11.1.9) is reserved for the selenoprotein catalyzing the reaction: 105, 114–120.

Folz, R.J., Guan, J., Seldin, M.F., Oury, T.D., Enghild, J.J., Crapo, J.D., 1997. Mouse Extracellular Superoxide Dismutase: Primary Structure, Tissue-specific Gene Expression, Chromosomal Localization, and Lung in Situ Hybridization. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 17, 393–403. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.17.4.2826>

Fourcade, S., Ruiz, M., Camps, C., Schlüter, A., Houten, S.M., Mooyer, P.A.W., Pàmols, T., Dacremont, G., Wanders, R.J.A., Giròs, M., Pujol, A., 2009. A key role for the peroxisomal ABCD2 transporter in fatty acid homeostasis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 296, E211–221. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90736.2008>

Franco, M.N., Galeano-Díaz, T., López, Ó., Fernández-Bolaños, J.G., Sánchez, J., De Miguel, C., Gil, M.V., Martín-Vertedor, D., 2014. Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil. *Food Chem.* 163, 289–298. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.091>

Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., Apanasets, O., Van Veldhoven, P.P., 2013. Aging, age-related diseases and peroxisomes. *Subcell. Biochem.* 69, 45–65. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6889-5_3

Galvano, F., La Fauci, L., Graziani, G., Ferracane, R., Masella, R., Di Giacomo, C., Scacco, A., D'Archivio, M., Vanella, L., Galvano, G., 2007. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Italian Extra Virgin Olive Oil Monti Iblei. *J. Med. Food* 10, 650–656. <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.409>



[Tapez ici]

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D., 2003. Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? *Actual. Chim.* 91–96.

Geillon, F., Trompier, D., Gondcaille, C., Lizard, G., Savary, S., 2012. Transporteurs ABC peroxysomaux et adrénoleucodystrophie liée au chromosome X. *médecine/sciences* 28, 1087–1094. <https://doi.org/10.1051/medsci/20122812019>

Ghosh, A.S., Dutta, S., Raha, S., 2010a. Hydrogen peroxide-induced apoptosis-like cell death in *Entamoeba histolytica*. *Parasitol. Int.* 59, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.01.001>

Ghosh, A.S., Dutta, S., Raha, S., 2010b. Hydrogen peroxide-induced apoptosis-like cell death in *Entamoeba histolytica*. *Parasitol. Int.* 59, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.01.001>

Gibson, C.J., Hossain, M.M., Richardson, J.R., Aleksunes, L.M., 2012. Inflammatory Regulation of ATP Binding Cassette Efflux Transporter Expression and Function in Microglia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 343, 650–660. <https://doi.org/10.1124/jpet.112.196543>

Giglio, R.V., Patti, A.M., Cicero, A.F.G., Lippi, G., Rizzo, M., Toth, P.P., Banach, M., 2018. Polyphenols: Potential Use in the Prevention and Treatment of Cardiovascular Diseases. *Curr. Pharm. Des.* 24, 239–258. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180130112652>

Ginsberg, L., Rafique, S., Xuereb, J.H., Rapoport, S.I., Gershfild, N.L., 1995. Disease and anatomic specificity of ethanolamine plasmalogen deficiency in Alzheimer's disease brain. *Brain Res.* 698, 223–226. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00931-f](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00931-f)

Girnun, G.D., Domann, F.E., Moore, S.A., Robbins, M.E.C., 2002. Identification of a functional peroxisome proliferator-activated receptor response element in the rat catalase promoter. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 16, 2793–2801. <https://doi.org/10.1210/me.2002-0020>

Gorzynik-Debicka, M., Przychodzen, P., Cappello, F., Kuban-Jankowska, A., Gammazza, A.M., Knap, N., Wozniak, M., Gorska-Ponikowska, M., 2018. Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. *Int. J. Mol. Sci.* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19030686>

Graeber, M.B., 2003. Microglia, in: Aminoff, M.J., Daroff, R.B. (Eds.), *Encyclopedia of the Neurological Sciences*. Academic Press, New York, pp. 137–140. <https://doi.org/10.1016/B0-12-226870-9/00476-7>

Griffin, E.N., Ackerman, S.L., 2020. Lipid Metabolism and Axon Degeneration: An ACOX1 Balancing Act. *Neuron* 106, 551–553. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.04.030>

Grina, F., Abdellatif, R., Talal, S., Nasser, B., 2020a. Could the *Fucus Spiralis* Algal Extract Prevent the Oxidative Stress in *Tetrahymena Pyriformis* Model ? <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.89788995>



[Tapez ici]

Grina, F., Abdellatif, R., Talal, S., Nasser, B., 2020b. Could the Fucus Spiralis Algal Extract Prevent the Oxidative Stress in Could the Fucus Spiralis Algal Extract Prevent the Oxidative Stress in Tetrahymena Pyriformis Model ? <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.89788995>

Guenauou, I., Hmimid, F., Azzahra, F., Errami, A., Santé, L., Environnement, E., Des, F., Ain, S., Hassan, U., Casablanca, I.I. De, 2021. Comparative Biochemistry and Physiology , Part C Cytoprotective effect of ethyl acetate fraction from Ephedra fragilis on H₂O₂ - induced oxidative damage in Tetrahymena pyriformis. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 239, 108899. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108899>

Guillaume, D., Charrouf, Z., 2011. Argan oil and other argan products: Use in dermocosmetology. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 403–408. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000417>

Guo, X., Song, W., Chen, K., Chen, X., Zheng, Z., Cao, B., Huang, R., Zhao, B., Wu, Y., Shang, H.-F., 2015. The serum lipid profile of Parkinson's disease patients: a study from China. *Int. J. Neurosci.* 125, 838–844. <https://doi.org/10.3109/00207454.2014.979288>

Gustaw-Rothenberg, K., Kowalczyk, K., Stryjecka-Zimmer, M., 2010. Lipids' peroxidation markers in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Geriatr. Gerontol. Int.* 10, 161–166. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0594.2009.00571.x>

Haimeur, A., Messaouri, H., Ulmann, L., Mimouni, V., Masrar, A., Chraïbi, A., Tremblin, G., Meskini, N., 2013. Argan oil prevents prothrombotic complications by lowering lipid levels and platelet aggregation, enhancing oxidative status in dyslipidemic patients from the area of Rabat (Morocco). *Lipids Health Dis.* 12, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-12-107>

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P., 2007. Le stress oxydant. *Rev. Med. Liege* 62, 628–638.

Halliwell, B., 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J. Neurochem.* 97, 1634–1658. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x>

Halliwell, B., 1999. Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.* 31, 261–272. <https://doi.org/10.1080/10715769900300841>

Haman, N., Longo, E., Schiraldi, A., Scampicchio, M., 2017a. Radical scavenging activity of lipophilic antioxidants and extra-virgin olive oil by isothermal calorimetry. *Thermochim. Acta* 658, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.TCA.2017.10.012>

Haman, N., Longo, E., Schiraldi, A., Scampicchio, M., 2017b. Radical scavenging activity of lipophilic antioxidants and extra-virgin olive oil by isothermal calorimetry. *Thermochim. Acta* 658, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.TCA.2017.10.012>



[Tapez ici]

Hamilton, R.T., Walsh, M.E., Remmen, H. Van, 2014. Mouse Models of Oxidative Stress Indicate a Role for Modulating Healthy Aging Ryan. <https://doi.org/10.4172/2161-0681.S4-005.Mouse>

Hammou, A., Biotechnologies, D., Sciences, F., Zohr, U.I., Paysage, D., li, I.A.V.H., 2018. Clonal selection of Argan trees (*Argania spinosa* L . Skeels) in the Admin forest , Agadir , Southwestern Morocco 6, 7–18. <https://doi.org/10.33495/jacr>

Han, W., Fessel, J.P., Sherrill, T., Emily, G., Yull, F.E., Blackwell, T.S., 2020. Enhanced Expression of Catalase in Mitochondria Modulates NF- κ B – Dependent Lung Inflammation through Alteration of Metabolic Activity in Macrophages. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900820>

Harris, S., 1997. Fatty acids and serum lipoproteins : human. *Am. J. Clin. Nutr.* 65, 1645S-1654S.

Hayes, K.C., Pronczuk, A., Perlman, D., 2004. Nonesterified phytosterols dissolved and recrystallized in oil reduce plasma cholesterol in gerbils and humans. *J. Nutr.* 134, 1395–1399. <https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1395>

He, D., Wang, S., Fang, G., Zhu, Q., Wu, J., Li, J., Shi, D., Lian, X., 2022. LXRs/ABCA1 activation contribute to the anti-inflammatory role of phytosterols on LPS-induced acute lung injury. *J. Funct. Foods* 89, 104966. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.104966>

Hein, S., Schönfeld, P., Kahlert, S., Reiser, G., 2008. Toxic effects of X-linked adrenoleukodystrophy-associated, very long chain fatty acids on glial cells and neurons from rat hippocampus in culture. *Hum. Mol. Genet.* 17, 1750–1761. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn066>

Hermes-Lima, M., Zenteno-Savín, T., 2002. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 133, 537–556. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00080-7](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00080-7)

Hernández, A., Farràs, M., Fitó, M., 2016. Olive oil phenolic compounds and high-density lipoprotein function. *Curr. Opin. Lipidol.* 27, 47–53. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000261>

Higgins, C.F., 1992. ABC transporters: from microorganisms to man. *Annu. Rev. Cell Biol.* 8, 67–113. <https://doi.org/10.1146/annurev.cb.08.110192.000435>

Hilali, M., CHARROUF, Z., SOULHI, E.A., Achimi, L.A.H., Uillaume, D.O.G., 2005. Influence of Origin and Extraction Method on Argan Oil Physico-Chemical Characteristics and Composition.

HILALI, M., MONFALOUTI, H. EI, KARTAH, B.E., 2020. STUDY OF THE FLAVONOIDS AND SECONDARY METABOLITES OF THE ARGAN TREE (*Argania spinosa* L.). *Online J. Anim. Feed Res.* 10, 167–171. <https://doi.org/10.51227/ojafr.2020.23>



[Tapez ici]

Holzerová, E., Prokisch, H., 2015. Mitochondria: Much ado about nothing? How dangerous is reactive oxygen species production? *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 63, 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2015.01.021>

Horton, J.W., Walker, P.B., 1993. Oxygen radicals, lipid peroxidation, and permeability changes after intestinal ischemia and reperfusion. *J. Appl. Physiol.* 74, 1515–1520. <https://doi.org/10.1152/jappl.1993.74.4.1515>

Houshia, O.J., Qutit, A., Zaid, O., Shqair, H., Zaid, M., 2014. Determination of Total Polyphenolic Antioxidants Contents in West-Bank Olive Oil. *J. Nat. Sci. Res.* 4, 71–76.

Houston, E., *Physiol. L.*, Gsh, P.M., 2019. Enhanced sinusoidal glutathione efflux during 60–68.

Hsu, D., Chiang, P., Chien, S., 2004. Parenteral sesame oil attenuates oxidative stress after endotoxin intoxication in rats 196, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2003.12.001>

Huang, B., Ke, H., He, J., Ban, X., Zeng, H., Wang, Y., 2011a. Extracts of *Halenia elliptica* exhibit antioxidant properties in vitro and in vivo. *Food Chem. Toxicol.* 49, 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.015>

Huang, B., Ke, H., He, J., Ban, X., Zeng, H., Wang, Y., 2011b. Extracts of *Halenia elliptica* exhibit antioxidant properties in vitro and in vivo. *Food Chem. Toxicol.* 49, 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.015>

Huang, Y.-C., Wen, Z.-H., Wang, S.-K., Hsu, C.-H., Duh, C.-Y., 2008. New anti-inflammatory 4-methylated steroids from the Formosan soft coral *Nephthea chabroli*. *Steroids* 73, 1181–1186. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2008.05.007>

Hühner, L., Rilka, J., Gilsbach, R., Zhou, X., Machado, V., Spittau, B., 2017. Interleukin-4 Protects Dopaminergic Neurons In vitro but Is Dispensable for MPTP-Induced Neurodegeneration In vivo. *Front. Mol. Neurosci.* 10.

Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex. J. Med.* 54, 287–293. <https://doi.org/10.4314/bafm.v54i4>

Ilavarasi, K., Kiruthiga, P.V., Pandian, S.K., Devi, K.P., 2011. Chemosphere Hydroxytyrosol , the phenolic compound of olive oil protects human PBMC against oxidative stress and DNA damage mediated by 2 , 3 , 7 , 8-TCDD. *Chemosphere* 84, 888–893. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.017>

Infante, J.P., Tschanz, C.L., Shaw, N., Michaud, A.L., Lawrence, P., Brenna, J.T., 2002. Straight-Chain Acyl-CoA Oxidase Knockout Mouse Accumulates Extremely Long Chain Fatty Acids from α -Linolenic Acid:



[Tapez ici]

Evidence for Runaway Carousel-Type Enzyme Kinetics in Peroxisomal β -Oxidation Diseases. *Mol. Genet. Metab.* 75, 108–119. <https://doi.org/10.1006/mgme.2001.3279>

Islinger, M., Grille, S., Fahimi, H.D., Schrader, M., 2018. The peroxisome: An update on mysteries. *Histochem. Cell Biol.* 137, 547–574. <https://doi.org/10.1007/s00418-012-0941-4>

Islinger, M., Grille, S., Fahimi, H.D., Schrader, M., 2012. The peroxisome: An update on mysteries. *Histochem. Cell Biol.* 137, 547–574. <https://doi.org/10.1007/s00418-012-0941-4>

Ivashchenko, O., Van Veldhoven, P.P., Brees, C., Ho, Y.-S., Terlecky, S.R., Fransen, M., 2011. Intraperoxisomal redox balance in mammalian cells: oxidative stress and interorganellar cross-talk. *Mol. Biol. Cell* 22, 1440–1451. <https://doi.org/10.1091/mbc.E10-11-0919>

Jean, B., Fatima, D., 2019. Anomalies de la β -oxydation mitochondriale des acides gras. *Médecine/Sciences* 35, 779–786.

Jelinek, M., Jurajda, M., Duris, K., 2021. Oxidative Stress in the Brain: Basic Concepts and Treatment Strategies in Stroke. *Antioxidants* 10, 1886. <https://doi.org/10.3390/antiox10121886>

Jeong, J.Y., Chung, Y.C., Jin, B.K., 2019. Interleukin-4 and Interleukin-13 Exacerbate Neurotoxicity of Prothrombin Kringle-2 in Cortex In Vivo via Oxidative Stress. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 1927. <https://doi.org/10.3390/ijms20081927>

Jie, F., Yang, X., Wu, L., Wang, M., Lu, B., 2022. Linking phytosterols and oxyphytosterols from food to brain health: origins, effects, and underlying mechanisms. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 62, 3613–3630. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1867819>

Jo, D.S., Cho, D.-H., 2019. Peroxisomal dysfunction in neurodegenerative diseases. *Arch. Pharm. Res.* 42, 393–406. <https://doi.org/10.1007/s12272-019-01131-2>

Jones, P., MacDougall, D.E., Ntanios, F., Vanstone, C.A., 1997. Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 75, 217–227. <https://doi.org/10.1139/y97-011>

Jung, Y.J., Tweedie, D., Scerba, M.T., Greig, N.H., 2019. Neuroinflammation as a Factor of Neurodegenerative Disease: Thalidomide Analogs as Treatments. *Front. Cell Dev. Biol.* 7.

Kamal, R., Kharbach, M., Doukkali, Z., 2017. Antioxidant activities, total polyphenolic compounds and HPLC/DAD/MS phenolic profile of argan oil derived from two different methods of extractions vol8.

Kamal, R., Kharbach, M., Vander, Y., Zohra, H., Ghchime, R., Bouklouze, A., Cherrah, Y., Alaoui, K., 2019a. In vivo anti-inflammatory response and bioactive compounds' profile of polyphenolic extracts from edible Argan oil (*Argania spinosa* L.), obtained by two extraction methods 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13066>



[Tapez ici]

Kamal, R., Kharbach, M., Vander, Y., Zohra, H., Ghchime, R., Bouklouze, A., Cherrah, Y., Alaoui, K., 2019b. In vivo anti - inflammatory response and bioactive compounds ' profile of polyphenolic extracts from edible Argan oil (*Argania spinosa* L .), obtained by two extraction methods 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13066>

Kamijo, K., Taketani, S., Yokota, S., Osumi, T., Hashimoto, T., 1990. The 70-kDa peroxisomal membrane protein is a member of the Mdr (P-glycoprotein)-related ATP-binding protein superfamily. *J. Biol. Chem.* 265, 4534–4540.

Kanarek, N., Petrova, B., Sabatini, D.M., 2020. Dietary modifications for enhanced cancer therapy. *Nature* 579, 507–517. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2124-0>

Karsan, A., Leong, K.G., 2000. Signaling pathways mediated by tumor necrosis factor α . *Histol. Histopathol.* 15, 1303–1325.

Kashiwayama, Y., Asahina, K., Morita, M., Imanaka, T., 2007. Hydrophobic regions adjacent to transmembrane domains 1 and 5 are important for the targeting of the 70-kDa peroxisomal membrane protein. *J. Biol. Chem.* 282, 33831–33844. <https://doi.org/10.1074/jbc.M703369200>

Kassab, A., Laradi, S., Ferchichi, S., Omezzine, A., Charfeddine, B., Ammar, H., Chaieb, L., Miled, A., 2003. Oxidative stress parameters in type 2 diabetes mellitus | Paramètres du stress oxydant dans le diabète de type 2. *Immuno-Anal. Biol. Spec.* 18, 79–85. [https://doi.org/10.1016/S0923-2532\(03\)00007-3](https://doi.org/10.1016/S0923-2532(03)00007-3)

Kaur, N., Sharma, I., Kirat, K., Pati, P., 2016. Detection of Reactive Oxygen Species in *Oryza sativa* L. (Rice). *BIO-Protoc.* 6. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2061>

Kebbaj, R. El, Kamouni, S. El, Hajj, H.I. El, Andreoletti, P., Gresti, J., Latruffe, N., Saïd, M.H., Kebbaj, E., Vamecq, J., 2013. Modulation of peroxisomes abundance by argan oil and lipopolysaccharides in acyl-CoA oxidase 1-deficient fibroblasts 5, 62–69.

Kempuraj, D., Thangavel, R., Natteru, P., Selvakumar, G., Saeed, D., Zahoor, H., Zaheer, S., Iyer, S., Zaheer, A., 2016. Neuroinflammation Induces Neurodegeneration. *J. Neurol. Neurosurg. Spine* 1, 1003.

Khallouki, F., Eddouks, M., Mourad, A., Breuer, A., Owen, R.W., 2017. Ethnobotanic, Ethnopharmacologic Aspects and New Phytochemical Insights into Moroccan Argan Fruits. *Int. J. Mol. Sci.* 18, E2277. <https://doi.org/10.3390/ijms18112277>

Khallouki, F., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., Owen, R.W., 2005. Secondary metabolites of the argan tree (Morocco) may have disease prevention properties. *Afr. J. Biotechnol.* 4, 381–388. <https://doi.org/10.5897/AJB2005.000-3071>

Khallouki, F., Younos, C., Soulimani, R., Oster, T., Charrouf, Z., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., Owen, R.W., 2003a. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols,



[Tapez ici]

squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur. J. Cancer Prev.* 12, 67–75. <https://doi.org/10.1097/00008469-200302000-00011>

Khallouki, F., Younos, C., Soulimani, R., Oster, T., Charrouf, Z., Spiegelhalter, B., Bartsch, H., Owen, R.W., 2003b. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur. J. Cancer Prev.* 12, 67–75. <https://doi.org/10.1097/00008469-200302000-00011>

Kherraz, K., Chouikh, A., Chefrour, A., Amara, D.G., 2019. ESTIMATION OF TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOIDS CONTENT AND ANTI-FREE RADICAL SCAVENGER, ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF EXTRACT OF *Matricaria pubescens* (DESF.) SCH. BIP. COLLECTED FROM SOUTH EAST OF ALGERIA 6.

Khovidhunkit, W., Moser, A.H., Shigenaga, J.K., Grunfeld, C., Feingold, K.R., 2003. Endotoxin down-regulates ABCG5 and ABCG8 in mouse liver and ABCA1 and ABCG1 in J774 murine macrophages: differential role of LXR. *J. Lipid Res.* 44, 1728–1736. <https://doi.org/10.1194/jlr.M300100-JLR200>

Kim, I.D., Ha, B.J., 2010. The effects of paeoniflorin on LPS-induced liver inflammatory reactions. *Arch. Pharm. Res.* 33, 959–966. <https://doi.org/10.1007/s12272-010-0620-8>

Kim, P.K., Mullen, R.T., Schumann, U., Lippincott-Schwartz, J., 2006. The origin and maintenance of mammalian peroxisomes involves a de novo PEX16-dependent pathway from the ER. *J. Cell Biol.* 173, 521–532. <https://doi.org/10.1083/jcb.200601036>

Kim, S.H., Johnson, V.J., Shin, T.-Y., Sharma, R.P., 2004. Selenium Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Oxidative Stress Responses Through Modulation of p38 MAPK and NF- κ B Signaling Pathways. *Exp. Biol. Med.* 229, 203–213. <https://doi.org/10.1177/153537020422900209>

Kiyoshi, N., 2000. role of reactive oxygen species in the regulation of physiological functions. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 34, 430–433.

Ko, K., Yang, H., Nouredin, M., Iglesia-Ara, A., Xia, M., Wagner, C., Luka, Z., Mato, J.M., Lu, S.C., 2008. Changes in S-adenosylmethionine and GSH homeostasis during endotoxemia in mice. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 88, 1121–1129. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2008.69>

Kobayashi, N., DeLano, F.A., Schmid-Schönbein, G.W., 2005. Oxidative stress promotes endothelial cell apoptosis and loss of microvessels in the spontaneously hypertensive rats. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 2114–2121. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000178993.13222.f2>

Koch, A., Schneider, G., Lüers, G.H., Schrader, M., 2004. Peroxisome elongation and constriction but not fission can occur independently of dynamin-like protein 1. *J. Cell Sci.* 117, 3995–4006. <https://doi.org/10.1242/jcs.01268>



[Tapez ici]

Koprach, J.B., Reske-Nielsen, C., Mithal, P., Isacson, O., 2008. Neuroinflammation mediated by IL-1 β increases susceptibility of dopamine neurons to degeneration in an animal model of Parkinson's disease. *J. Neuroinflammation* 5, 8. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-8>

Kou, J., Kovacs, G.G., Höftberger, R., Kulik, W., Brodde, A., Forss-Petter, S., Hönigschnabl, S., Gleiss, A., Brügger, B., Wanders, R., Just, W., Budka, H., Jungwirth, S., Fischer, P., Berger, J., 2011. Peroxisomal alterations in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 122, 271–283. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0836-9>

Krautbauer, S., Eisinger, K., Neumeier, M., Hader, Y., Buettner, R., Schmid, P.M., Aslanidis, C., Buechler, C., 2014. Free Fatty Acids, Lipopolysaccharide and IL-1 α Induce Adipocyte Manganese Superoxide Dismutase Which Is Increased in Visceral Adipose Tissues of Obese Rodents 9, 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086866>

Kurano, M., Hasegawa, K., Kunimi, M., Hara, M., Yatomi, Y., Teramoto, T., Tsukamoto, K., 2018. Sitosterol prevents obesity-related chronic inflammation. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1863, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2017.12.004>

Lagarda, M.J., García-Llatas, G., Farré, R., 2006. Analysis of phytosterols in foods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 1486–1496. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.02.052>

Laitinen, M.H., Ngandu, T., Rovio, S., Helkala, E.L., Uusitalo, U., Viitanen, M., Nissinen, A., Tuomilehto, J., Soininen, H., Kivipelto, M., 2006. Fat intake at midlife and risk of dementia and Alzheimer's disease: A population-based study. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 22, 99–107. <https://doi.org/10.1159/000093478>

Laliberté, J., Labbé, S., 2008. The molecular bases for copper uptake and distribution: Lessons from yeast. *Medecine/Sciences* 24, 277–283. <https://doi.org/10.1051/medsci/2008243277>

LANDRIER, J.-F., 2011. Vitamine E et physiologie du tissu adipeux 18, 83–87.

Laroux, F.S., Pavlick, K.P., Hines, I.N., Kawachi, S., Harada, H., Bharwani, S., Hoffman, J.M., Grisham, M.B., 2001. Role of nitric oxide in inflammation. *Acta Physiol. Scand.* 173, 113–118. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2001.00891.x>

Latorre, C.H., 2014. A brief study of the role of Selenium as antioxidant.

Lee, J., Homma, T., Kurahashi, T., Kang, E.S., Fujii, J., 2015a. Biochemical and Biophysical Research Communications Oxidative stress triggers lipid droplet accumulation in primary cultured hepatocytes by activating fatty acid synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.121>



[Tapez ici]

Lee, J., Homma, T., Kurahashi, T., Kang, E.S., Fujii, J., 2015b. Biochemical and Biophysical Research Communications Oxidative stress triggers lipid droplet accumulation in primary cultured hepatocytes by activating fatty acid synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.121>

Lee, S., Seok, B.G., Lee, S.-J., Chung, S.W., 2022. Inhibition of mitoNEET attenuates LPS-induced inflammation and oxidative stress. *Cell Death Dis.* 13, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04586-2>

Lee, S., Zhang, J., Choi, A.M.K., Kim, H.P., 2013a. Mitochondrial Dysfunction Induces Formation of Lipid Droplets as a Generalized Response to Stress 2013.

Lee, S., Zhang, J., Choi, A.M.K., Kim, H.P., 2013b. Mitochondrial Dysfunction Induces Formation of Lipid Droplets as a Generalized Response to Stress 2013.

Lefebvre, P., Chinetti, G., Fruchart, J.-C., Staels, B., 2006. Sorting out the roles of PPAR α in energy metabolism and vascular homeostasis. *J. Clin. Invest.* 116, 571–580. <https://doi.org/10.1172/JCI27989>

LEGER, C.-L., 2000. Vitamin E: current state of knowledge, role in the prevention of cardiovascular disease, bioavailability. *Encycl. Volcanoes* 7, 662.

Lenz, M., Vlachos, A., 2019. The neuroimmunological synapse: from synaptic homeostasis to brain disease. *Neuroforum* 25, 163–171. <https://doi.org/10.1515/nf-2019-0009>

Lesma, G., Luraghi, A., Bavaro, T., Bortolozzi, R., Rainoldi, G., Roda, G., Viola, G., Ubiali, D., Silvani, A., 2018. Phytosterol and γ -Oryzanol Conjugates: Synthesis and Evaluation of their Antioxidant, Antiproliferative, and Anticholesterol Activities. *J. Nat. Prod.* 81, 2212–2221. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00465>

Levine, R.L., 2002. Serial Review : Oxidatively Modified Proteins in Aging and Disease 32, 790–796.

Liguori, L., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-morte, D., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P., 2018. Oxidative Stress and Diseases. *Oxidative Stress Dis.* 757–772. <https://doi.org/10.5772/2535>

Lin, Y., Knol, D., Trautwein, E.A., 2016. Phytosterol oxidation products (POP) in foods with added phytosterols and estimation of their daily intake: A literature review. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 118, 1423–1438. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500368>

Listenberger, L.L., Brown, D.A., 2007a. Fluorescent Detection of Lipid Droplets and Associated Proteins. *Curr. Protoc. Cell Biol.* 35, 1–11. <https://doi.org/10.1002/0471143030.cb2402s35>

Listenberger, L.L., Brown, D.A., 2007b. Fluorescent Detection of Lipid Droplets and Associated Proteins. *Curr. Protoc. Cell Biol.* 35, 1–11. <https://doi.org/10.1002/0471143030.cb2402s35>



[Tapez ici]

Lizard, G., Rouaud, O., Demarquoy, J., Cherkaoui-Malki, M., Iuliano, L., 2012a. Potential roles of peroxisomes in Alzheimer's disease and in dementia of the Alzheimer's type. *J. Alzheimers Dis. JAD* 29, 241–254. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111163>

Lizard, G., Rouaud, O., Demarquoy, J., Cherkaoui-Malki, M., Iuliano, L., 2012b. Potential Roles of Peroxisomes in Alzheimer's Disease and in Dementia of the Alzheimer's Type. *J. Alzheimers Dis.* 29, 241–254. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111163>

Lizard, Gueldry, Deckert, Gambert, Lagrost, 1997. Evaluation of the cytotoxic effects of some oxysterols and of cholesterol on endothelial cell growth: methodological aspects. *Pathol. Biol. (Paris)* 45, 281–290.

Lombard-Platet, G., Savary, S., Sarde, C.O., Mandel, J.L., Chimini, G., 1996. A close relative of the adrenoleukodystrophy (ALD) gene codes for a peroxisomal protein with a specific expression pattern. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 1265–1269. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.3.1265>

López, L.C., Cabrera-Vique, C., Venegas, C., García-Corzo, L., Luna-Sánchez, M., Acuña-Castroviejo, D., Escames, G., 2013. Argan oil-contained antioxidants for human mitochondria. *Nat. Prod. Commun.* 8, 47–50. <https://doi.org/10.1177/1934578x1300800111>

López-Erauskin, J., Galino, J., Bianchi, P., Fourcade, S., Andreu, A.L., Ferrer, I., Muñoz-Pinedo, C., Pujol, A., 2012. Oxidative stress modulates mitochondrial failure and cyclophilin D function in X-linked adrenoleukodystrophy. *Brain J. Neurol.* 135, 3584–3598. <https://doi.org/10.1093/brain/aws292>

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951a. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951b. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)

Luciano, C.P.A., 2012. Mitochondrial Dysfunction during Sepsis. *Endocr. Metab. Immune Disord. - Drug Targets* 10, 214–223. <https://doi.org/10.2174/187153010791936946>

Luo, T., Wu, W.-H., Chen, B.-S., 2011. NMDA receptor signaling: death or survival? *Front. Biol.* 6, 468–476. <https://doi.org/10.1007/s11515-011-1187-6>

Lybbert, T.J., 2007. Patent disclosure requirements and benefit sharing : A counterfactual case of Morocco ' s argan oil 64. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.06.017>

Lybbert, T.J., Aboudrare, A., Chaloud, D., Magnan, N., Nash, M., 2011. Booming markets for Moroccan argan oil appear to bene fi t some rural households while threatening the endemic argan forest. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106382108>



[Tapez ici]

Lynch, M.A., 2015. Neuroinflammatory changes negatively impact on LTP: A focus on IL-1 β . *Brain Res.* 1621, 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.08.040>

Mandelkow, E.-M., Stamer, K., Vogel, R., Thies, E., Mandelkow, E., 2003. Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. *Neurobiol. Aging* 24, 1079–1085. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2003.04.007>

Mansour, R.B., Ben, H., Hanen, S., Moufida, F., Seif, M., Kechebar, A., Ksouri, R., 2018. Phytochemical characteristics, antioxidant, and health properties of roasted and unroasted Algerian argan (*Argania spinosa*) oil 1–7. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12562>

Marfil, R., Giménez, R., Martínez, O., Bouzas, P.R., Rufián-Henares, J.A., Mesías, M., Cabrera-Vique, C., 2011a. Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*, Skeels). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 886–893. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000503>

Marfil, R., Giménez, R., Martínez, O., Bouzas, P.R., Rufián-Henares, J.A., Mesías, M., Cabrera-Vique, C., 2011b. Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*, Skeels). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 886–893. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000503>

Marijke, J., T, R., J, V., A, C., 2012. Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *Int. J. Mol. Sci.* 13. <https://doi.org/10.3390/ijms13033145>

Marrocco, I., Altieri, F., Peluso, I., 2017. Review Article Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans 2017.

Mattace Raso, G., Simeoli, R., Russo, R., Santoro, A., Pirozzi, C., d'Emmanuele di Villa Bianca, R., Mitidieri, E., Paciello, O., Pagano, T.B., Orefice, N.S., Meli, R., Calignano, A., 2013. N-Palmitoylethanolamide protects the kidney from hypertensive injury in spontaneously hypertensive rats via inhibition of oxidative stress. *Pharmacol. Res.* 76, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.07.007>

Mazat, J., Ransac, S., 2010. index.php?option=com_article&access=standard&Itemid=129&url=%2Farticles%2Fmedsci%2Fpdf%2F2010%2F11%2Fmedsci20102612p1079.pdf.

McCord, J., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)63504-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)63504-5)

McFarland, A.J., Davey, A.K., McDermott, C.M., Grant, G.D., Lewohl, J., Anoopkumar-Dukie, S., 2018. Differences in statin associated neuroprotection corresponds with either decreased production of IL-1 β or TNF- α in an in vitro model of neuroinflammation-induced neurodegeneration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 344, 56–73. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.03.005>

Meister, A., 1994. Glutathione, Ascorbate, and Cellular Protection 1969–1976.



[Tapez ici]

Mendoza-Núñez, V.M., Sánchez-Rodríguez, M.A., Retana-Ugalde, R., Vargas-Guadarrama, L.A., Altamirano-Lozano, M.A., 2001. Total antioxidant levels, gender, and age as risk factors for DNA damage in lymphocytes of the elderly. *Mech. Ageing Dev.* 122, 835–847. [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(01\)00240-8](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(01)00240-8)

Menni, H. Ben, Belarbi, M., Menni, D. Ben, Bendiab, H., Kherraf, Y., Ksouri, R., Djebli, N., Visioli, F., 2019. Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 0, 1–8. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1650005>

Menni, H.B., Belarbi, M., Menni, D.B., Bendiab, H., Kherraf, Y., Ksouri, R., Djebli, N., Visioli, F., 2019. Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 0, 1–8. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1650005>

M'hirit, O., Benzyane, M., Benchekroune, F., 1998. L'arganier: Une espèce fruitière-forestière à usages multiples. Mardaga, Sprimont, Belgique, France.

Midaoui, A.E., Haddad, Y., Filali-Zegzouti, Y., Couture, R., 2017. Argan Oil as an Effective Nutri-Therapeutic Agent in Metabolic Syndrome: A Preclinical Study. *Int. J. Mol. Sci. Artic.* <https://doi.org/10.3390/ijms18112492>

Midaoui, A. El, Haddad, Y., Filali-Zegzouti, Y., Couture, R., 2017. Argan Oil as an Effective Nutri-Therapeutic Agent in Metabolic Syndrome: A Preclinical Study. *Int. J. Mol. Sci. Artic.* <https://doi.org/10.3390/ijms18112492>

Migdal, C., Serres, M., 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/Sciences* 27, 405–412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274405>

MILLS, G.C., 1957. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.* 229, 189–197. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)70608-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)70608-X)

Mira, J.-P., Cariou, A., Grall, F., Delclaux, C., Losser, M.-R., Heshmati, F., Cheval, C., Monchi, M., Teboul, J.-L., Riché, F., Leleu, G., Arbibe, L., Mignon, A., Delpech, M., Dhainaut, J.-F., 1999. Association of TNF2, a TNF- α Promoter Polymorphism, With Septic Shock Susceptibility and Mortality A Multicenter Study. *JAMA* 282, 561–568. <https://doi.org/10.1001/jama.282.6.561>

Miłośczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A.M., Zujko, M.E., 2018. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv. Med. Sci.* 63, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>

Miura, K., Ishii, T., Sugita, Y., Bannai, S., 1992. Cystine uptake and glutathione level in endothelial cells exposed to oxidative stress. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* 262, C50–C58. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1992.262.1.C50>



[Tapez ici]

Mizuno, Yumi, Ninomiya, Y., Nakachi, Y., Iseki, M., Iwasa, H., Akita, M., Tsukui, T., Shimozawa, N., Ito, C., Toshimori, K., Nishimukai, M., Hara, H., Maeba, R., Okazaki, T., Alodaib, A.N.A., Amoudi, M. Al, Jacob, M., Alkuraya, F.S., Horai, Y., Watanabe, M., Motegi, H., Wakana, S., Noda, T., Kurochkin, I. V., Mizuno, Yosuke, Schönbach, C., Okazaki, Y., 2013. Tysnd1 Deficiency in Mice Interferes with the Peroxisomal Localization of PTS2 Enzymes, Causing Lipid Metabolic Abnormalities and Male Infertility. *PLoS Genet.* 9, 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003286>

Moghadasian, M.H., 2000. Pharmacological properties of plant sterols. *Life Sci.* 67, 605–615. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(00\)00665-2](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)00665-2)

Mohd. Esa, N., Abdul Kadir, K.-K., Amom, Z., Azlan, A., 2013. Antioxidant activity of white rice, brown rice and germinated brown rice (in vivo and in vitro) and the effects on lipid peroxidation and liver enzymes in hyperlipidaemic rabbits. *Food Chem.* 141, 1306–1312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.086>

Möller, G., van Grunsven, E.G., Wanders, R.J.A., Adamski, J., 2001. Molecular basis of d-bifunctional protein deficiency. *Mol. Cell. Endocrinol.* 171, 61–70. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(00\)00388-9](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(00)00388-9)

Monfalouti, H.E., Guillaume, D., Denhez, C., Charrouf, Z., 2010. Therapeutic potential of argan oil: A review. *J. Pharm. Pharmacol.* 62, 1669–1675. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01190.x>

More, G.K., Makola, R.T., 2020. In-vitro analysis of free radical scavenging activities and suppression of LPS-induced ROS production in macrophage cells by *Solanum sisymbriifolium* extracts. *Sci. Rep.* 10, 6493. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63491-w>

Moreno, J.J., 2003. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radic. Biol. Med.* 35, 1073–1081. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00465-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00465-9)

Moreno-Fernandez, M.E., Giles, D.A., Stankiewicz, T.E., Sheridan, R., Karns, R., Cappelletti, M., Lampe, K., Mukherjee, R., Sina, C., Sallese, A., Bridges, J.P., Hogan, S.P., Aronow, B.J., Hoebe, K., Divanovic, S., 2018. Peroxisomal β -oxidation regulates whole body metabolism, inflammatory vigor, and pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *JCI Insight* 3, 93626. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93626>

Morita, M., Imanaka, T., 2012. Peroxisomal ABC transporters: Structure, function and role in disease. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis., Metabolic Functions and Biogenesis of Peroxisomes in Health and Disease* 1822, 1387–1396. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.02.009>

Morton, J.F., Voss, G.L., 1987. The Argan Tree (*Argania sideroxylon* , Sapotaceae), A Desert Source of Edible Oil 1 41, 221–233.



[Tapez ici]

Mosser, J., Douar, A.M., Sarde, C.O., Kioschis, P., Feil, R., Moser, H., Poustka, A.M., Mandel, J.L., Aubourg, P., 1993. Putative X-linked adrenoleukodystrophy gene shares unexpected homology with ABC transporters. *Nature* 361, 726–730. <https://doi.org/10.1038/361726a0>

Motley, A.M., Hettema, E.H., 2007. Yeast peroxisomes multiply by growth and division. *J. Cell Biol.* 178, 399–410. <https://doi.org/10.1083/jcb.200702167>

Muhammad, M., 2019. Tumor Necrosis Factor Alpha: A Major Cytokine of Brain Neuroinflammation, *Cytokines*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85476>

Mukherjee, P.K., 2019. Phyto-Pharmaceuticals, Nutraceuticals and Their Evaluation, in: *Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs*. Elsevier, pp. 707–722. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813374-3.00020-X>

n, Eunsung Mouradian, M.M., 2008. 基因的改变 NIH Public Access. *Bone* 23, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.12.025>.Lipopolysaccharide-induced

Nakajima, K., Kohsaka, S., 2001. Microglia: Activation and Their Significance in the Central Nervous System. *J. Biochem. (Tokyo)* 130, 169–175. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a002969>

Nakbi, A., Tayeb, W., Grissa, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Chargui, I., Ellouz, M., Miled, A., Hammami, M., 2010. Effects of olive oil and its fractions on oxidative stress and the liver ' s fatty acid composition in 2 , 4-Dichlorophenoxyacetic acid-treated rats. *Nutr. Metab.* 7, 80. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-80>

Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C.K., Das, N., 2019. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, 9613090. <https://doi.org/10.1155/2019/9613090>

Nascimento, M., Rodrigues, N., Espada, F., Fonseca, M., 2012. Adrenoleukodystrophy: a forgotten diagnosis in children with primary Addison's disease. *Case Rep.* 2012, bcr2012006308–bcr2012006308. <https://doi.org/10.1136/bcr-2012-006308>

Navarro, A., Gomez, C., Lo, M., Boveris, A., Gomez, C., Lo, M., 2021. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging : survival , behavior , oxidative stress , and mitochondrial electron transfer 505–511.

Nenadis, N., Mastralexi, A., Tsimidou, M.Z., 2019. Physicochemical Characteristics and Antioxidant Potential of the Greek PDO and PGI Virgin Olive Oils (VOOs). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 121, 1800172. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800172>

Ni, J., Sasaki, Y., Tokuyama, S., Sogabe, A., Tahara, Y., 2002. Conversion of a typical catalase from *Bacillus* sp. TE124 to a catalase-peroxidase by directed evolution. *J. Biosci. Bioeng.* 93, 31–36. [https://doi.org/10.1016/s1389-1723\(02\)80050-0](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(02)80050-0)



[Tapez ici]

Niki, E., 2014. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: in vitro and in vivo evidence. *Free Radic. Biol. Med., Antioxidants* 66, 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.022>

Nomaguchi, K., Tanaka, M., Misawa, E., Yamada, M., Toida, T., Iwatsuki, K., Goto, T., Kawada, T., 2011. Aloe vera phytosterols act as ligands for PPAR and improve the expression levels of PPAR target genes in the livers of mice with diet-induced obesity. *Obes. Res. Clin. Pract.* 5, e190–e201. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2011.01.002>

Noworyta-Sokołowska, K., Górska, A., Gołombiowska, K., 2013. LPS-induced oxidative stress and inflammatory reaction in the rat striatum. *Pharmacol. Rep.* PR 65, 863–869. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(13\)71067-3](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(13)71067-3)

Nury, T., Samadi, M., Zarrouk, A., Riedinger, J.M., Lizard, G., 2013. Improved synthesis and in vitro evaluation of the cytotoxic profile of oxysterols oxidized at C4 (4 α - and 4 β -hydroxycholesterol) and C7 (7-ketocholesterol, 7 α - and 7 β -hydroxycholesterol) on cells of the central nervous system. *Eur. J. Med. Chem.* 70, 558–567. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.09.028>

Nury, T., Yammine, A., Ghzaïel, I., Sassi, K., Zarrouk, A., Brahmi, F., Samadi, M., Rup-Jacques, S., Vervandier-Fasseur, D., Pais de Barros, J.P., Bergas, V., Ghosh, S., Majeed, M., Pande, A., Atanasov, A., Hammami, S., Hammami, M., Mackrill, J., Nasser, B., Andreoletti, P., Cherkaoui-Malki, M., Vejux, A., Lizard, G., 2021. Attenuation of 7-ketocholesterol- and 7 β -hydroxycholesterol-induced oxiaoptophagy by nutrients, synthetic molecules and oils: Potential for the prevention of age-related diseases. *Ageing Res. Rev.* 68, 101324. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101324>

Nury, T., Zarrouk, A., Yammine, A., Mackrill, J.J., Vejux, A., Lizard, G., 2020. Oxiaoptophagy: A type of cell death induced by some oxysterols. *Br. J. Pharmacol.* <https://doi.org/10.1111/bph.15173>

Oaxaca-castillo, D., Andreoletti, P., Vluggens, A., Yu, S., Veldhoven, P.P. Van, Reddy, J.K., Cherkaoui-malki, M., 2009. *NIH Public Access* 360, 314–319. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.06.059>. *Biochemical*

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979a. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues Thiobarbituric Acid Reaction 358, 351–358.

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979b. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues Thiobarbituric Acid Reaction 358, 351–358.

Ohnishi, M., Matuo, T., Tsuno, T., Hosoda, A., Nomura, E., Taniguchi, H., Sasaki, H., Morishita, H., 2004. Antioxidant activity and hypoglycemic effect of ferulic acid in STZ-induced diabetic mice and KK-Ay mice. *BioFactors* 21, 315–319. <https://doi.org/10.1002/biof.552210161>



[Tapez ici]

Orabi, S.H., Allam, T.S., Shawky, S.M., El-Aziz Tahoun, A., Khalifa, H.K., Almeer, R., Abdel-Daim, M.M., Borai El-Borai, N., Mousa, A.A., Eg, A.A.M., 2020a. The Antioxidant, Anti-Apoptotic, and Proliferative Potency of Argan Oil against Betamethasone-Induced Oxidative Renal Damage in Rats. *Biology* 2020, 352. <https://doi.org/10.3390/biology9110352>

Orabi, S.H., Allam, T.S., Shawky, S.M., El-Aziz Tahoun, A., Khalifa, H.K., Almeer, R., Abdel-Daim, M.M., Borai El-Borai, N., Mousa, A.A., Eg, A.A.M., 2020b. The Antioxidant, Anti-Apoptotic, and Proliferative Potency of Argan Oil against Betamethasone-Induced Oxidative Renal Damage in Rats. *Biology* 2020, 352. <https://doi.org/10.3390/biology9110352>

Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V.B., Dorantes-Álvarez, L., Giusti, M.M., 2011a. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Res. Int.* 44, 2160–2168. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.011>

Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V.B., Dorantes-Álvarez, L., Giusti, M.M., 2011b. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Res. Int.* 44, 2160–2168. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.011>

Otaegui-Arazola, A., Menéndez-Carreño, M., A., D., Astiasarán, I., 2010. Oxysterols : A World To Explore 1–50.

Oyaizu, 1986a. studies on products of browning reaction.

Oyaizu, 1986b. studies on products of browning reaction.

Pamplona, R., Costantini, D., 2011. Molecular and structural antioxidant defenses against oxidative stress in animals. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 301. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00034.2011>

Paoletti, F., Mocali, C.A., Is, E.C.I., 1986. Spectrophotometric Superoxide Dismutase Method for the Determination Activity in Tissue Extracts 541, 536–541.

Paradiso, V.M., Flamminii, F., Pittia, P., Caponio, F., Mattia, C.D., 2020a. Radical Scavenging Activity of Olive Oil Phenolic Antioxidants in Oil or Water Phase during the Oxidation of O/W Emulsions: An Oxidomics Approach. <https://doi.org/10.3390/antiox9100996>

Paradiso, V.M., Flamminii, F., Pittia, P., Caponio, F., Mattia, C. Di, 2020b. Radical Scavenging Activity of Olive Oil Phenolic Antioxidants in Oil or Water Phase during the Oxidation of O/W Emulsions: An Oxidomics Approach. <https://doi.org/10.3390/antiox9100996>

Park, K.W., Lee, D.Y., Joe, E.H., Kim, S.U., Jin, B.K., 2005. Neuroprotective role of microglia expressing interleukin-4. *J. Neurosci. Res.* 81, 397–402. <https://doi.org/10.1002/jnr.20483>



[Tapez ici]

Parrillo, J.E., 1993. Pathogenetic Mechanisms of Septic Shock. *N. Engl. J. Med.* 328, 1471–1477.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199305203282008>

Paton, B.C., Sharp, P.C., Crane, D.I., Poulos, A., 1996. Oxidation of pristanic acid in fibroblasts and its application to the diagnosis of peroxisomal beta-oxidation defects. *J. Clin. Invest.* 97, 681–688.
<https://doi.org/10.1172/JCI118465>

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Rio, D. Del, Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F., 2003. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods , Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays 1 2812–2819.

Persson, M., Sandberg, M., Hansson, E., Rönnbäck, L., 2006. Microglial glutamate uptake is coupled to glutathione synthesis and glutamate release. *Eur. J. Neurosci.* 24, 1063–1070.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04974.x>

Petan, T., Jarc, E., Jusovic, M., 2018a. Lipid Droplets in Cancer : Guardians of Fat in a Stressful World 11–15. <https://doi.org/10.3390/molecules23081941>

Petan, T., Jarc, E., Jusovic, M., 2018b. Lipid Droplets in Cancer : Guardians of Fat in a Stressful World 11–15. <https://doi.org/10.3390/molecules23081941>

Pils, M.C., Pisano, F., Fasnacht, N., Heinrich, J., Groebe, L., Schippers, A., Jack, R.S., Mu, W., 2010. Monocytes / macrophages and / or neutrophils are the target of IL-10 in the LPS endotoxemia model 443–448. <https://doi.org/10.1002/eji.200939592>

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.-O., 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutr. Clin. Métabolisme* 16, 233–239. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(02\)00166-8](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(02)00166-8)

Pincemail, J., Heusele, C., Limet, R., 2001. Mise au point Stress oxydant , antioxydants V, 158–164.

Poirier, Y., Antonenkov, V.D., Glumoff, T., Hiltunen, J.K., 2006. Peroxisomal β -oxidation-A metabolic pathway with multiple functions. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1763, 1413–1426.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.08.034>

Poli, A., Visioli, F., 2015. Recent evidence on omega 6 fatty acids 11and cardiovascular risk. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 117, 1847–1852. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500049>

Poll-The, B.T., Roels, F., Ogier, H., Scotto, J., Vamecq, J., Schutgens, R.B., Wanders, R.J., van Roermund, C.W., van Wijland, M.J., Schram, A.W., 1988. A new peroxisomal disorder with enlarged peroxisomes and a specific deficiency of acyl-CoA oxidase (pseudo-neonatal adrenoleukodystrophy). *Am. J. Hum. Genet.* 42, 422–434.



[Tapez ici]

Pujol, A., Ferrer, I., Camps, C., Metzger, E., Hindelang, C., Callizot, N., Ruiz, M., Pàmpol, T., Giròs, M., Mandel, J.L., 2004. Functional overlap between ABCD1 (ALD) and ABCD2 (ALDR) transporters: a therapeutic target for X-adrenoleukodystrophy. *Hum. Mol. Genet.* 13, 2997–3006. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh323>

Purdue, P.E., Lazarow, P.B., 2001. Peroxisome Biogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 701–752. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.17.1.701>

Qian, L., Flood, P.M., Hong, J.-S., 2010. Neuroinflammation is a key player in Parkinson's disease and a prime target for therapy. *J. Neural Transm.* 117, 971–979. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0428-1>

Qin, L., Li, G., Qian, X., Liu, Y., Wu, X., Liu, B., Hong, J.-S., Block, M.L., 2005. Interactive role of the toll-like receptor 4 and reactive oxygen species in LPS-induced microglia activation. *Glia* 52, 78–84. <https://doi.org/10.1002/glia.20225>

Qu, J., Chen, W., Hu, R., Feng, H., 2016. The Injury and Therapy of Reactive Oxygen Species in Intracerebral Hemorrhage Looking at Mitochondria. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016, 2592935. <https://doi.org/10.1155/2016/2592935>

Quintero-Flórez, A., Pereira-Caro, G., Sánchez-Quezada, C., José, ·, Moreno-Rojas, M., Gaforio, J.J., Antonio Jimenez, ·, Beltrán, · Gabriel, 2018a. Effect of olive cultivar on bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic fraction of virgin olive oil. *Eur. J. Nutr.* 57, 1925–1946. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1475-2>

Quintero-Flórez, A., Pereira-Caro, G., Sánchez-Quezada, C., José, ·, Moreno-Rojas, M., Gaforio, J.J., Antonio Jimenez, ·, Beltrán, · Gabriel, 2018b. Effect of olive cultivar on bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic fraction of virgin olive oil. *Eur. J. Nutr.* 57, 1925–1946. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1475-2>

Raas, Q., Saih, F., Gondcaille, C., Trompier, D., Hamon, Y., Leoni, V., Caccia, C., Nasser, B., Jadot, M., Ménétrier, F., Lizard, G., Andreoletti, P., Savary, S., 2018. A microglial cell model for acyl-CoA oxidase 1 deficiency. *BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* #pagerange#. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.10.005>

Rabie, K., Mourad, K., Jemli Meryem, E., Zouhra, D., Abdelaziz, B., Yahia, C., Katim, A., 2016. Antioxidant Activities, Total Polyphenolic Compounds And Hplc/Dad/Ms Phenolic Profile of Argan Oil Derived from Two Different Methods of Extractions. Available Online www.jocpr.com *J. Chem. Pharm. Res.* 8, 173–179.

Rachida, C., Khadija, M., Fadila, A., Abdelaziz, S., 2013a. Protective and antioxidant potential of the argan oil on induced oxidative stress in *Tetrahymena pyriformis*. *J. Med. Plants Res.* 7, 1961–1968. <https://doi.org/10.5897/jmpr12.139>



[Tapez ici]

Rachida, C., Khadija, M., Fadila, A., Abdelaziz, S., 2013b. Protective and antioxidant potential of the argan oil on induced oxidative stress in *Tetrahymena pyriformis*. *J. Med. Plants Res.* 7, 1961–1968. <https://doi.org/10.5897/jmpr12.139>

Raetz, C.R., 1990. Biochemistry of endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.* 59, 129–170. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.59.070190.001021>

Ragot, K., Delmas, D., Athias, A., Nury, T., Baarine, M., Lizard, G., 2011. α -Tocopherol impairs 7-ketocholesterol-induced caspase-3-dependent apoptosis involving GSK-3 activation and Mcl-1 degradation on 158N murine oligodendrocytes. *Chem. Phys. Lipids* 164, 469–478. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2011.04.014>

Ragot, K., Mackrill, J.J., Zarrouk, A., Nury, T., Aires, V., Jacquin, A., Athias, A., De Barros, J.P.P., Vejux, A., Riedinger, J.M., Delmas, D., Lizard, G., 2013. Absence of correlation between oxysterol accumulation in lipid raft microdomains, calcium increase, and apoptosis induction on 158N murine oligodendrocytes. *Biochem. Pharmacol.* 86, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.02.028>

Rahman, M.A., Abdullah, N., Aminudin, N., 2015. Antioxidative Effects and Inhibition of Human Low Density Lipoprotein Oxidation In Vitro of Polyphenolic Compounds in *Flammulina velutipes* (Golden Needle Mushroom). *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015, e403023. <https://doi.org/10.1155/2015/403023>

Rahmani, M., 2005. Composition chimique de l'huile d'argane « vierge » 14, 461–465.

Ravi, K., Ramachandran, B., Subramanian, S., 2004. Protective effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on tissue antioxidants in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol. Pharm. Bull.* 27, 1212–1217. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1212>

Ravnskov, U., 1998. The questionable role of saturated and polyunsaturated fatty acids in cardiovascular disease. *J. Clin. Epidemiol.* 51, 443–460. [https://doi.org/10.1016/S0895-4356\(98\)00018-3](https://doi.org/10.1016/S0895-4356(98)00018-3)

RE, R., 1999a. ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL 26, 1231–1237.

RE, R., 1999b. ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL 26, 1231–1237.

Reddy, C.C., Scholz, R.W., Thomas, C.E., Massaro, E.J., 1982. Vitamin E dependent reduced glutathione inhibition of rat liver microsomal lipid peroxidation. *Life Sci.* 31, 571–576. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(82\)90486-6](https://doi.org/10.1016/0024-3205(82)90486-6)

Reed, T.T., 2011. Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Radic. Biol. Med.* 51, 1302–1319. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.027>



[Tapez ici]

Reinert, K.R.S., Umphlet, C.D., Quattlebaum, A., Boger, H.A., 2014. Short-term effects of an endotoxin on substantia nigra dopamine neurons. *Brain Res.* 1557, 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.02.005>

Richter, C., Park, J.W., Ames, B.N., 1988. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 85, 6465–6467. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.17.6465>

Rio, L.A. del, Sandalio, L.M., Corpas, F.J., Palma, M., Barroso, J.B., Ri, L.A., 2006. Reactive Oxygen Species and Reactive Nitrogen Species in Peroxisomes . Production , Scavenging , and Role 141, 330–335. <https://doi.org/10.1104/pp.106.078204>.

Rogstam, A., Larsson, J.T., Kjelgaard, P., Wachenfeldt, C. Von, 2007. Mechanisms of Adaptation to Nitrosative Stress in *Bacillus subtilis* † 189, 3063–3071. <https://doi.org/10.1128/JB.01782-06>

Roscher, A., Molzer, B., Bernheimer, H., Stöckler, S., Mutz, I., Paltauf, F., 1985. The Cerebrohepatorenal (Zellweger) Syndrome: An Improved Method for the Biochemical Diagnosis and its Potential Value for Prenatal Detection. *Pediatr. Res.* 19, 930–933. <https://doi.org/10.1203/00006450-198509000-00013>

Rossi, M., Caruso, F., Kwok, L., Lee, G., Caruso, A., Gionfra, F., Candelotti, E., Belli, S.L., Molasky, N., Raley-Susman, K.M., Leone, S., Filipický, T., Tofani, D., Pedersen, J., Incerpi, S., 2017a. Protection by extra virgin olive oil against oxidative stress in vitro and in vivo. Chemical and biological studies on the health benefits due to a major component of the Mediterranean diet. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189341>

Rossi, M., Caruso, F., Kwok, L., Lee, G., Caruso, A., Gionfra, F., Candelotti, E., Belli, S.L., Molasky, N., Raley-Susman, K.M., Leone, S., Filipický, T., Tofani, D., Pedersen, J., Incerpi, S., 2017b. Protection by extra virgin olive oil against oxidative stress in vitro and in vivo. Chemical and biological studies on the health benefits due to a major component of the Mediterranean diet. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189341>

Rouiller, C., Bernhard, W., 1956. “Microbodies” and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. *J. Cell Biol.* 2, 355–360. <https://doi.org/10.1083/jcb.2.4.355>

Ryter, S.W., KIM, H.P., HOETZEL, A., PARK, J.W., NAKAHIRA, K., WANG, X., CHOI, A.M.K., 2007a. Mechanisms of Cell Death in Oxidative Stress. *Ars* 9, 691.

Ryter, S.W., KIM, H.P., HOETZEL, A., PARK, J.W., NAKAHIRA, K., WANG, X., CHOI, A.M.K., 2007b. Mechanisms of Cell Death in Oxidative Stress. *Ars* 9, 691.



[Tapez ici]

Sabeva, N.S., McPhaul, C.M., Li, X., Cory, T.J., Feola, D.J., Graf, G.A., 2011. Phytosterols differentially influence ABC transporter expression, cholesterol efflux and inflammatory cytokine secretion in macrophage foam cells. *J. Nutr. Biochem.* 22, 777–783. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.07.002>

Saeed, S., Singer, M., 2013. Mitochondria - Key roles in sepsis. *Reanimation* 22. <https://doi.org/10.1007/s13546-012-0638-7>

Saffar, S., Jafari, S.M., Bahrami, A., 2019. Evaluation of changes in the quality of extracted oil from olive fruits stored under different temperatures and time intervals 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54088-z>

Saha, R.N., Pahan, K., 2006. Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase Gene in Glial Cells. *Antioxid. Redox Signal.* 8, 929–947. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.929>

Salehi, B., Quispe, C., Sharifi-Rad, J., Cruz-Martins, N., Nigam, M., Mishra, A.P., Konovalov, D.A., Orobinskaya, V., Abu-Reidah, I.M., Zam, W., Sharopov, F., Venneri, T., Capasso, R., Kukula-Koch, W., Wawruszak, A., Koch, W., 2021. Phytosterols: From Preclinical Evidence to Potential Clinical Applications. *Front. Pharmacol.* 11.

Saliba, S.W., Jauch, H., Gargouri, B., Keil, A., Hurrle, T., Volz, N., Mohr, F., van der Stelt, M., Bräse, S., Fiebich, B.L., 2018. Anti-neuroinflammatory effects of GPR55 antagonists in LPS-activated primary microglial cells. *J. Neuroinflammation* 15, 322. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1362-7>

Salla, S., Sunkara, R., Ogotu, S., Walker, L.T., Verghese, M., 2015a. Antioxidant activity of papaya seed extracts against H₂O₂ induced oxidative stress in HepG2 cells. *LWT - Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.008>

Salla, S., Sunkara, R., Ogotu, S., Walker, L.T., Verghese, M., 2015b. Antioxidant activity of papaya seed extracts against H₂O₂ induced oxidative stress in HepG2 cells. *LWT - Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.008>

Samarghandian, S., Farkhondeh, T., Samini, F., Borji, A., 2016. Protective Effects of Carvacrol against Oxidative Stress Induced by Chronic Stress in Rat ' s Brain , Liver , and Kidney 2016.

Saravi, S.S.S., 2017. Nitric Oxide Synthase: Simple Enzyme-Complex Roles. BoD – Books on Demand.

Saurin, W., Hofnung, M., Dassa, E., 1999. Getting in or out: early segregation between importers and exporters in the evolution of ATP-binding cassette (ABC) transporters. *J. Mol. Evol.* 48, 22–41. <https://doi.org/10.1007/pl00006442>

Savran, M., Ozmen, O., Erzurumlu, Y., Savas, H.B., Asci, S., Kaynak, M., 2019. The Impact of Prophylactic Lacosamide on LPS-Induced Neuroinflammation in Aged Rats. *Inflammation* 42, 1913–1924. <https://doi.org/10.1007/s10753-019-01053-7>



[Tapez ici]

Scheitler, A., Seksik, P., Delsuc, N., Policar, C., Trans, D., 2020. Dalton Transactions. <https://doi.org/10.1039/C9DT04619D>

Schmidt, F., Dietrich, D., Eysten, R., Groemping, Y., Stehle, T., Dodt, G., 2012. The Role of Conserved PEX3 Regions in PEX19-Binding and Peroxisome Biogenesis. *Traffic* 13, 1244–1260. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2012.01380.x>

Schmitt, B., Vicenzi, M., Garrel, C., Denis, F.M., 2015. Effects of N-acetylcysteine, oral glutathione (GSH) and a novel sublingual form of GSH on oxidative stress markers: A comparative crossover study. *Redox Biol.* 6, 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.012>

Schrader, M., Fahimi, H.D., 2008. The peroxisome: Still a mysterious organelle. *Histochem. Cell Biol.* 129, 421–440. <https://doi.org/10.1007/s00418-008-0396-9>

Schrader, M., Krieglstein, K., Fahimi, H.D., 1998. Tubular peroxisomes in HepG2 cells: selective induction by growth factors and arachidonic acid. *Eur. J. Cell Biol.* 75, 87–96. [https://doi.org/10.1016/s0171-9335\(98\)80051-4](https://doi.org/10.1016/s0171-9335(98)80051-4)

Seedorf, U., Raabe, M., Ellinghaus, P., Kannenberg, F., Fobker, M., Engel, T., Denis, S., Wouters, F., Wirtz, K.W.A., Wanders, R.J.A., Maeda, N., Assmann, G., 1998. Defective peroxisomal catabolism of branched fatty acyl coenzyme A in mice lacking the sterol carrier protein-2/sterol carrier protein-x gene function. *Genes Dev.* 12, 1189–1201. <https://doi.org/10.1101/gad.12.8.1189>

Şekeroğlu, Z.A., Aydın, B., Şekeroğlu, V., 2017a. Argan oil reduces oxidative stress, genetic damage and emperipoleosis in rats treated with acrylamide. *Biomed. Pharmacother.* 94, 873–879. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.034>

Şekeroğlu, Z.A., Aydın, B., Şekeroğlu, V., 2017b. Argan oil reduces oxidative stress, genetic damage and emperipoleosis in rats treated with acrylamide. *Biomed. Pharmacother.* 94, 873–879. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.034>

Selvaraju, T.R., Khaza'ai, H., Vidyadaran, S., Mutalib, M.S.A., Vasudevan, R., 2014. The neuroprotective effects of tocotrienol rich fraction and alpha tocopherol against glutamate injury in astrocytes. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 14, 195–204. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2014.4.91>

Sewerynek, E., Abe, M., Reiter Dr., R.J., Barlow-Walden, L.R., Chen, L., McCabe, T.J., Roman, L.J., Diaz-Lopez, B., 1995. Melatonin administration prevents lipopolysaccharide-induced oxidative damage in phenobarbital-treated animals. *J. Cell. Biochem.* 58, 436–444. <https://doi.org/10.1002/jcb.240580406>

Shaftel, S.S., Griffin, W.S.T., O'Banion, M.K., 2008. The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: an evolving perspective. *J. Neuroinflammation* 5, 7. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-7>



[Tapez ici]

Shani, N., Jimenez-Sanchez, G., Steel, G., Dean, M., Valle, D., 1997. Identification of a fourth half ABC transporter in the human peroxisomal membrane. *Hum. Mol. Genet.* 6, 1925–1931. <https://doi.org/10.1093/hmg/6.11.1925>

Sharma, N., Tan, M.A., An, S.S.A., 2021. Phytosterols: Potential Metabolic Modulators in Neurodegenerative Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 12255. <https://doi.org/10.3390/ijms222212255>

Sheridan, R., Lampe, K., Shanmukhappa, S.K., Putnam, P., Keddache, M., Divanovic, S., Bezerra, J., Hoebe, K., 2011. Lampe1: an ENU-germline mutation causing spontaneous hepatosteatosis identified through targeted exon-enrichment and next-generation sequencing. *PloS One* 6, e21979. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021979>

Shi, L., Kishore, R.A.J., Mullen, M.R.M.C., Nagy, L.E., Kishore, R., McMullen, M.R., Nagy, L.E., 2021. Lipopolysaccharide stimulation of ERK1 / 2 increases TNF- α production via Egr-1 4906, 1205–1211.

Shi, X., Chen, Y., Nadeem, L., Xu, G., 2013. Beneficial effect of TNF- α inhibition on diabetic peripheral neuropathy. *J. Neuroinflammation* 10, 836. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-69>

Shichiri, M., 2014. The role of lipid peroxidation in neurological disorders. *J. Clin. Biochem. Nutr. adpub*, 14–10. <https://doi.org/10.3164/jcfn.14-10>

Shinnoh, N., Yamada, T., Yoshimura, T., Furuya, H., Yoshida, Y., Suzuki, Y., Shimozawa, N., Orii, T., Kobayashi, T., 1995. Adrenoleukodystrophy: the restoration of peroxisomal beta-oxidation by transfection of normal cDNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 210, 830–836. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1733>

Shirley, R., Ord, E.N.J., Work, L.M., 2014. Oxidative Stress and the Use of Antioxidants in Stroke. *Antioxidants* 3, 472–501. <https://doi.org/10.3390/antiox3030472>

Shuang, R., Rui, X., Wenfang, L., 2016. Phytosterols and Dementia. *Plant Foods Hum. Nutr.* 71, 347–354. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0574-1>

Sies, H., 1997. Physiological Society Symposium : Impaired Endothelial and Smooth Muscle Cell Function in Oxidative Stress Reaction of Nitric Oxide With Superoxide : *Exp. Physiol.* 13, 305–316.

Singh, J., Khan, M., Singh, I., 2009. Silencing of Abcd1 and Abcd2 genes sensitizes astrocytes for inflammation: implication for X-adrenoleukodystrophy *. *J. Lipid Res.* 50, 135–147. <https://doi.org/10.1194/jlr.M800321-JLR200>

Skjeldal, O.H., Stokke, O., Refsum, S., Norseth, J., Petit, H., 1987. Clinical and biochemical heterogeneity in conditions with phytanic acid accumulation. *J. Neurol. Sci.* 77, 87–96. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(87\)90209-7](https://doi.org/10.1016/0022-510x(87)90209-7)



[Tapez ici]

Smeriglio, A., Galati, E.M., Monforte, M.T., Lanuzza, F., D'Angelo, V., Circosta, C., 2016. Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of Cold-Pressed Seed Oil from Finola Cultivar of *Cannabis sativa* L. *Phytother. Res.* 30, 1298–1307. <https://doi.org/10.1002/ptr.5623>

Smidowicz, A., Regula, J., 2015. Effect of Nutritional Status and Dietary Patterns on Human Serum C-Reactive Protein and Interleukin-6 Concentrations. <https://doi.org/10.3945/an.115.009415.738>

Smith, E.H., Gavrillov, D.K., Oglesbee, D., Freeman, W.D., Vavra, M.W., Matern, D., Tortorelli, S., 2010. An adult onset case of alpha-methyl-acyl-CoA racemase deficiency. *J. Inherit. Metab. Dis.* 33, 349–353. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9183-6>

Söderberg, M., Edlund, C., Kristensson, K., Dallner, G., 1991. Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and in Alzheimer's disease. *Lipids* 26, 421–425. <https://doi.org/10.1007/BF02536067>

Song, L., Qu, D., Zhang, Q., Jiang, J., Zhou, H., Jiang, R., Li, Y., Zhang, Y., Yan, H., 2017. Phytosterol esters attenuate hepatic steatosis in rats with non-alcoholic fatty liver disease rats fed a high-fat diet. *Sci. Rep.* 7, 41604. <https://doi.org/10.1038/srep41604>

Sousa, N.A., Oliveira, G.A.L., de Oliveira, A.P., Lopes, A.L.F., Iles, B., Nogueira, K.M., Araújo, T.S.L., Souza, L.K.M., Araújo, A.R., Ramos-Jesus, J., Plácido, A., Amaral, C., Campelo, Y.D.M., Barbosa, E.A., Portugal, C.C., Socodato, R., Lobo, A., Relvas, J., Bemquerer, M., Eaton, P., Leite, J.R.S.A., Medeiros, J.V.R., 2020. Novel Ocellatin Peptides Mitigate LPS-induced ROS Formation and NF- κ B Activation in Microglia and Hippocampal Neurons. *Sci. Rep.* 10, 2696. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59665-1>

Spittau, B., 2017. Interleukin 4-induced neuroprotection and regulation of microglia activation as a therapeutic approach in the MPTP model of Parkinson's disease. *Neural Regen. Res.* 12, 1433–1434. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.215250>

Spolarics, Z., 1998. Endotoxemia, pentose cycle, and the oxidant/antioxidant balance in the hepatic sinusoid. *J. Leukoc. Biol.* 63, 534–541. <https://doi.org/10.1002/jlb.63.5.534>

Stamer, K., Vogel, R., Thies, E., Mandelkow, E., Mandelkow, E.-M., 2002. Tau blocks traffic of organelles, neurofilaments, and APP vesicles in neurons and enhances oxidative stress. *J. Cell Biol.* 156, 1051–1063. <https://doi.org/10.1083/jcb.200108057>

Stauber, A.J., Brown-Borg, H., Liu, J., Waalkes, M.P., Laughter, A., Staben, R.A., Coley, J.C., Swanson, C., Voss, K.A., Kopchick, J.J., Corton, J.C., 2005. Constitutive expression of peroxisome proliferator-activated receptor alpha-regulated genes in dwarf mice. *Mol. Pharmacol.* 67, 681–694. <https://doi.org/10.1124/mol.104.007278>



[Tapez ici]

Steinberg, S.J., Dodt, G., Raymond, G.V., Braverman, N.E., Moser, A.B., Moser, H.W., 2006. Peroxisome biogenesis disorders. *Biochim. Biophys. Acta* 1763, 1733–1748. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.09.010>

Steinert, J.R., Chernova, T., Forsythe, I.D., 2010. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. *Neurosci. Rev. J. Bringing Neurobiol. Neurol. Psychiatry* 16, 435–452. <https://doi.org/10.1177/1073858410366481>

Subramanyam, C.S., Wang, C., Hu, Q., Dheen, S.T., 2019. Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Semin. Cell Dev. Biol., SI: Calcium signalling* 94, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.004>

Subramani, S., Koller, A., Snyder, W.B., 2000. Import of Peroxisomal Matrix and Membrane Proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 399–418. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.399>

Subramanyam, D., Gurunathan, D., Gaayathri, R., Priya, V.V., 2019. Comparative evaluation of salivary malondialdehyde levels as a marker of lipid peroxidation in early childhood caries 67–70. <https://doi.org/10.4103/ejd.ejd>

Sultan, S., Hassanal, M., Geetha, A., 2007. Evidence of oxidative and nitrosative stress in patients with cervical squamous cell carcinoma 375, 119–123. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.06.028>

Swarnkar, S., Tyagi, E., Agrawal, R., Singh, M.P., Nath, C., 2009. A comparative study on oxidative stress induced by LPS and rotenone in homogenates of rat brain regions. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 27, 219–224. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.10.003>

Szydłowska-Czerniak, A., Łaszewska, A., 2015. Effect of refining process on antioxidant capacity, total phenolics and prooxidants contents in rapeseed oils. *LWT - Food Sci. Technol.* 64, 853–859. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.069>

Szymonik-Lesiuk, S., Czechowska, G., Stryjecka-Zimmer, M., Słomka, M., Mądro, A., Celiński, K., Wielosz, M., 2003. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *J. Hepatobiliary. Pancreat. Surg.* 10, 309–315. <https://doi.org/10.1007/s00534-002-0824-5>

Tang, S.Y., Whiteman, M., Peng, Z.F., Jenner, A., Yong, E.L., Halliwell, B., 2004. Characterization of antioxidant and antiglycation properties and isolation of active ingredients from traditional chinese medicines. *Free Radic. Biol. Med.* 36, 1575–1587. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.03.017>

Tawbeh, A., Gondcaille, C., Trompier, D., 2021. Peroxisomal ABC Transporters : An Update.

Taylor, D.E., Piantadosi, C.A., 1995. Oxidative metabolism in sepsis and sepsis syndrome. *J. Crit. Care* 10, 122–135. [https://doi.org/10.1016/0883-9441\(95\)90003-9](https://doi.org/10.1016/0883-9441(95)90003-9)



[Tapez ici]

Teres, S., -Coblign, G.B., M.Benet, R.Alvarez, R.Bressani, J.Halver, 2008. Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil 105.

Terlecky, S.R., Terlecky, L.J., Giordano, C.R., 2012. Peroxisomes, oxidative stress, and inflammation. *World J. Biol. Chem.* 3, 93–97. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v3.i5.93>

Thameem Dheen, S., Kaur, C., Ling, E.-A., 2007. Microglial Activation and its Implications in the Brain Diseases. *Curr. Med. Chem.* 14, 1189–1197. <https://doi.org/10.2174/092986707780597961>

Thompson, M.D., Cooney, R.V., 2020. The Potential Physiological Role of γ -Tocopherol in Human Health: A Qualitative Review. *Nutr. Cancer* 72, 808–825. <https://doi.org/10.1080/01635581.2019.1653472>

Tichota, D.M., Silva, A.C., Sousa Lobo, J.M., Amaral, M.H., 2014. Design, characterization, and clinical evaluation of argan oil nanostructured lipid carriers to improve skin hydration. *Int. J. Nanomedicine* 9, 3855–3864. <https://doi.org/10.2147/IJN.S64008>

Trzeciak, S., Cinel, I., Dellinger, R.P., Shapiro, N.I., Arnold, R.C., Parrillo, J.E., Hollenberg, S.M., 2008. Resuscitating the microcirculation in sepsis: The central role of nitric oxide, emerging concepts for novel therapies, and challenges for clinical trials. *Acad. Emerg. Med.* 15, 399–413. <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2008.00109.x>

Tsan, M., Clark, R.N., Goyert, S.M., White, J.E., Clark, R.N., Goyert, S.M., White, J.E., 2021. Induction of TNF- α and MnSOD by endotoxin : role of membrane CD14 and Toll-like receptor-4 20422, 1422–1430.

Urata, Y., Honma, S., Goto, S., Todoroki, S., Iida, T., Cho, S., Honma, K., Kondo, T., 1999. Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 838–847. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(99\)00131-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(99)00131-8)

Ursoniu, S., Serban, M.C., 2017. The impact of argan oil on plasma lipids in humans : Systematic review and meta - analysis of randomized controlled trials 1–7. <https://doi.org/10.1002/ptr.5959>

Usharani, P., Merugu, P.L., Nutalapati, C., 2019. Evaluation of the effects of a standardized aqueous extract of *Phyllanthus emblica* fruits on endothelial dysfunction , oxidative stress , systemic inflammation and lipid profile in subjects with metabolic syndrome : a randomised , double blind , placebo c 5, 1–8.

Vallabhapurapu, S., Karin, M., 2009. Regulation and Function of NF- κ B Transcription Factors in the Immune System. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132641>

Vamecq, J., Andreoletti, P., El Kebbaj, R., Saih, F.E., Latruffe, N., El Kebbaj, M.H.S., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2018a. Peroxisomal acyl-CoA oxidase type 1: Anti-inflammatory and anti-aging properties with a special emphasis on studies with lps and argan oil as a model transposable to aging. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/6986984>



[Tapez ici]

Vamecq, J., Andreoletti, P., El Kebbjaj, R., Saih, F.E., Latruffe, N., El Kebbjaj, M.H.S., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M., 2018b. Peroxisomal acyl-CoA oxidase type 1: Anti-inflammatory and anti-aging properties with a special emphasis on studies with lps and argan oil as a model transposable to aging. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/6986984>

Vanhorebeek, I., Vos, R. De, Mesotten, D., Wouters, P.J., Wolf-peeters, C. De, Berghe, G. Van Den, 2005. Mechanisms of Disease Protection of hepatocyte mitochondrial ultrastructure and function by strict blood glucose control with insulin in. *The Lancet* 53–59.

Varady, K.A., Houweling, A.H., Jones, P.J.H., 2007. Effect of plant sterols and exercise training on cholesterol absorption and synthesis in previously sedentary hypercholesterolemic subjects. *Transl. Res. J. Lab. Clin. Med.* 149, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2006.06.002>

Vejuh, A., Lizard, G., 2009. Cytotoxic effects of oxysterols associated with human diseases: Induction of cell death (apoptosis and/or oncosis), oxidative and inflammatory activities, and phospholipidosis. *Mol. Aspects Med.* 30, 153–170. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2009.02.006>

Venkateswaran, V., Fleshner, N.E., Klotz, L.H., 2002. Modulation of cell proliferation and cell cycle regulators by vitamin E in human prostate carcinoma cell lines. *J. Urol.* 168, 1578–15782. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000030156.80151.bb>

Vijay-Kumar, M., Vanegas, S.M., Patel, N., Aitken, J.D., Ziegler, T.R., Ganji, V., 2011. Fish oil rich diet in comparison to saturated fat rich diet offered protection against lipopolysaccharide-induced inflammation and insulin resistance in mice. *Nutr. Metab.* 8, 12–14. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-16>

Vilhardt, F., Haslund-Vinding, J., Jaquet, V., McBean, G., 2017. Microglia antioxidant systems and redox signalling. *Br. J. Pharmacol.* 174, 1719–1732. <https://doi.org/10.1111/bph.13426>

Violante, S., Achetib, N., van Roermund, C.W.T., Hagen, J., Dodatko, T., Vaz, F.M., Waterham, H.R., Chen, H., Baes, M., Yu, C., Argmann, C.A., Houten, S.M., 2019. Peroxisomes can oxidize medium- and long-chain fatty acids through a pathway involving ABCD3 and HSD17B4. *FASEB J.* 33, 4355–4364. <https://doi.org/10.1096/fj.201801498R>

Visioli, F., Lastra, C.A.D.L., Andres-Lacueva, C., Aviram, M., Calhau, C., Cassano, A., D'Archivio, M., Faria, A., Favé, G., Fogliano, V., Llorach, R., Vitaglione, P., Zoratti, M., Edeas, M., 2011. Polyphenols and Human Health: A Prospectus. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51, 524–546. <https://doi.org/10.1080/10408391003698677>

Vivancos, M., Moreno, J.J., 2005. β -Sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. *Free Radic. Biol. Med.* 39, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.025>



[Tapez ici]

Walton, P.A., Pizzitelli, M., 2012. Effects of peroxisomal catalase inhibition on mitochondrial function. *Front. Physiol.* 3, 108. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00108>

Wanders, R.J.A., Ferdinandusse, S., Brites, P., Kemp, S., 2010. Peroxisomes, lipid metabolism and lipotoxicity. *Biochim. Biophys. Acta* 1801, 272–280. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2010.01.001>

Wanders, R.J.A., Waterham, H.R., 2006. Peroxisomal disorders: The single peroxisomal enzyme deficiencies. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1763, 1707–1720. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.08.010>

Wang, D., Gao, Q., Zhao, G., Kan, Z., Wang, X., Wang, H., Huang, J., Wang, T., Qian, F., Ho, C.T., Wang, Y., 2018. Protective Effect and Mechanism of Theanine on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Acute Liver Injury in Mice. *J. Agric. Food Chem.* 66, 7674–7683. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02293>

Wang, X., Michaelis, E.K., 2010. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Front. Aging Neurosci.* 2, 12. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2010.00012>

Wilms, H., Sievers, J., Rickert, U., Rostami-Yazdi, M., Mrowietz, U., Lucius, R., 2010. Dimethylfumarate inhibits microglial and astrocytic inflammation by suppressing the synthesis of nitric oxide, IL-1 β , TNF- α and IL-6 in an in-vitro model of brain inflammation. *J. Neuroinflammation* 7, 30. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-7-30>

Wilson, G.N., Holmes, R.G., Custer, J., Lipkowitz, J.L., Stover, J., Datta, N., Hajra, A., Reynolds, J.F., 1986. Zellweger syndrome: Diagnostic assays, syndrome delineation, and potential therapy. *Am. J. Med. Genet.* 24, 69–82. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320240109>

Xu, H., Li, C., Mozziconacci, O., Zhu, R., Xu, Y., Tang, Y., Chen, R., Huang, Y., Holzbeierlein, J.M., Christian Schöneich, J.H. and B.L., 2019. Xanthine oxidase-mediated oxidative stress promotes cancer cell-specific apoptosis Haixia.

Yamauchi, Y., Matsuno, T., Omata, K., Satoh, T., 2017. Relationship between hyposalivation and oxidative stress in aging mice 61, 40–46. <https://doi.org/10.3164/jc.16>

Yang, C., Jiang, L., Zhang, H., Shimoda, L.A., DeBerardinis, R.J., Semenza, G.L., 2014. Chapter Twenty-Two - Analysis of Hypoxia-Induced Metabolic Reprogramming, in: Galluzzi, L., Kroemer, G. (Eds.), *Methods in Enzymology, Conceptual Background and Bioenergetic/Mitochondrial Aspects of Oncometabolism*. Academic Press, pp. 425–455. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416618-9.00022-4>

Yenilmez, A., Isikli, B., Aral, E., Degirmenci, I., Sutken, E., Baycu, C., 2010. Antioxidant effects of melatonin and coenzyme Q10 on oxidative damage caused by single-dose Ochratoxin A in rat kidney. *Chin. J. Physiol.* 53, 310–7.



[Tapez ici]

Yoshida, Y., Niki, E., 2003. Antioxidant effects of phytosterol and its components. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 49, 277–280. <https://doi.org/10.3177/jnsv.49.277>

Younus, H., 2018. Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International journal of health sciences*, 12(3), 88.. *Int. J. Health Sci.* 12, 88–93.

Yuan, L., Zhang, F., Shen, M., Jia, S., Xie, J., 2019a. Phytosterols Suppress Phagocytosis and Inhibit Inflammatory Mediators via ERK Pathway on LPS-Triggered Inflammatory Responses in RAW264.7 Macrophages and the Correlation with Their Structure. *Foods* 8, 582. <https://doi.org/10.3390/foods8110582>

Yuan, L., Zhang, F., Shen, M., Jia, S., Xie, J., 2019b. Phytosterols Suppress Phagocytosis and Inhibit Inflammatory Mediators via ERK Pathway on LPS-Triggered Inflammatory Responses in RAW264.7 Macrophages and the Correlation with Their Structure. *Foods* 8, 582. <https://doi.org/10.3390/foods8110582>

Zarrouk, A., Martine, L., Grégoire, S., Nury, T., Meddeb, W., Prost-Camus, E., Badreddine, A., Durand, P., Namsi, A., Yammine, A., Nasser, B., Mejri, M., Bretillon, L., Mackrill, J., Cherkaoui-Malki, M., Hammami, M., Lizard, G., 2019. Profile of Fatty Acids, Tocopherols, Phytosterols and Polyphenols in Mediterranean Oils (Argan Oils, Olive Oils, Milk Thistle Seed Oils and Nigella Seed Oil) and Evaluation of their Antioxidant and Cytoprotective Activities. *Curr. Pharm. Des.* 25. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190705192902>

Zarrouk, A., Vejux, A., Mackrill, J., O'Callaghan, Y., Hammami, M., O'Brien, N., Lizard, G., 2014. Involvement of oxysterols in age-related diseases and ageing processes. *Ageing Res. Rev.* 18, 148–162. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.09.006>

Zeb, A., 2021. A comprehensive review on different classes of polyphenolic compounds present in edible oils. *Food Res. Int.* 143, 110312. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110312>

Zhang, J., Fan, W., Neng, L., Chen, B., Wang, Y., Zuo, B., Lu, W., 2022. Adenosine improves LPS-induced ROS expression and increasing in monolayer permeability of endothelial cell via acting on A2AR. *Microvasc. Res.* 143, 104403. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2022.104403>

Zhang, J., Zheng, S., Wang, S., Liu, Q., Xu, S., 2020. Cadmium-induced oxidative stress promotes apoptosis and necrosis through the regulation of the miR-216a-PI3K/AKT axis in common carp lymphocytes and antagonized by selenium. *Chemosphere* 258, 127341. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127341>

Zhang, L., Liu, Y., Li, J.Y., Li, L.Z., Zhang, Y.L., Gong, H.Y., Cui, Y., 2018. Protective Effect of Rosamultin against H₂O₂-Induced Oxidative Stress and Apoptosis in H9c2 Cardiomyocytes 2018.



[Tapez ici]

Zhang, M., Altuwajri, S., Yeh, S., 2004. RRR- α -tocopheryl succinate inhibits human prostate cancer cell invasiveness. *Oncogene* 23, 3080–3088. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207435>

Zhang, N., Chu, E.S.H., Zhang, J., Li, X., Liang, Q., Chen, J., Chen, M., Teoh, N., Farrell, G., Sung, J.J.Y., Yu, J., 2014. Peroxisome proliferator activated receptor alpha inhibits hepatocarcinogenesis through mediating NF- κ B signaling pathway. *Oncotarget* 5, 8330–8340.

Zhou, Y., Zheng, J., Li, Y., Xu, D.-P., Li, S., Chen, Y.-M., Li, H.-B., 2016. Natural Polyphenols for Prevention and Treatment of Cancer. *Nutrients* 8, 515. <https://doi.org/10.3390/nu8080515>

Zwiewka, M., Bielach, A., Tamizhselvan, P., Madhavan, S., Dobrev, P., Vankova, R., Ryad, E.E., Tan, S., 2019a. Root Adaptation to H₂O₂-Induced Oxidative Stress by ARF-GEF BEN1- and Cytoskeleton-Mediated PIN2 Trafficking 60, 255–273. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz001>

Zwiewka, M., Bielach, A., Tamizhselvan, P., Madhavan, S., Dobrev, P., Vankova, R., Ryad, E.E., Tan, S., 2019b. Root Adaptation to H₂O₂-Induced Oxidative Stress by ARF-GEF BEN1- and Cytoskeleton-Mediated PIN2 Trafficking 60, 255–273. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz001>

Zyriax, B.C., Windler, E., 2000. Dietary fat in the prevention of cardiovascular disease - A review. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102, 355–365. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1438-9312\(200005\)102:5<355::aid-ejlt355>3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/(sici)1438-9312(200005)102:5<355::aid-ejlt355>3.0.co;2-3)

